

TP de laboratorio: Regulación hormonal y desarrollo embrionario en plantas. Auxinas.

Introducción

Las auxinas son hormonas vegetales que juegan un rol prominente durante el desarrollo embrionario. El estudio de mutantes de síntesis, transporte y de respuesta a auxinas mostró que las auxinas son determinantes para la especificación celular durante la embriogénesis, encontrándose fenotipos incluso luego de la primer división celular del cigoto (ver paper anexo, auxinas y embriogénesis).

Objetivos:

Determinar en qué momentos del desarrollo embrionario y en qué áreas específicas del embrión se dan respuestas a auxinas mediante la utilización de un reportero de auxinas fusionado a GFP

Determinar el fenotipo de plantas mutantes para la síntesis y la respuesta a auxinas tanto a nivel embrionario como de planta entera

Desarrollo:

1- Desarrollo embrionario y respuesta a auxinas

Se utilizarán pistilos fertilizados de plantas que llevan el reportero de auxinas DR5-GFP. Con la ayuda de dos agujas de disección y bajo la lupa se realizaran preparados para observar en microscopia DIC y de fluorescencia. Determinar máximos de respuesta a auxinas y relacionarlos con la morfología embrionaria en los diferentes estadios de desarrollo.

2- Desarrollo de raíz y respuesta a auxinas

Se utilizarán raíces de plantas que llevan el reportero de auxinas DR5-GFP. Se realizaran preparados para observar en microscopia DIC y de fluorescencia la respuesta a auxinas en raíz principal y raíces laterales así como también en primordios radiculares. Determinar máximos de respuesta a auxinas y relacionarlos con la morfología de la raíz.

3- Desarrollo embrionario y transporte de auxinas

Se utilizarán pistilos fertilizados de plantas que llevan el promotor del gen codificante para el transportador de auxinas Aux1 fusionado al gen reportero YFP. Con la ayuda de dos agujas de disección y bajo la lupa se realizaran preparados para observar en microscopia DIC y de fluorescencia. Determinar máximos de expresión, predecir máximos de auxinas y relacionar con los resultados obtenidos en el punto 1

4- Desarrollo de raíz y transporte de auxinas

Se utilizarán raíces de plantas transgénicas que llevan el promotor del gen codificante para el transportador de auxinas PIN1 fusionado al gen reportero GFP. Se realizaran preparados para observar en microscopia DIC y de fluorescencia la expresion de *PIN1* en raíz principal y raíces laterales así como también en primordios radiculares. Determinar máximos de expresión, predecir máximos de auxinas y relacionar con los resultados obtenidos en el punto 2 y con la morfología de la raíz.

5- Desarrollo embrionario y síntesis de auxinas

Entre las enzimas mejor caracterizadas en la via biosintetica de auxinas dependiente de triptofano (trp) estan aquellas pertenecientes a la familia YUCCA (YUC) de monooxigenasas dependientes de flavina. Se utilizarán pistilos fertilizados conteniendo óvulos con embriones en diferentes estadios de desarrollo de plantas que llevan el promotor del gen codificante para la enzima YUC8 fusionado al gen reportero GFP. Con la ayuda de dos agujas de disección y bajo la lupa se realizaran preparados para observar en microscopia DIC y de fluorescencia. Determinar máximos de expresión, predecir máximos de auxinas y relacionar con los resultados obtenidos en el punto 1