

RESUMEN

La fitohormona ácido abscísico (ABA) juega un papel crucial en el control de la respuesta a estrés y en la regulación del crecimiento y desarrollo de la planta. La unión del ABA a los receptores intracelulares PYR/PYL/RCAR conlleva la inhibición de las PP2Cs del clado A tales como ABI1 o HAB1, causando la activación de la ruta de señalización del ABA. Para obtener más información en la señalización del ABA nos hemos centrado en la caracterización de miembros de estas dos familias proteicas. Hemos generado una versión mutada de *HAB1* que contiene una mutación en el Trp-385, residuo clave para la interacción con los receptores y con la molécula de ABA. Como resultado, *hab1^{W385A}* se mostró refractaria a la inhibición por los receptores PYR/PYL/RCAR. Así, en ensayos de actividad quinasa *in vitro* encontramos que *hab1^{W385A}* era capaz de desfosforilar a OST1 incluso en presencia de ABA y de los receptores. *hab1^{W385A}* y *hab1^{G246D}* pueden ser clasificadas como mutaciones dominantes hipermórficas. Mientras que *hab1^{G246D}* posee una actividad fosfatasa reducida, el nuevo alelo dominante muestra una actividad idéntica al genotipo salvaje. Líneas transgénicas de *Arabidopsis* sobreexpresando *hab1^{W385A}* mostraron una fuerte insensibilidad al ABA. También hemos analizado el papel de las PP2Cs del clado A pertenecientes a la rama representada por PP2CA. La generación de un mutante doble *pp2ca-1hai1-1*, que muestra mayor sensibilidad a la hormona en comparación con el genotipo salvaje y con los mutantes sencillos, reveló que HAI1 es un regulador negativo de la ruta de señalización del ABA. El análisis de la localización subcelular mostró que tanto HAI1 como PP2CA se localizan en el núcleo, aunque también están presentes en el citosol y en la fracción microsomal. Tres miembros de la rama de PP2CA *i.e.*: PP2CA, AHG1 y HAI1, mostraron una inhibición selectiva por los receptores PYR/PYL/RCAR. Estos resultados sugieren que estos receptores pueden discriminar entre miembros del clado A de las PP2Cs. *pyl8* es el único mutante sencillo que muestra sensibilidad reducida al ABA en ensayos de crecimiento de raíz. Análisis usando el gen reportero GUS mostraron que *PYL8* estaba presente en la estela, en la epidermis de la raíz y en la caliptra, y la cuantificación de la actividad beta-glucuronidasa en raíz mostró que *PYL8* es uno de los receptores con mayor nivel de expresión. La caliptra juega un papel crucial en la respuesta hidrotrópica. El estudio de esta respuesta en mutantes múltiples de las PP2Cs y de los PYR/PYL/RCAR reforzó la idea de que el ABA regula este proceso. Así, mientras el mutante séxtuple *pyr/pyl112458* presentó una curvatura menor al aplicársele un gradiente de humedad, el mutante cuádruple de las PP2Cs (Qabi2-2) mostró una curvatura más pronunciada en estas condiciones, evitando las zonas con menor potencial hídrico. Finalmente, en la última parte de este trabajo se utilizaron abordajes genético-químicos para aumentar la resistencia a la sequía. Hemos llevado a cabo un rastreo con compuestos químicos para aislar nuevos agonistas del ABA. Basado en datos estructurales de los receptores, se seleccionaron 500 compuestos que fueron ensayados en *Arabidopsis*. De estos, el compuesto 2C06 inhibió el crecimiento de raíz en plantas salvajes más que en mutantes *pyr/pyl/rcar* insensibles a ABA y produjo resultados prometedores *in vitro* al inhibir a las PP2Cs e interactuar con éstas en ensayos de doble híbrido.