

RESUMEN

La señalización por la hormona vegetal ácido abscísico (ABA) desempeña un papel crítico en la regulación del crecimiento de la raíz y en la arquitectura del sistema radical. La promoción de crecimiento de la raíz en condiciones de estrés hídrico mediada por ABA es clave para la supervivencia de las plantas bajo condiciones limitantes de agua. En este trabajo, hemos explorado el papel de los receptores PYR/PYL/RCAR (PYRABACTIN RESISTANCE1 (PYR1)/PYR1 LIKE (PYL)/ REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTORS) de *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) en la ruta de señalización de ABA en raíz. Así, hemos descubierto que el receptor de ABA PYL8 juega un papel no redundante en la regulación de la percepción de ABA en raíz. Inesperadamente, dada la naturaleza multigénica y la redundancia funcional parcial observada en la familia PYR/PYL/RCAR, el mutante *pyl8* fue el único mutante sencillo de pérdida de función de los receptores PYR/PYL/RCAR que mostraba una sensibilidad reducida a la inhibición del crecimiento mediada por ABA en raíz. Este efecto se debe a la falta de inhibición mediada por PYL8 de varias fosfatasa del grupo A tipo 2C (PP2Cs), ya que PYL8 es capaz de interactuar *in vivo* con al menos cinco PP2Cs, denominadas HYPERSENSITIVE TO ABA1 (HAB1), HAB2, ABAINSENSITIVE1 (ABI1), ABI2, and PP2CA/ABA-HYPERSENSITIVE GERMINATION3 según lo han revelado la purificación por afinidad en tándem (TAP por sus siglas en inglés) y estudios proteómicos de espectrometría de masas.

La transducción de la señal del ABA localizada en la membrana plasmática celular juega un papel crucial en los pasos iniciales de la señalización de la fitohormona, pero los mecanismos moleculares que unen los componentes básicos de la señalización y la membrana plasmática no están claros. Estudiando las interacciones de los receptores del ABA PYR/PYL/RCAR con la membrana plasmática hemos encontrado que éstos pueden interactuar transitoriamente con ella de forma dependiente de calcio gracias a una familia de proteínas con dominios C2 relacionadas con la ruta de señalización de ABA (denominadas C2-domain ABA-related (CAR) proteins). Específicamente, se encontró que PYL4 interactúa de manera independiente de ABA con CAR1 tanto en la membrana plasmática como en el núcleo de las células vegetales. La proteína CAR1 pertenece a una familia multigénica constituida por 10 miembros en *Arabidopsis thaliana*, desde CAR1 hasta CAR10, y que solo se encuentra en plantas. Los ensayos de complementación bi-molecular de fluorescencia y de co-immunoprecipitación confirmaron la interacción en células vegetales tanto de PYL4-CAR1 como de otras parejas de PYR/PYL-CAR. La cristalización de la proteína CAR4 reveló que, además de un dominio C2 clásico de unión a lípidos dependiente de calcio, las proteínas de la familia CAR presentan un dominio específico que probablemente es responsable de la interacción con los receptores PYR/PYL/RCAR y de su posterior reclutamiento a las vesículas

de fosfolípidos. Esta interacción es relevante para la función de los receptores PYR/PYL/RCAR en la señalización del ABA, ya que diferentes mutantes triples *car* de pérdida de función, que tienen afectados los genes CAR1, CAR4, CAR5, y CAR9, demostraron una reducción de la sensibilidad al ABA en ensayos de establecimiento de plántula y crecimiento de la raíz. En resumen, hemos identificado nueva familia de proteínas que son capaces mediar las interacciones transitorias dependientes de Ca^{2+} con vesículas de fosfolípidos, lo que a su vez afecta localización de PYR/PYL/RCAR y regula positivamente la señalización de ABA.