
RESUMEN

El estrés abiótico y más concretamente la salinidad y la sequía son problemas ambientales que poseen un gran impacto sobre la producción mundial de alimentos, especialmente en las zonas semiáridas, como es el caso de la Comunidad Valenciana. Durante los últimos años, numerosos estudios tratan de mitigar estos daños producidos sobre la agricultura, pero hasta el momento no ha habido grandes avances. En este momento se dispone de muy pocos cultivares agronómicos tolerantes a la salinidad y la sequía, por lo que es necesario seguir avanzando en el conocimiento de las bases moleculares de los mecanismos que permiten superar estas condiciones de estrés.

Por ello, en este trabajo se inicia un estudio de genética directa, en el que a partir de diferentes colecciones de mutantes en la especie modelo *Arabidopsis thaliana*, se realiza un rastreo para identificar mutantes con tolerancia a cationes tóxicos. En nuestro caso, hemos planteado un abordaje mediante el uso de norespermidina a muy bajas concentraciones, una poliamina no metabolizable capaz de causar un efecto tóxico, pero no osmótico en nuestros ensayos. Se propone que este polication entra en la célula mediante algún sistema no identificado, pero fuertemente dependiente del potencial eléctrico de la membrana plasmática. Como este parámetro biofísico está determinado por las actividades relativas de la bomba H⁺-ATPasa, y del transporte de K⁺ y aniones, la tolerancia a norespermidina permite identificar reguladores de todos estos transportadores. En el rastreo de mutantes se han empleado 109972 líneas mutantes (unas 700000 semillas) pertenecientes a 3 colecciones de mutantes de activación transcripcional y 2 colecciones de mutantes de pérdida de función en *Arabidopsis thaliana*. De esta forma, se han obtenido una gran cantidad de mutantes confirmados tolerantes a este polication, con porcentajes de germinación entre 2 y 6 veces la germinación de sus controles.

Además, también se ha realizado en esta tesis un estudio de genética reversa en sistema heterólogo utilizando el gen *HSR1* de *Candida tropicalis*, para evaluar el efecto de este factor de transcripción en la especie modelo *Arabidopsis thaliana*. Este gen fue aislado en un rastreo para la identificación de genes halotolerantes en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, a partir de una genoteca de la cepa NCYC2512 de *Candida tropicalis*. Mediante la obtención de plantas sobreexpresoras del gen *CtHSR1* bajo su propia región reguladora, hemos podido caracterizar un nuevo mecanismo de tolerancia a la sequía mediado por el factor HSR1. Estas plantas mostraron tolerancia

en estadios tempranos de desarrollo a la germinación inhibida por NaCl y manitol, así como tolerancia a la sequía inducida durante 14 días en invernadero en plantas adultas. También se observaron diferencias en el potencial osmótico en condiciones normales de crecimiento en las líneas transgénicas, lo que nos llevo a identificar un aumento del contenido en prolina de entre 1,4 y 1,8 veces, respecto a su control silvestre. Además, el análisis transcriptómico y la cuantificación hormonal de las líneas que expresan el factor HSR1 revelaron la activación de múltiples factores de transcripción de respuesta a estrés, así como un aumento en el contenido total de ácido jasmónico, hormona involucrada en la tolerancia frente al estrés biótico.

Por lo tanto, el trabajo realizado en esta tesis doctoral supone un avance en la identificación de nuevos componentes en las vías de regulación de la tolerancia al estrés abiótico en plantas.