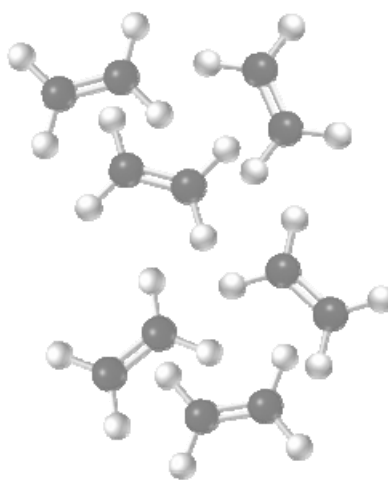


IX - RESUMEN



IX- RESUMEN

HAHB4 es un factor de transcripción de girasol que pertenece a la familia HD-Zip. Los miembros de esta familia, sólo encontrada en plantas, presentan la particularidad de tener un homeodominio (HD) asociado a un cierre de leucinas (LZ). En trabajos previos realizados en nuestro laboratorio, se había determinado que la expresión del gen que codifica HAHB4 es regulada a nivel transcripcional por factores externos como la disponibilidad de agua, el ácido abscísico y la salinidad del suelo. Además, cuando se expresó en forma transgénica en *Arabidopsis* les confirió a estas plantas una tolerancia aumentada a condiciones de sequía.

Los estudios presentados en este trabajo de Tesis tuvieron como objetivo dilucidar los mecanismos de acción de este factor de transcripción así como las vías de señalización en las que participa. Se hizo un análisis transcriptómico mediante técnicas de microarreglos a las plantas de *Arabidopsis* que expresan constitutivamente este gen y este análisis permitió establecer la identidad de los genes que modifican su expresión a causa de la presencia de HAHB4, o sea sus blancos directos e indirectos.

Esta información junto con ensayos fisiológicos y moleculares por diversas técnicas, permitió establecer que la tolerancia a estrés hídrico es principalmente una consecuencia del retraso en la entrada en el estadio de senescencia de las plantas que sobreexpresan este gen, causada por una inhibición en la biosíntesis y en la percepción de la hormona etileno.

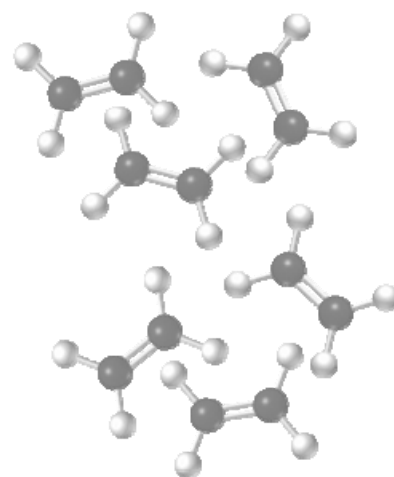
Se determinó asimismo que la expresión de *HAHB4* se activa en plantas de girasol por la acción de del ácido jasmónico (además de por el etileno) y que esta activación genera una respuesta frente al ataque de insectos o la producción de heridas mecánicas. Por otro lado, los niveles de expresión también aumentan en los períodos en los que la planta se encuentra en oscuridad y en esta condición, *HAHB4* reprime marcadamente la expresión de genes involucrados en fotosíntesis.

Teniendo en cuenta los efectos de este gen sobre la respuesta al ataque de insectos, y con objetivos biotecnológicos, obtuvimos plantas transgénicas de *Arabidopsis* y maíz que lo expresan. El análisis de estas plantas mostró fehacientemente

que la utilización de este gen, sería una estrategia adecuada para obtener plantas tolerantes al ataque de insectos en cultivos de interés agronómico.

En conclusión, HAHB4 es un factor de transcripción que interviene y conecta las vías de señalización de las hormonas etileno y ácido jasmónico, así como la de biogénesis de componentes de la fotosíntesis, funcionando en plantas como un disparador no sólo de tolerancia a condiciones de estrés hídrico sino también al ataque de insectos, convirtiéndose de esta forma en una poderosa herramienta biotecnológica. A lo largo del trabajo de Tesis se presentan evidencias experimentales que logran explicar los mecanismos moleculares a través de los cuales ocurren estos eventos.

X - ABSTRACT



X - ABSTRACT

HAHB4 is a transcription factor that belongs to the sunflower HD-Zip family (subfamily I). The members of this family, unique to plants, present in their structure the particular association of a homeodomain (HD) with a leucine zipper (LZ). In previous works performed in our lab, it was demonstrated that the expression of the gene encoding HAHB4 is regulated at the transcriptional level by environmental factors such as salinity and drought and the hormone ABA. Moreover, transgenic Arabidopsis plants were obtained and these plants exhibited an enhanced tolerance in water deficit conditions.

Our aim during this Thesis' work was to elucidate the action mechanisms of this transcription factor in order to understand the drought tolerance conferred by it as well as the transduction signal pathways in which it is involved. A transcriptome analysis on transgenic plants overexpressing was performed using the microarray technique and this analysis allowed us to identify direct and indirect target genes of *HAHB4*, changing their expression levels due to its presence.

This information, together with the obtained from physiological and molecular studies, carried out with a diversity of techniques, led us to establish that the drought tolerance conferred by *HAHB4* to transgenic plants is mainly a consequence of a delay that suffer the plants in their entry to the senescence stage. This delay is caused by the inhibition in the biosynthesis and perception of the ethylene hormone as shown by molecular and physiological studies.

By other hand, it was experimentally demonstrated that *HAHB4* expression is induced in sunflower plants by the action of jasmonic acid and that this induction produces a massive defense response against injuries caused by insects or mechanical factors.

The expression levels of this sunflower gene also are augmented when the plants are in the dark. The microarray analysis indicated that HAHB4 strongly inhibits the expression of genes encoding proteins involved in all the photosynthesis stages.

Considering the effects of *HAHB4* in drought conditions as well as against insects attacks, we obtained transgenic Arabidopsis and maize plants in order to determine first, if there is a conservation of mechanisms between these species and

second to evaluate this gene as a biotechnological tool to improve the performance of agronomic crops.

In conclusion, HAHB4 is a transcription factor that mediates the crosstalk between several signal transduction pathways including those where ethylene, jasmonic acid and photosynthesis are involved. It functions in plants as a switch, not only turned on in drought conditions, but also when insects attack, becoming in this way a valuable biotechnological tool. Along this Thesis numerous experimental evidences are presented explaining the molecular mechanisms through which the mentioned events occur.