

RESUMEN

Con el fin de hacer frente a ataques patogénicos de diversa naturaleza, las plantas presentan, de manera constitutiva, barreras físicas naturales y acumulación de ciertos compuestos defensivos. En adición a esto, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos de tipo inducible, como la respuesta inmune y el silenciamiento de RNA, que se activan tras la entrada del patógeno.

Los metabolitos secundarios de naturaleza fenólica juegan un papel muy importante en la respuesta defensiva. Estos metabolitos pueden clasificarse en tres grandes grupos: *moléculas señal*, capaces de activar dicha respuesta, *fitoanticipinas*, presentes en la planta de manera constitutiva o preformados, y *fitoalexinas*, que se sintetizan *de novo* o ven incrementada su síntesis en respuesta a un ataque microbiano. El presente trabajo se centra en el estudio de la función que desempeña el ácido salicílico (SA), el ácido gentísico (GA) y las amidas derivadas del ácido hidroxicinámico (HCAA) en la respuesta defensiva de las plantas. De entre estos fenólicos, el SA y el GA podrían clasificarse dentro del grupo de *moléculas señal*, mientras las HCAA, consideradas *fitoalexinas*, actuarían directamente sobre el patógeno, debido a sus propiedades antibacterianas, antifúngicas y/o antioxidantes.

Para estudiar el papel del SA y del GA en la respuesta defensiva, se han realizado tratamientos exógenos con estos compuestos a plantas de Gynura y tomate infectadas con el Viroide de la Exocortis de los Cítricos (CEVd) y el Virus del Mosaico del Tomate (ToMV), respectivamente. Ello ha producido un retraso en la aparición de los síntomas, poniendo de manifiesto la capacidad de estos metabolitos de activar de manera eficaz la respuesta defensiva de las plantas. Asimismo, se ha observado que estos tratamientos producen la activación de mecanismos de silenciamiento de RNA. Nuestros resultados establecen relaciones entre la resistencia mediada por SA o GA y el silenciamiento génico de RNA, y confirman el papel de estos compuestos fenólicos en la respuesta defensiva.

Se han obtenido plantas transgénicas con niveles alterados de los metabolitos objeto de estudio. La sobreexpresión tanto en Arabidopsis como en tomate de GAGT, una glicosiltransferasa de GA identificada en tomate, ha dado lugar a un fenotipo metabólico en ambas especies, mostrando un mayor porcentaje de conjugación de GA y, en consecuencia, una menor acumulación de GA en forma libre, que es la forma activa del compuesto. En el caso de Arabidopsis, el fenotipo metabólico de las plantas transgénicas vino acompañado de un fenotipo de susceptibilidad frente a la infección con la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato Rpml*, respecto a las plantas control. Se han centrado esfuerzos en caracterizar la función de Twi1, una supuesta glicosiltransferasa con una posible función en la respuesta defensiva. La

sobreexpresión de la proteína ha permitido el análisis de su actividad enzimática *in vitro*, mostrando actividad glucosiltransferasa frente a los ácidos 2,4-dihidroxibenzoico (2,4-DHBA) y 2,4,6-trihidroxibenzoico (2,4,6-THBA). Aplicaciones exógenas con estos polifenoles a plantas transgénicas que silencian *Tw1* corroboraron su actividad *in vivo*, pues estas plantas mostraron un menor porcentaje de conjugación de 2,4-DHBA y 2,4,6-THBA y, por consiguiente, una mayor acumulación de ambos metabolitos en su forma libre. Por último, se han generado plantas transgénicas de tomate con sobreexpresión del gen *THT*, que codifica un enzima clave en la biosíntesis de las HCAA. Estas plantas transgénicas han presentado una mayor acumulación de amidas en hojas, flores y frutos de forma constitutiva, respecto a plantas control. Además, en respuesta a herida, la cantidad de HCAA en hojas también resultó superior a la detectada en plantas control. Las plantas transgénicas THT infectadas con el patógeno bacteriano *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* presentaron una mayor acumulación de HCAA y SA, en comparación con plantas control. En consecuencia, estas plantas resultaron ser más resistentes a la infección bacteriana, confirmando el papel de las HCAA en defensa.

Tanto la realización de tratamientos exógenos con compuestos fenólicos como la obtención de plantas transgénicas con niveles alterados de los mismos han resultado estrategias de gran utilidad en la realización de este trabajo, permitiendo profundizar en el estudio de la función de estos metabolitos en la respuesta defensiva de las plantas frente a ataques patogénicos.