

ÍNDICE

RESUMEN	17
RESUM	19
ABSTRACT	21
ABREVIATURAS	23
INTRODUCCIÓN	31
1. El sistema de inmunidad en la planta.....	33
1.1. Introducción general.....	33
1.2. Interacción planta-patógeno	34
1.2.1. Defensa pasiva o constitutiva.....	34
1.2.2. Defensa activa o inducible	35
1.3. Respuestas defensivas.....	40
1.4. El concepto de priming en inmunidad	45
1.5. Regulación epigenética	48
2. Modificaciones de los tRNAs.....	53
2.1. Síntesis de los tRNAs.....	53
2.2. Características de las modificaciones post-transcripcionales.....	54
2.3. Relevancia funcional	56
3. Los folatos en la planta.....	57
3.1. Aspectos generales.....	57
3.2. Síntesis, transporte y regulación	59
3.3. Reacciones dependientes de folatos	63
4. Metionina, un aminoácido esencial en la planta	65

4.1.	Síntesis de metionina	65
4.2.	Regulación del contenido en metionina	68
5.	La genética química como herramienta de trabajo	70
5.1.	Características generales.....	70
5.2.	Aplicaciones en biología vegetal	72
6.	Antecedentes del trabajo.....	73
	OBJETIVOS	77
	RESULTADOS.....	81
	CAPÍTULO 1.....	83
1.	Resumen	85
2.	Introducción.....	86
3.	Resultados.....	89
3.1.	Identificación de <i>scs9</i>	89
3.2.	Las plantas <i>scs9</i> mantienen intactos los componentes de la inmunidad innata y la inmunidad mediada por SA.....	92
3.3.	<i>SCS9</i> es At5g01230 y codifica una 2'- <i>O</i> -ribosa metiltransferasa de tRNA	96
3.4.	<i>SCS9</i> complementa la mutación <i>trm7Δ</i> de levadura	100
3.5.	El mutante <i>scs9</i> es hipersensible a paramomicina y rosa de bengala	102
3.6.	<i>SCS9</i> se localiza en el núcleo	104
3.7.	<i>SCS9</i> se requiere para la metilación 2'- <i>O</i> -ribosa de tRNA <i>in vivo</i>	105
3.8.	Otras modificaciones de tRNA no son esenciales para la inmunidad	110
4.	Discusión	113
5.	Materiales y Métodos	118
5.1.	Mapeo e identificación del gen <i>SCS9</i>	119

5.2.	Construcciones génicas, expresión en levadura y plantas transgénicas...	120
5.3.	Tratamientos con flg22 y quitosano.....	121
5.4.	Ensayos de paramomicina y rosa de bengala	122
5.5.	Cuantificación de antocianinas y SA.....	122
5.6.	Ensayo de inhibición por NaCl.....	123
5.7.	Extracción de tRNA, digestión y análisis HPLC y LC-MS.....	124
5.8.	Análisis northern blot de tRNA.....	125
5.9.	Líneas de inserción de T-DNA y oligos utilizados	126
	CAPÍTULO 2.....	129
1.	Resumen	131
2.	Introducción.....	132
3.	Resultados.....	135
3.1.	Las sulfonamidas promueven la activación transcripcional de <i>Ep5C::GUS</i>	135
3.2.	Las sulfonamidas promueven la fosforilación de MPK3/MPK6 y sensibilizan para un incremento en la acumulación de PR1 mediada por SA.....	137
3.3.	Sulfadiazina (SDZ) induce resistencia a <i>P.s.</i> DC3000	138
3.4.	La inhibición de la ruta metabólica de los folatos promueve la resistencia a <i>P.s.</i> DC3000.....	142
3.5.	El tratamiento con ácido fólico aumenta la susceptibilidad a <i>P.s.</i> DC3000.....	144
3.6.	<i>P.s.</i> DC3000 promueve la sobreacumulación de metionina sintasa (METS1) en plantas <i>scs9</i>	146
3.7.	La sobreexpresión de <i>METS1</i> incrementa la susceptibilidad a <i>P.s.</i> DC3000.....	151

3.8. La metilación de DNA se incrementa de manera global por la sobreexpresión de <i>METS1</i>	155
4. Discusión	161
5. Materiales y Métodos.....	166
5.1. Rastreo de genética química directa	167
5.2. Condiciones de aplicación de los diferentes compuestos.....	167
5.3. Estudio de la actividad antibiótica de SDZ sobre el crecimiento de <i>P.s.</i> DC3000	168
5.4. Cuantificación del nivel de SA	168
5.5. Análisis proteómico	169
5.6. Construcción génica <i>35S::METS1-YFP</i>	169
5.7. Análisis de letalidad embrionaria.....	170
5.8. Análisis del nivel de metilación	170
5.9. Líneas de inserción de T-DNA y oligos utilizados	171
DISCUSIÓN GENERAL	173
CONCLUSIONES	183
MATERIALES Y MÉTODOS.....	187
1. Condiciones de crecimiento de las plantas.....	189
2. Ensayo de inoculación con <i>P.s.</i> DC3000 y análisis de la tasa de crecimiento.....	189
3. Tinción histoquímica para analizar la actividad GUS	190
4. Análisis de la deposición de calosa	191
5. Extracción de DNA y RNA.....	191
6. PCR y RT-qPCR.....	192
7. Extracción de proteínas y western blot.....	192
8. Tratamiento de inducción por SA.....	193

9.	Transformación estable de plantas de <i>Arabidopsis</i>	193
10.	Expresión transitoria en hojas de <i>Nicotiana benthamiana</i>	194
	BIBLIOGRAFÍA	195