

## INDICE

*Introducción*

1. Reguladores de defensa y desarrollo en plantas.....	1
1.1. Jasmonatos.....	2
1.1.1. Biosíntesis y metabolismo de JAs.....	2
1.1.2. Señalización de JAs.....	7
1.1.3. Funciones de los JAs relacionadas con el desarrollo.....	9
1.1.3.1. Desarrollo floral.....	9
1.1.3.2. Senescencia.....	10
1.2. Salicilatos.....	12
1.2.1. Biosíntesis y metabolismo de SA.....	12
1.2.2. Señalización de SAs.....	15
1.2.3. Funciones de SAs relacionadas con el desarrollo.....	16
1.2.3.1. Senescencia.....	16
1.2.3.2. Floración.....	17
2. Respuestas de defensa en plantas.....	17
2.1. Respuestas a herida.....	18
2.1.1. Respuestas a herida en Solanáceas.....	19
2.1.2. Respuestas a herida en Arabidopsis.....	20
2.2. Respuestas a patógenos.....	22
2.2.1. Patógenos necrotrofos.....	23
2.2.2. Patógenos biotrofos.....	24
2.3. Respuestas a la luz ultravioleta.....	26
2.4. Interacciones reguladoras entre respuestas mediadas por JA y otras hormonas.....	27
2.4.1. Vías de señalización activadas por JA y Et.....	27
2.4.2. Vías de señalización activadas por JA/Et y SA.....	28
2.4.3. Vías de señalización activadas por JA y otras hormonas.....	30
3. $\beta$ -oxidación en plantas.....	31
3.1. Definición y localización intracelular.....	31
3.2. Componentes de la $\beta$ -oxidación.....	31
3.3. 3-cetoacil-CoA tiolinas (KAT) catalizan el último paso de la $\beta$ -oxidación.....	35
3.3.1. Genes <i>KAT</i> .....	35

3.3.2. Enzimas KAT .....	35
3.4. Funciones de la $\beta$ -oxidación.....	36
3.4.1. Desarrollo embrionario, germinación y desarrollo postgerminativo de las semillas .....	37
3.4.2. Síntesis de fitohormonas y otras moléculas reguladoras.....	39
3.4.3. Desarrollo floral y vegetativo .....	40
3.4.4. Senescencia.....	40
3.4.5. Regulación del número, tamaño y morfología de los peroxisomas.....	41
4. Peroxisomas de plantas.....	41
4.1. Definición.....	41
4.2. Peroxinas .....	42
4.3. Proliferación.....	43
4.4. Funciones relacionadas con estrés y defensa.....	45
5. Antecedentes.....	46

### Objetivos

Objetivos.....	47
----------------	----

### Resultados I

1. Análisis <i>in silico</i> de las secuencias de genes <i>KAT</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> y de las proteínas que codifican .....	49
2. Patrón de expresión espacial de genes <i>KAT</i> .....	50
2.1. Expresión de los genes <i>KAT</i> en distintos órganos .....	50
2.2. Patrón de expresión del gen <i>KAT2</i> en órganos reproductores .....	53
3. Análisis molecular y funcional del gen <i>KAT2</i> a lo largo del desarrollo postgerminativo.....	56
3.1. Patrón de expresión del gen <i>KAT2</i> durante el desarrollo postgerminativo .....	56
3.2. Participación de <i>KAT2</i> en el desarrollo postgerminativo.....	58
4. Análisis molecular y funcional del gen <i>KAT2</i> en respuesta a la herida y otros procesos relacionados .....	60
4.1. Expresión de los genes <i>KAT</i> en respuesta a herida y moléculas funcionalmente relacionadas.....	60

---

4.1.1. Respuesta al daño mecánico .....	60
4.1.2. Respuesta a la aplicación exógena de JA y SA.....	64
4.1.3. Respuesta a la deshidratación y a la aplicación exógena de ABA .....	67
4.2. Participación de <i>KAT2</i> en la biosíntesis de JA en respuesta a la herida .....	72
4.2.1. Participación en herida .....	72
4.2.1.1. Respuesta a la herida activada por la vía dependiente de JA en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	72
4.2.1.2. Niveles de JAs endógenos en condiciones basales e inducidas por la herida en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	75
4.2.1.3. Respuesta a la herida activada por la vía independiente de JA en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	76
4.2.1.4. Respuesta a la herida activada por la vía dependiente de JA en plantas transgénicas con niveles aumentados de <i>KAT2</i> .....	77
4.2.1.5. Análisis transcriptómico de la respuesta a herida en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	78
4.2.2. Participación en otros procesos relacionados con JA .....	83
4.2.2.1. Respuesta a patógenos necrotrofos en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	83
4.2.2.2. Control del crecimiento en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	85
4.2.3. Participación en procesos de deshidratación.....	87
5. Análisis molecular y funcional del gen <i>KAT2</i> en respuesta a factores de estrés que van acompañados de la síntesis de SA .....	88
5.1. Expresión del gen <i>KAT2</i> en respuesta a <i>Pseudomonas syringae</i> y posibles alteraciones en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	89
5.2. Crecimiento de <i>Pseudomonas syringae</i> en plantas transgénicas con niveles reducidos y aumentados de <i>KAT2</i> .....	93
5.3. Expresión del gen <i>KAT2</i> en respuesta a luz UV-C y posibles alteraciones en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	94
6. Análisis molecular y funcional del gen <i>KAT2</i> en senescencia .....	96
6.1. Expresión del gen <i>KAT2</i> en senescencia .....	97
6.1.1. Expresión de los genes <i>KAT</i> en hoja senescentes .....	97

6.1.2. Expresión del gen <i>KAT2</i> en hojas sometidas a senescencia forzada en oscuridad .....	98
6.1.3. Expresión del gen <i>KAT2</i> <i>in vivo</i> en plantas sometidas a senescencia forzada en oscuridad .....	101
6.2. Participación de <i>KAT2</i> en el proceso de senescencia .....	102
6.2.1. Senescencia forzada en plantas transgénicas con niveles aumentados y reducidos de <i>KAT2</i> .....	102
6.2.2. Patrones de expresión relacionados con senescencia en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	106
6.2.3. Senescencia natural en plantas transgénicas con niveles reducidos de <i>KAT2</i> .....	107

## Resultados II

1. Interacción entre las vías de señalización activadas por la herida y por clofibrato.....	109
1.1. Expresión del gen <i>KAT2</i> en respuesta a CFB .....	110
1.2. Expresión de genes de herida en respuesta a CFB .....	112
1.3. Relación entre las vías de señalización activadas por CFB y por la herida dependiente de JA.....	114
2. Análisis del número y tamaño de peroxisomas en respuesta a CFB, herida y JA.....	117
2.1. Número de peroxisomas en respuesta a CFB, herida y JA.....	118
1.1.1. Marcaje fluorescente de los peroxisomas en plantas <i>MFP2::YFP-MFP2</i> .....	118
1.1.2. Tinción citoquímica de los peroxisomas con 3,3'-diaminobenzidina (DAB).....	124
2.2. Tamaño de los peroxisomas en respuesta a CFB, herida y JA .....	124
3. Expresión de genes <i>PEX</i> en respuesta a CFB, a la herida y a JA.....	126
4. Análisis de las respuestas desencadenadas por CFB, herida y JA en el mutante de inserción de T-DNA <i>pex14</i> .....	127
4.1. Caracterización fenotípica del mutante <i>pex14</i> .....	128
4.2. Caracterización molecular del mutante <i>pex14</i> en respuesta a CFB, herida y JA.....	128
5. Análisis transcriptómico de la respuesta a CFB en plántulas de Arabidopsis.....	131
5.1. Genes expresados diferencialmente en respuesta al CFB.....	132
5.2. Validación del análisis transcriptómico.....	135
5.3. Categorías biológicas diferencialmente representadas en respuesta a CFB .....	137

## Discusión

1. Función del gen <i>KAT2</i> en defensa y desarrollo.....	147
1.1. La expresión de los genes <i>KAT</i> es regulada espacial y temporalmente a lo largo del ciclo biológico de <i>Arabidopsis</i> .....	148
1.1.1. La expresión del gen <i>KAT2</i> en plántulas correlaciona con la función esencial de <i>KAT2</i> durante el desarrollo postgerminativo de las semillas.....	148
1.1.2. El gen <i>KAT2</i> se expresa a lo largo de todo el ciclo biológico de <i>Arabidopsis</i> .....	149
1.1.3. La expresión del gen <i>KAT2</i> en órganos florales presenta un patrón dinámico a lo largo del desarrollo y maduración de la flor y el fruto.....	150
1.1.4. El gen <i>KAT2</i> presenta altos niveles de expresión durante el desarrollo de las semillas.....	154
1.2. Los genes <i>KAT</i> forman parte de las respuestas a herida en <i>Arabidopsis</i> y constituyen un punto esencial para la activación de las respuestas dependientes de JA.....	155
1.2.1. Los genes <i>KAT</i> activan su expresión en respuesta a la herida por vías de señalización que difieren en la participación de JA.....	155
1.2.2. <i>KAT2</i> interviene en la síntesis de JA en respuesta a la herida.....	159
1.2.3. <i>KAT2</i> participa en otros procesos funcionalmente relacionados con la síntesis de JA.....	163
1.3. El gen <i>KAT2</i> activa su expresión en respuesta a patógenos biotrofos y luz UV-C, pero no interviene en la síntesis de SA en respuesta a estrés en <i>Arabidopsis</i> .....	166
1.4. La expresión de <i>KAT2</i> es necesaria para la activación de la senescencia natural o inducida por oscuridad en <i>Arabidopsis</i> .....	168
2. La proliferación de peroxisomas, las respuestas activadas por herida y la expresión de genes <i>PEX</i> están co-regulados pero desacoplados en <i>Arabidopsis</i> .....	174
3. <i>Arabidopsis</i> presenta múltiples respuestas frente al proliferador de peroxisomas CFB.....	180
3.1. El CFB produce una respuesta de detoxificación general en <i>Arabidopsis</i> .....	180
3.2. El CFB y diferentes factores de estrés coregulan un amplio grupo de factores de transcripción en <i>Arabidopsis</i> .....	184

*Conclusiones*

Conclusiones.....187

*Materiales y Métodos*

1. Material biológico y condiciones de cultivo .....189

    1.1. Plantas: *Arabidopsis thaliana*.....189

    1.2. Bacterias.....190

        1.2.1. *Escherichia coli* .....190

        1.2.2. *Agrobacterium tumefaciens* .....190

        1.2.3. *Pseudomonas syringae* .....191

    1.3. Hongos: *Plectosphaerella cucumerina*.....191

2. Tratamientos aplicados a las plantas.....191

    2.1. Herida.....193

    2.2. Aplicación exógena de fitohormonas (JA, SA y ABA) y de CFB.....193

    2.3. Deshidratación.....193

    2.4. Inoculación con el hongo fitopatógeno *Plectosphaerella cucumerina*.....193

    2.5. Inoculación con la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000.....193

        2.5.1. Inoculación por infiltración .....193

        2.5.2. Inoculación por inmersión .....194

        2.5.3. Curvas de crecimiento de bacterias .....194

    2.6. Irradiación con luz UV-C.....195

    2.7. Senescencia .....195

3. Aislamiento y manipulación de ácidos nucleicos .....196

    3.1. Extracción y purificación de ácidos nucleicos.....196

        3.1.1. Extracción de DNA genómico de *Arabidopsis* .....196

        3.1.2. Extracción de RNA de *Arabidopsis*.....196

    3.2. Cuantificación de ácidos nucleicos .....197

    3.3. Manipulación de ácidos nucleicos.....197

        3.3.1. Retrotranscripción (RT) del RNA.....197

        3.3.2. Amplificación del DNA mediante PCR.....198

        3.3.3. Determinación de los niveles de transcrito .....199

            3.3.3.1. Análisis Northern blot y Southern blot .....199

                3.3.3.1.1. Electroforesis de RNA y DNA para transferencia a membrana.....199

---

3.3.3.1.2. Transferencia y fijación de RNA y DNA a membrana .....	200
3.3.3.1.3. Marcaje de sondas radiactivas.....	201
3.3.3.1.4. Prehibridación e hibridación .....	201
3.3.3.2. PCR semicuantitativa.....	202
3.3.3.3. PCR cuantitativa a tiempo real .....	203
3.3.4. Manipulación de fragmentos de DNA necesarios para sondas o para generación de construcciones.....	204
3.3.4.1. Purificación de fragmentos de DNA de geles de agarosa o de productos de PCR.....	204
3.3.4.2. Digestiones de fragmentos de DNA o de vectores plasmídicos.....	205
3.3.4.3. Generación de extremos romos, fosforilación de fragmentos de DNA y desfosforilación de vectores plasmídicos.....	205
3.3.5. Reacciones de ligación entre fragmentos y vectores plasmídicos .....	206
3.3.6. Manipulación de microorganismos para transformación de los productos de ligación y de vectores plasmídicos .....	207
3.3.6.1. Obtención de células competentes para transformación por choque térmico.....	207
3.3.6.2. Transformación de células competentes por choque térmico .....	208
3.3.7. Purificación de plásmidos bacterianos.....	209
3.3.7.1. Procedentes de <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ .....	209
3.3.7.2. Procedentes de <i>A. tumefaciens</i> .....	209
3.4. Obtención de plantas transgénicas de <i>A. thaliana</i> .....	210
3.4.1. Transformación genética de plantas de <i>A. thaliana</i> .....	210
3.4.2. Selección y análisis genético de los transformantes .....	211
4. Plantas transgénicas generadas para el análisis de la función del gen <i>KAT2</i> .....	212
4.1. Plantas con niveles reducidos y aumentados de transcrito <i>KAT2</i> .....	212
4.1.1. Generación y transformación de las construcciones.....	212
4.1.2. Análisis genéticos de las líneas transgénicas generadas .....	213
4.2. Plantas con la región promotora del gen <i>KAT2</i> fusionada a genes delatores.....	214
4.2.1. Generación y transformación de las construcciones.....	214
4.2.2. Análisis genéticos de las líneas transgénicas generadas .....	216
4.2.3. Determinación de la actividad de los genes delatores.....	216
4.2.3.1. Detección de la actividad $\beta$ -glucuronidasa mediante tinción histoquímica .....	216

4.2.3.2. Detección de la actividad luciferasa mediante bioluminiscencia.....	217
5. Obtención de la planta transgénica mutante <i>coil-1nahG</i> .....	217
6. Obtención del mutante de inserción de T-DNA <i>pex14</i> .....	218
7. Análisis transcriptómicos mediante micromatrices de oligonucleótidos.....	219
7.1. Amplificación de RNA y marcaje.....	219
7.2. Hibridación de las micromatrices.....	219
7.3. Análisis de los datos.....	220
8. Análisis de proteínas.....	221
8.1. Extracción de proteínas.....	221
8.2. Western blot.....	221
8.2.1. Electroforesis de proteínas.....	221
8.2.2. Transferencia de proteínas a membrana.....	221
8.2.3. Hibridación con anticuerpos.....	222
8.2.4. Detección.....	222
9. Tiempo de floración y plastocrono.....	222
10. Cuantificación de los niveles de JA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	223
11. Cuantificación de clorofilas a+b mediante espectrofotometría.....	223
12. Técnicas realizadas para el estudio de los peroxisomas en <i>Arabidopsis</i> .....	224
12.1. Microscopía Confocal en plantas transgénicas <i>MFP2::YFP-MFP2</i> .....	224
12.1.1. Descripción y origen de las plantas utilizadas.....	224
12.1.2. Análisis cualitativo del número de peroxisomas.....	224
12.2. Marcaje de peroxisomas con 3' 3-diaminobenzidina (DAB).....	225
12.2.1. Citoquímica con DAB.....	225
12.2.2. Fijación de tejidos y realización de cortes para microscopía.....	225
12.2.3. Recuento de peroxisomas.....	226
12.2.3.1. Determinación del número de peroxisomas.....	226
12.2.3.2. Determinación del tamaño de los peroxisomas y mitocondrias.....	226
13. Aplicaciones de Internet.....	226



## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

*Introducción*

Figura 1. Biosíntesis, metabolismo y señalización del JA en Arabidopsis .....	6
Figura 2. Biosíntesis y metabolismo del SA en plantas .....	13
Figura 3. Vías de señalización activadas en respuesta a herida en Solanáceas y en Arabidopsis .....	20
Figura 4. Ruta de $\beta$ -oxidación peroxisomal de plantas .....	33
Figura 5. Esquema de los fenotipos descritos en los mutantes de $\beta$ -oxidación en Arabidopsis .....	38

*Resultados I*

Figura 6. Análisis <i>in silico</i> de las secuencias de genes <i>KAT</i> de <i>A. thaliana</i> y de las proteínas que codifican .....	50
Figura 7. Nivel de expresión de los genes <i>KAT</i> en distintos órganos de <i>A. thaliana</i> .....	53
Figura 8. Tinción histoquímica con X-gluc en flores y silicuas de plantas <i>KAT2::GUS</i> .....	55
Figura 9. Patrón de expresión del gen <i>KAT2</i> en plántulas de <i>A. thaliana</i> .....	58
Figura 10. Análisis del desarrollo postgerminativo de las líneas <i>KAT2as</i> .....	59
Figura 11. Nivel de expresión de genes <i>KAT</i> en respuesta a la herida en <i>A. thaliana</i> .....	62
Figura 12. Nivel de expresión de genes <i>KAT</i> en respuesta a la herida en plantas Col, deficientes en SA ( <i>nahG</i> ), insensibles a JA ( <i>coil-1</i> ) y en el doble mutante <i>coil-1nahG</i> .....	64
Figura 13. Nivel de expresión de los genes <i>KAT</i> en respuesta a la aplicación exógena de JA en plántulas Col y en el mutante insensible a JA <i>coil-1</i> .....	65
Figura 14. Nivel de expresión de los genes <i>KAT</i> en respuesta a la aplicación exógena de SA, JA y a la aplicación conjunta de ambas moléculas en plántulas de <i>A. thaliana</i> .....	67
Figura 15. Nivel de expresión de los genes <i>KAT</i> en respuesta a la deshidratación y a la aplicación exógena de ABA en plántulas de <i>A. thaliana</i> .....	69
Figura 16. Nivel de expresión de los genes <i>KAT</i> en respuesta a la aplicación exógena de ABA en plántulas <i>coil-1</i> , insensibles a JA .....	71

Figura 17. Nivel de expresión del gen <i>JR2</i> , marcador de las respuestas a herida dependientes de JA, en Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> heridas y en respuesta a la aplicación exógena de JA.....	73
Figura 18. Niveles de JAs endógenos en condiciones basales e inducidas por la herida en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> .....	75
Figura 19. Nivel de expresión de los genes inducibles por herida <i>WR3</i> y <i>ACXI</i> en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> heridas.....	76
Figura 20. Nivel de expresión del gen <i>JR2</i> , marcador de las respuestas a herida dependientes de JA, en plantas Col y líneas transgénicas <i>35S::KAT2</i> heridas.....	78
Figura 21. Nivel de expresión de los genes <i>KAT2</i> y <i>JR2</i> en las réplicas del análisis de micromatrices en plántulas Col y en la línea transgénica <i>KAT2as</i> 16C herida.....	79
Tabla I. Relación de genes cuya expresión aumenta o disminuye en plantas <i>KAT2as</i> .....	82
Figura 22. Nivel de expresión de los genes <i>KAT2</i> y <i>PDF1.2a</i> , marcador de las respuestas a patógenos necrotrofos dependiente de la vía Et/JA, en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> y <i>35S::KAT2</i> infectadas con <i>Plectosphaerella cucumerina</i> .....	84
Figura 23. Medida del tiempo de floración en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> cultivadas en condiciones de DC.....	86
Figura 24. Análisis de la deshidratación en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> y <i>35S::KAT2</i> .....	88
Figura 25. Nivel de expresión de los genes <i>KAT2</i> y <i>PRI</i> , marcador de las respuestas a patógenos biotrofos dependientes de SA, en plantas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> inoculadas con <i>Pseudomonas syringae</i> pv tomato DC3000 y DC3000 <i>avrRpmI</i> ó tratadas exógenamente con SA. Nivel de expresión de <i>KAT2</i> en respuesta a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	91
Tabla II. Crecimiento de <i>Pseudomonas syringae</i> pv tomato DC3000 y DC3000 <i>avrRpmI</i> en plántulas Col y líneas transgénicas <i>KAT2as</i> y <i>35S::KAT2</i> .....	94
Figura 26. Nivel de expresión del gen <i>KAT2</i> y de genes marcadores de las vías de señalización activadas por JA y SA en respuesta a la irradiación con luz UV-C en líneas transgénicas <i>KAT2as</i> y en plantas deficientes en las respuestas activadas por SA ( <i>nahG</i> ) y JA ( <i>coil-1</i> ).....	95
Figura 27. Nivel de expresión de genes <i>KAT</i> en hojas senescentes de <i>A. thaliana</i> .....	98
Figura 28. Patrón de expresión del gen <i>KAT2</i> en hojas sometidas a senescencia forzada por oscuridad en plantas transgénicas <i>KAT2::GUS</i> .....	100

Figura 29. Nivel de luminiscencia emitido *in vivo* por plantas transgénicas *KAT2::LUC* sometidas a oscuridad .....102

Figura 30. Senescencia forzada por oscuridad en hojas de plantas transgénicas *KAT2as*, *35S::KAT2* y en el mutante *coil-1* .....105

Figura 31. Nivel de expresión de los genes *KAT2* y *SAG12*, marcador de senescencia, en hojas cortadas sometidas a senescencia forzada por oscuridad en plantas Col y líneas transgénicas *KAT2as* .....106

Figura 32. Senescencia natural en plantas Col y líneas transgénicas *KAT2as* .....108

**Resultados II**

Figura 33. Nivel de expresión del gen *KAT2* en respuesta a la aplicación exógena de CFB en *A. thaliana* .....111

Figura 34. Nivel de expresión de genes relacionados con herida y patógenos en respuesta a la aplicación exógena de CFB .....113

Figura 35. Nivel de expresión de los genes *KAT2* y *JR2* en respuesta a CFB en plántulas Col, deficientes en SA (*nahG*), insensibles a JA (*coil-1*), en el doble mutante *coil-1nahG* y en las líneas transgénicas *KAT2as* .....115

Figura 36. Nivel de expresión de genes relacionados con herida en respuesta a CFB en plántulas Col-0 y en los mutantes insensibles a JA *coil-1* y *jai-1* .....116

Figura 37. Análisis del número de peroxisomas mediante microscopía confocal de la proteína YFP-MFP2 en hojas de plantas transgénicas *MFP2::YFP-MFP2* heridas o tratadas con CFB o JA .....120

Figura 38. Análisis del número de peroxisomas mediante tinción citoquímica con 3,3'-diaminobenzidina (DAB) y visualización con microscopía óptica en hojas de plantas Col-0 heridas ó tratadas con CFB ó JA .....123

Figura 39. Análisis del tamaño de los peroxisomas mediante tinción citoquímica con 3,3'-diaminobenzidina (DAB) y visualización con microscopía electrónica de transmisión en hojas de plantas Col-0 heridas ó tratadas con CFB ó JA .....125

Figura 40. Nivel de expresión de los genes *PEX1* y *PEX14*, implicados en la biogénesis y función de peroxisomas, en respuesta a CFB, herida y JA .....127

Figura 41. Caracterización fenotípica del mutante de inserción de T-DNA *pex14* .....129

Figura 42. Nivel de expresión de los genes inducibles por herida *KAT2* y *JR2* en respuesta a CFB, JA y herida en el mutante de inserción de T-DNA *pex14* .....130

Tabla III. Relación de genes cuya expresión aumenta en respuesta a CFB .....133

Tabla IV. Relación de genes cuya expresión disminuye en respuesta a CFB.....	134
Figura 43. Nivel de expresión de los genes <i>KAT2</i> , <i>nitrilasa 2 (NIT2)</i> y <i>PEX1</i> en las réplicas del análisis de micromatrices en respuesta a CFB .....	136
Tabla V. Ontologías génicas diferenciales en respuesta a CFB obtenidas por FatiGO+.....	138
Tabla VI. Relación de genes incluidos en las categorías biológicas sobrerrepresentadas en los genes inducidos por CFB obtenidas por FatiGO+.....	139
Tabla VII. Relación de genes incluidos en las categorías biológicas sobrerrepresentadas en los genes reprimidos por CFB obtenidas por FatiGO+.....	141
Figura 44. Perfiles de expresión de los factores de transcripción diferencialmente expresados por CFB en respuesta a diferentes factores de estrés y hormonas.....	144

### Discusión

Figura 45. Esquema representativo del patrón de inducción de <i>KAT2</i> en defensa y desarrollo .....	173
Figura 46. Esquema representativo de las conexiones entre las vías de señalización activadas por CFB y herida en <i>A. thaliana</i> .....	178

### Materiales y Métodos

Tabla VIII. Oligonucleótidos específicos utilizados para los análisis de la expresión génica .....	199
Tabla IX. Oligonucleótidos específicos utilizados para PCR cuantitativa .....	204
Figura 47. Esquema de la generación de plantas transgénicas con la región codificante completa del gen <i>KAT2</i> expresada en orientación antisentido ( <i>KAT2as</i> ) y sentido ( <i>35S::KAT2</i> ).....	213
Figura 48. Esquema de la generación de plantas transgénicas con la región promotora del gen <i>KAT2</i> fusionada a los genes delatores $\beta$ - <i>glucuronidasa (GUS)</i> y <i>luciferasa (LUC)</i> .....	215
Figura 49. Localización de la inserción del T-DNA en el gen <i>PEX14</i> en la línea SALK_007441.....	218