

Proteínas de resistencia en plantas

Esperanza Jubera García. Marta Hernández Moreno.

Tutor

Carlos Vicente Córdoba

Alumnas de la asignatura de Fisiopatología Vegetal.
Departamento de Biología Vegetal I. Facultad de Biología, UCM.
Avda. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid.

sapoa6@gmail.com

marta_hm@hotmail.es

cvicente@bio.ucm.es

Resumen: Mediante el uso de mutantes de *Arabidopsis thaliana* a los que le faltan las unidades funcionales $G\alpha$ o $G\beta$ de proteínas G heterotriméricas, se ha demostrado que su capacidad de defensa frente a los patógenos necrotróficos *Alternaria brassicicola* y *Fusarium oxysporum* era dañada en los mutantes deficientes en $G\beta$ mientras que los mutantes $G\alpha$ desarrollaban un ligero incremento de su resistencia comparados con la del tipo salvaje. Por el contrario, las respuestas de la planta a cepas virulentas (DC3000) y avirulentas (JL1065) de *Pseudomonas syringae* parecían ser independientes de las proteínas G heterotriméricas. La inducción de un cierto número de genes relacionados con la resistencia en los mutantes deficientes en $G\beta$ era severamente reducida en respuesta a la infección por *A. brassicicola*. Además, los mutantes deficientes en $G\beta$ mostraban una sensibilidad disminuida en un cierto número de acciones inducidas por metil jasmonato, tales como la inducción de gen de la proteína de resistencia PDF1.2, inhibición de la elongación radicular, germinación de las semillas y crecimiento general de las plantas a concentraciones subletales de metil jasmonato. En ningún caso se observó esta disminución en los mutantes deficientes en $G\alpha$ (TRUSOV et al., 2006).

Palabras clave: *Alternaria brassicicola*. *Arabidopsis thaliana*. *Fusarium oxysporum*. Proteínas de resistencia. Proteínas G. *Pseudomonas syringae*.

INTRODUCCION

Las proteínas G heterotriméricas regulan rutas de transducción de señales que median la acción de una familia de siete receptores de membrana conocidos como receptores asociados a proteínas G. Están compuestas de tres tipos de subunidades, $G\alpha$, $G\beta$, $G\gamma$ (Fig. 1). Existen en todos los eucariotas, desde levaduras a plantas superiores y mamíferos. En plantas, las proteínas G modelo son $1G\alpha$, $1G\beta$, $2G\gamma$.

Las proteínas G están asociadas a varios tipos de procesos fisiológicos:

- División celular relacionada con el control por auxina.
- Germinación de semillas controlada por GA3 y brasinosteroides.
- Estimulación por ABA (ácido abscísico) de fosfolipasa D en capas de aleurona de *Hordeum vulgare*.
- Funciones de los estomas en *A. thaliana*.
- Respuesta a bajas concentraciones de GA3 (ácido giberélico) en arroz y resistencia de arroz a rice blast (piricularia).
- Función de defensa en plantas.

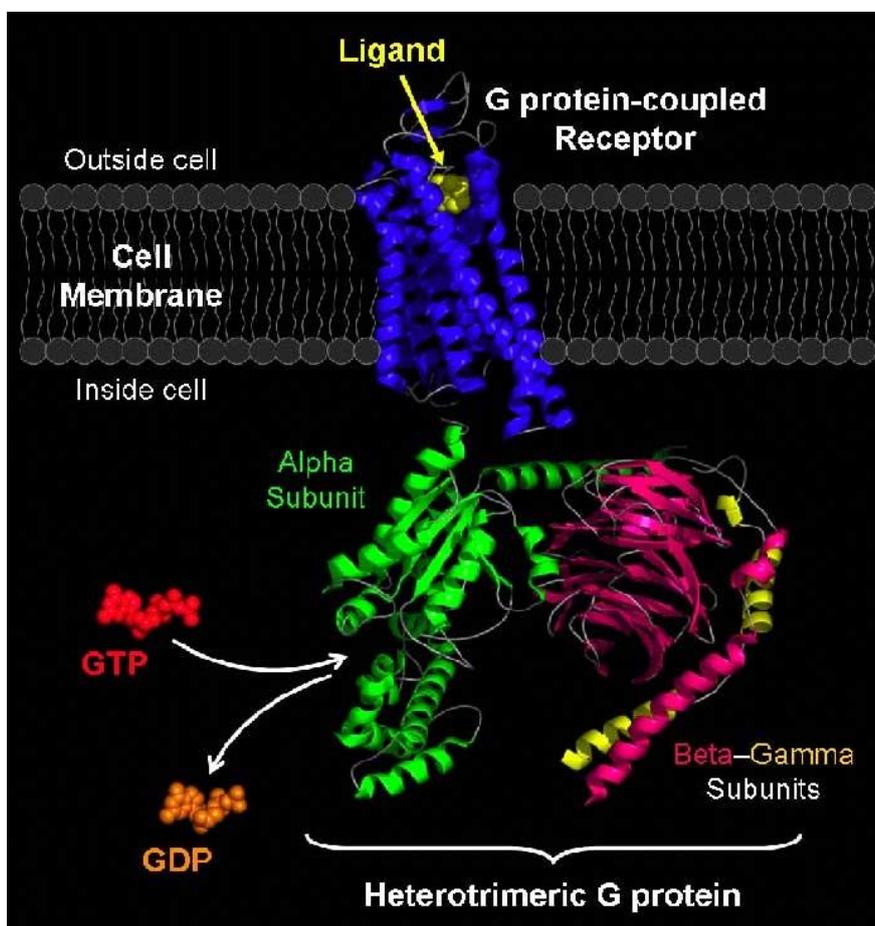


Figura 1. Modelo tridimensional de proteínas G transmembrana de plantas, mostrando las diferentes subunidades que las componen. Tomado de SNYDER (2005:8).

Para la elucidación del papel de las proteínas G en las reacciones de defensa, se ha elegido como planta *Arabidopsis thaliana*, tipo salvaje col-0, y dos mutantes, gpa1-4 (mutante de *Arabidopsis* deficiente en $G\alpha$) y agb1-2 (mutante de *Arabidopsis*

deficiente en G β). Como patógenos se han elegido dos cepas de *Pseudomonas syringae*, DC3000 (virulenta) y JL1065 (avirulenta), y dos hongos fitopatógenos necrotróficos, *Fusarium oxysporum* y *Alternaria brassicicola*.

Pseudomonas syringae

Aparentemente, la resistencia o susceptibilidad de *A. thaliana* frente a *Ps. syringae*, ensayada como extensión y número de lesiones o producción de proteínas de resistencia, es independiente de proteínas G, como se especifica en la Fig. 2.

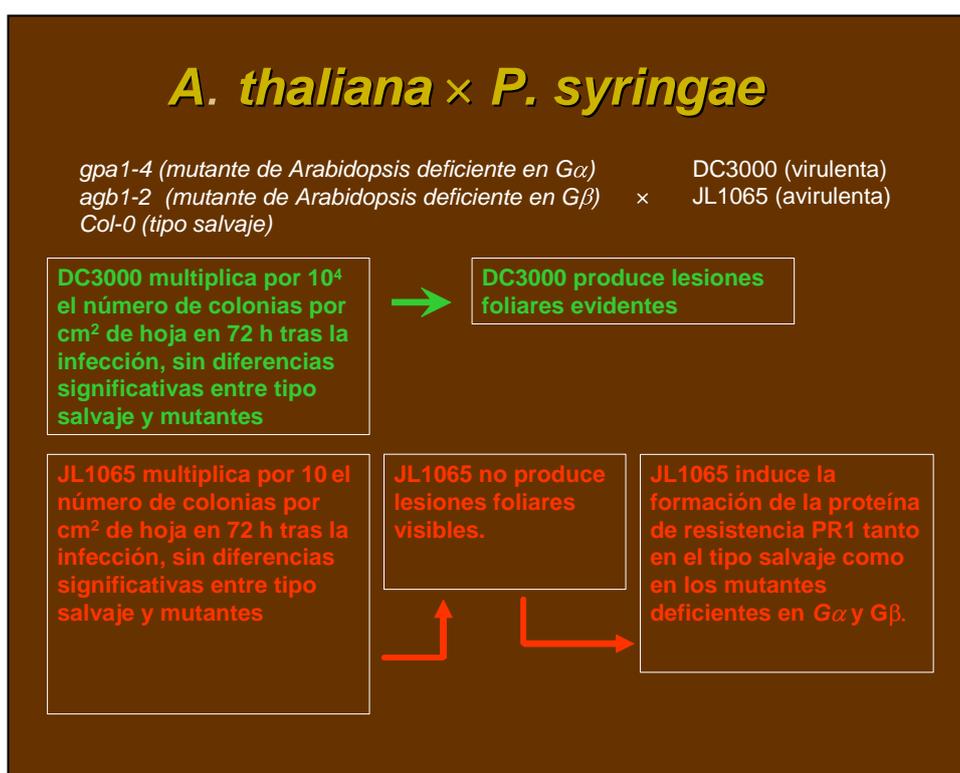


Figura 2. Resultados obtenidos sobre susceptibilidad o resistencia de *Arabidopsis thaliana* a dos cepas de *Pseudomonas syringae*, virulenta y avirulenta respectivamente, usando dos mutantes deficitarios en las subunidades G α o G β .

Fusarium oxysporum

Frente a *F. oxysporum*, se ha ensayado por evaluación del número de hojas cloróticas, extensión de la planta en roseta y progresión del micelio en planta. Los ensayos demuestran que la deficiencia de la subunidad G α incrementa la infectividad del hongo mientras que la deficiencia en la subunidad G β aumenta la resistencia de la planta al patógeno (Fig. 3).

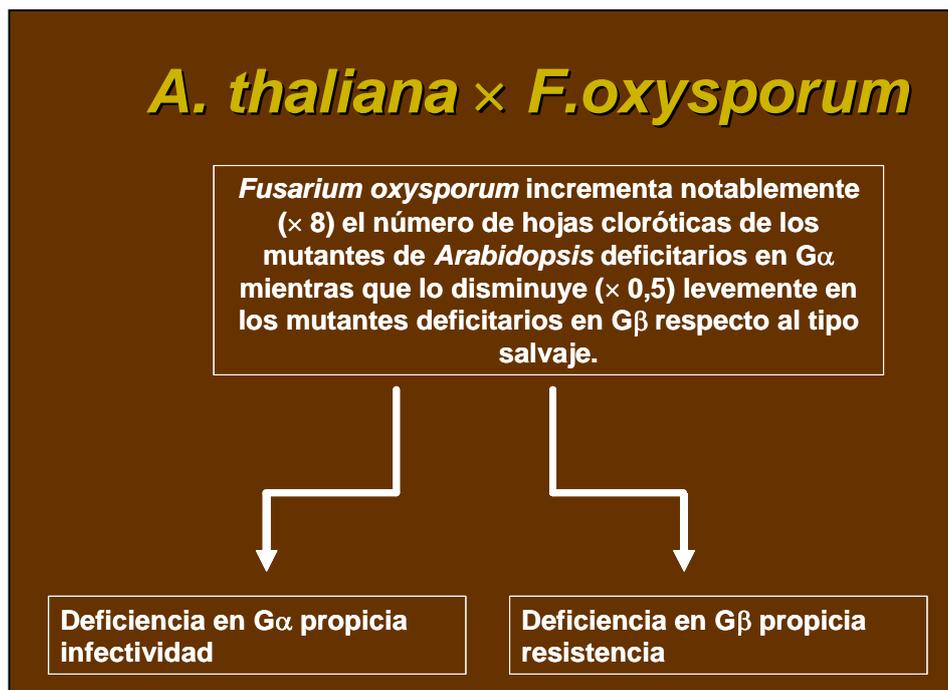


Figura 3. Resultados obtenidos sobre susceptibilidad o resistencia de *Arabidopsis thaliana* a *Fusarium oxysporum* usando dos mutantes deficientes en las subunidades $G\alpha$ o $G\beta$.

Alternaria brassicicola

La infectividad de *A. brassicicola* se ha ensayado por cuantificación del área foliar producida por lesiones y por el número de esporas encontradas en esas lesiones.

Mediante estos experimentos se ha demostrado que la deficiencia en la subunidad $G\alpha$ estimula la infectividad del hongo, mientras que el déficit en subunidad $G\beta$ disminuye e incluso anula esta infectividad (Fig. 4).

La respuesta de defensa de *A. thaliana* frente a *A. brassicicola* se ha investigado por la expresión de genes para proteínas de defensa:

- GST1 que codifica para glutatona S-transferasa.
- PDF1.2 que codifica para una defensina.
- OPR1, que codifica para 12-oxofitodienoato reductasa, enzima envuelta en la síntesis de jasmonatos.
- PAD3, que codifica para citocromo P450 mono-oxigenasa, envuelta en la síntesis de camalexina.

GST1, OPR1, PAD3 y PDP1.2 muestran la misma evolución tras 24 h después de la infección en plantas del tipo salvaje y en mutantes deficientes en $G\alpha$. Todas ellas

también son sintetizadas, aunque con un cierto retraso en el tiempo, en los mutantes deficitarios en G β .

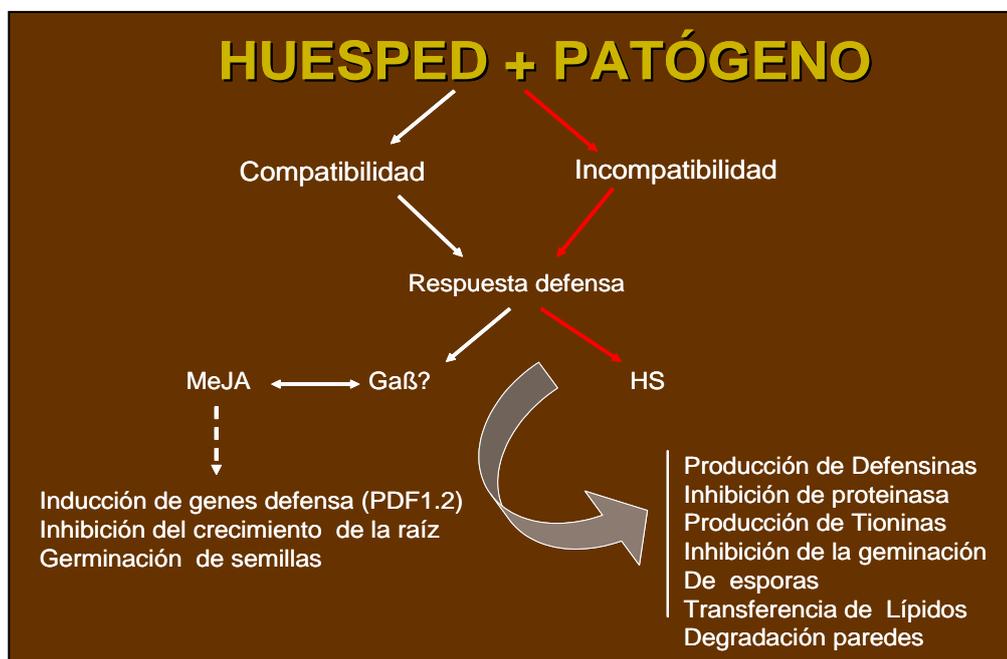


Figura 4. Mapa conceptual en el que se muestra el requerimiento o no de las subunidades G α y G β de las proteínas G de *Arabidopsis thaliana* para la resistencia o susceptibilidad de la planta frente a los patógenos ensayados.

TRATAMIENTO CON METIL JASMONATO EXÓGENO

El tratamiento con metil jasmonato retrasa la producción de GST1, PAD3 y PDF1.2 tanto en el tipo salvaje como en ambos mutantes, aunque los niveles de PDF1.2 alcanzados por el mutante deficitario en G α a las 24h de tratamiento son muchos más altos que los alcanzados por el tipo salvaje y, sobre todo, por el mutante deficitario en G β . La proteína OPR1 alcanza su máxima producción entre 1 y 6 h para decrecer después, aunque los niveles más altos alcanzados siempre fueron en el tipo salvaje.

El papel de las subunidades de las proteínas G de *Arabidopsis* en relación con susceptibilidad o resistencia frente a patógenos queda puesto de manifiesto en el mapa conceptual de la Fig. 4.

CONCLUSIONES

- La resistencia/susceptibilidad de *A. thaliana* frente a *P. syringae* es independiente de las proteínas G de la planta.

- La resistencia de *A. thaliana* frente a *F. oxysporum* y *A. brassicicola* parece asociada a subunidad G β pero no a G α de las proteínas G de la planta.
- Mutantes deficientes de subunidad G β presentan un menor nivel de inducción de genes relacionados con la defensa tras experimentar una infección con *A. brassicicola* o un tratamiento con metil jasmonato exógeno.

BIBLIOGRAFÍA

Snyder, B. 2005. Where are the news drugs. Lens (Vanderbilt Medical center), 3(1): 5-8.

Trusov, Y.; Rookes, J.E.; Chakravorty, D.; Armour, D.; Schenk P.M. y Botella, J.R. 2006. Heterotrimeric G proteins facilitate *Arabidopsis* resistance to necrotrophic pathogens and are involved in jasmonate signaling. Plant Physiology, 140: 210–220.

RECURSOS ELECTRÓNICOS

Lens Magazine

<http://www.vanderbilt.edu/vicb/Articles/LensSummer2005/WhereAreTheNewDrugs.htm>

Recibido: 22 junio 2009.

Aceptado: 6 julio 2009.