

Señalización de Ácido Jasmónico e interacciones con otras hormonas

- Oscar Lorenzo, Departamento de Fisiología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. Plaza Doctores de la Reina s/n, 37007 Salamanca, Spain. @
- Roberto Solano, Departamento de Genética Molecular de Plantas. Centro Nacional de Biotecnología-CSIC. Campus Universidad Autónoma, 28049 Madrid, Spain @

INTRODUCCIÓN.

La respuesta de una planta a cualquier estímulo exógeno o endógeno nunca es el resultado de la activación de un única ruta de señalización hormonal, sino que es la consecuencia de una compleja red de interacciones entre distintas rutas de señalización. Distintos estímulos provocan una activación asimétrica de esas redes señalizadoras complejas y el balance final de interacciones entre las mismas es el que determina las respuestas específicas al estímulo inicial.

Existen numerosas evidencias de que la célula es capaz de combinar de distintas formas las mismas rutas hormonales para determinar respuestas muy distintas a distintos estímulos. Un ejemplo claro lo constituye la respuesta de las plantas a patógenos y heridas. Aunque en ambos casos la planta activa las rutas de señalización de ácido jasmónico (JA) y de etileno (ET), combina estas dos rutas de distintas formas para que las respuestas finales sean distintas y específicas para cada estímulo.

La investigación reciente de los mecanismos moleculares de la señalización hormonal en plantas ha venido marcada, en nuestra opinión, por dos aspectos:

-Por una parte, la evidencia resaltada anteriormente de que las rutas de señalización hormonal no son independientes y lineales, por lo que la comprensión de cualquier ruta requiere también entender que interacciones establece con otras rutas y como se regulan esas interacciones desde un punto de vista molecular.

-Por otra parte, el descubrimiento de que los procesos de regulación de la estabilidad de proteínas por ubiquitinación constituyen un mecanismo central de control de la señalización hormonal en plantas, común a casi todas las rutas hormonales descritas, y que en algunos casos explica como se regula molecularmente la interacción entre dos rutas.

En esta revisión queremos centrarnos en la actualización del conocimiento sobre la señalización de la fitohormona ácido jasmónico en plantas, incidiendo en los mecanismos que regulan su interacción con otras hormonas y haciendo un hincapié particular en los procesos de degradación de proteínas por el proteosoma como mecanismo de regulación de esta señalización, común a la regulación de otras rutas hormonales.

SEÑALIZACIÓN DE ÁCIDO JASMÓNICO.

Los jasmonatos son fitohormonas lipídicas, derivados oxigenados de los ácidos grasos linoleico y linolénico, principalmente, que actúan como moléculas señalizadoras de la respuesta de las plantas a numerosas situaciones de estrés y participan en diversos procesos de desarrollo. Entre las situaciones de estrés que regulan están las heridas (mecánicas o bióticas), la exposición a ozono, sequía y el ataque por patógenos y plagas. Entre los procesos de desarrollo en los que participan los jasmonatos están el crecimiento de la raíz, la tuberización, la maduración de frutos, senescencia, desarrollo del polen y enrollamiento de zarcillos (Penninckx et al., 1996; Creelman y Mullet, 1997; McConn et al., 1997; Pieterse et al., 1998; Reymond y Farmer, 1998; Staswick et al., 1998; Overmyer et al., 2000; Berger, 2002; Rao et al., 2002; Turner et al., 2002; Farmer et al., 2003; Rojo et al., 2003).

La ruta de biosíntesis de los jasmonatos (ruta de los octadecanoides) ha sido extensamente estudiada y se dispone de mucha información acerca del tipo de enzimas implicados en cada paso y de la localización subcelular de los mismos (Mueller, 1997; Berger, 2002; Turner et al., 2002). Sin embargo, a pesar de la importancia de los jasmonatos como moléculas señalizadoras, el conocimiento actual de los mecanismos moleculares de transmisión de señales mediadas por jasmonatos es muy limitado. Los pocos componentes de esta ruta de señalización descritos hasta el momento (Tabla 1) se han identificado principalmente gracias a escrutinios genéticos buscando plantas que, o bien mostrasen una respuesta constitutiva o aumentada a ácido jasmónico (JA), o bien exhibieran una sensibilidad reducida a JA, a derivados como el metil-jasmónico (MeJA) o a análogos como la coronatina (Turner et al., 2002).

Entre los mutantes insensibles a JA identificados en *Arabidopsis* destaca *coi1* (*coronatine insensitive1*). Este mutante muestra una pérdida completa de sensibilidad a la hormona en ensayos de inhibición del crecimiento de la raíz y acumulación de antocianinas mediados por JA (Feys et al., 1994). El gen *COI1* se identificó molecularmente mediante clonación posicional y se vio que codificaba una proteína con un dominio "F-box" (Xie et al., 1998). Puesto que este tipo de proteínas suele participar en la formación de complejos ubiquitin-ligasa E3 de tipo SCF, la presencia del dominio "F-box" en *COI1* sugirió la participación de la degradación de proteínas por el proteosoma como un mecanismo de regulación de la señalización de JA. Esta hipótesis se ha comprobado posteriormente mediante la demostración de que *COI1* participa en la formación de complejos SCF funcionales, y que mutantes deficientes en otros componentes de complejos SCF también muestran deficiencias en la señalización de JA (Xu et al., 2002; Devoto et al., 2002; Feng et al., 2003).

Aunque se describió inicialmente en *Arabidopsis*, la función *COI1* está conservada en otras especies como lo demuestra la identificación de un homólogo en tomate (*LeCOI1*; Li et al., 2003). Curiosamente, las mutaciones en el gen *LeCOI1* han demostrado que, al menos en tomate, el JA está implicado en el desarrollo de óvulos y tricomas, que no están alterados en el mutante *coi1* de *Arabidopsis* (Li et al., 2003). Por tanto, o bien el JA regula distintos procesos en distintas especies, o

bien deben existir otras proteínas similares a COI1 en Arabidopsis responsables de la regulación de esos procesos.

Además de *coi1* se han descrito otros mutantes insensibles a JA, entre los que están *jar1* (*methyl-jasmonate resistant1*; Staswick et al., 1992), *jin1* y *jin4* (*methyl-jasmonate insensitive1/4*; Berger et al., 1996; Lorenzo et al., 2004), *jue1*, *jue2* y *jue3* (*jasmonate underexpressing1/2/3*; Jensen et al., 2002), *mpk4* (*map-kinase4*; Petersen et al., 2000), *axr1* (*auxin resistant1*; Xu et al., 2002; Tiryaki y Staswick, 2002), y *jai3* y *jai4* (*jasmonic acid insensitive3/4*; Lorenzo et al., 2004).

Todos los alelos de estos mutantes muestran un fenotipo más débil que *coi1* lo que sugiere que los genes correspondientes no se requieren para todas las respuestas a JA, y/o que estas mutaciones afectan a miembros de familias génicas con funciones parcialmente redundantes.

Los mutantes *jar1* y *jin4* son alélicos y codifican un enzima con actividad de adenilación de JA, lo que indica que esta modificación modula la transducción de señal de la hormona (Staswick et al., 2002). Los mutantes *jue* se identificaron mediante el escrutinio de mutantes con una expresión reducida de un reportador (luciferasa) fusionado al promotor del gen *LOX2* (regulado por JA), y los genes correspondientes no se han identificado aún (Jensen et al., 2002). *jin1* se describió inicialmente como un mutante con una sensibilidad reducida a MeJA en un ensayo de inhibición del crecimiento de la raíz, y con una reducción en la inducibilidad de *AtVSP* (*VEGETATIVE STORAGE PROTEIN*) por MeJA en hojas (Berger et al., 1996). Nuevos alelos de este mutante se han identificado posteriormente en un escrutinio de modificadores de la sensibilidad a JA de mutantes *ein3* (insensibles a etileno; Lorenzo et al., 2004). El gen *JIN1* se ha identificado mediante clonación posicional y se ha demostrado que codifica un factor transcripcional (AtMYC2) perteneciente a la familia MYC (Lorenzo et al., 2004). La expresión de *AtMYC2* está regulada por JA y es dependiente de COI1. Una vez sintetizada, la proteína AtMYC2 se localiza en el núcleo celular, sin que esta ubicación parezca estar regulada hormonalmente. Como en el caso de otros mutantes insensibles a JA, el fenotipo de *jin1* es más débil que el de los mutantes *coi1*. Puesto que la mayor parte de los alelos de *jin1* identificados hasta el momento parecen ser pérdidas de función completas, el fenotipo más débil de estos mutantes sugiere una redundancia funcional con otros miembros de la familia MYC. De hecho, existen al menos tres proteínas MYC en el genoma de Arabidopsis que comparten con AtMYC2 un alto grado de similitud en su secuencia aminoacídica. Una mutación dominante en una de estas proteínas (*atr2D*; Smolen et al., 2002) provoca en la planta fenotipos relacionados con los de *jin1*, lo que apoya esta hipótesis de la redundancia funcional.

No todos los procesos regulados por COI1 están alterados en *jin1*. Por ejemplo, la fertilidad masculina, que es un carácter regulado por JA y defectivo en *coi1* (Feys et al., 1994; Turner et al., 2002), no está afectado en los alelos de *jin1*. AtMYC2, por tanto, solo regula un subconjunto de las respuestas a JA dependientes de COI1, lo que sugiere que AtMYC2 actúe por debajo de COI1 en la ruta de transducción de señal de JA.

Al igual que en el caso de COI1, la función de AtMYC2 está conservada en otras especies puesto que recientemente se han identificado ortólogos de esta proteína en solanáceas (Boter et al., 2004)

Además de los nuevos alelos de *jin1*, en el mismo escrutinio de modificadores de la sensibilidad a JA de mutantes insensibles a ET, se obtuvieron dos nuevos mutantes insensibles a JA, denominados *jai3* y *jai4* (Lorenzo et al., 2004). *jai3* es un mutante dominante cuya caracterización esta en curso (Lorenzo y Solano, sin publicar), mientras que *jai4* es una mutación recesiva en el gen *SGT1b* (ver más abajo; Lorenzo y Solano, en preparación).

El mutante *axr1* se identificó originalmente como insensible a auxinas y recientemente se ha mostrado que también es insensible a JA (Xu et al., 2002; Tiryaki y Staswick, 2002). AXR1 está implicado en la regulación de actividades SCF ubiquitin-ligasa relacionadas con la señalización de auxinas y de luz (Del Pozo y Estelle 1999; Feng et al., 2003), lo que también apoya la implicación de este tipo de enzimas en la señalización de JA.

La MAP quinasa MPK4 es necesaria para la inducción de los genes defensiva (*PDF1.2*) y tionina (*THI2.1*) por MeJA, y el mutante *mpk4* expresa constitutivamente genes de defensa (*PR*s) regulados por ácido salicílico (SA), lo que sugiere que MPK4 regula la interacción entre las rutas de activación de defensas mediadas por SA y JA (Petersen et al., 2000).

Entre los mutantes con una respuesta constitutiva o aumentada a JA están *cev1*, *cex1*, *cet1/9* y *joe1/2*. *cev1* (*constitutive expression of vsp1*; Ellis y Turner, 2001) y *cex1* (*constant expression of JA-inducible genes*; Xu et al., 2001), tienen un crecimiento reducido tanto de la raíz como de la parte aérea de la planta, similar al fenotipo de plantas WT crecidas en medios con JA. Además, ambos mutantes tienen una expresión constitutiva de varios genes regulados por JA. *cex1* parece actuar por debajo de *coi1* en la ruta de señalización de JA puesto que su fenotipo es epistático de éste (Xu et al., 2001). *cev1*, sin embargo, actúa por encima de *coi1*. De hecho, se ha demostrado que su fenotipo es debido a un incremento en la producción de JA y etileno que puede ser suprimido por mutaciones que afectan a estas rutas de señalización (*coi1* y *etr1*). *CEV1* se ha identificado por clonación posicional y codifica un a celulosa si ntasa, lo que indica la importancia de la pared celular en la señalización frente a estrés (Ellis et al., 2002).

Los mutantes *cet* representan al menos 5 loci diferentes identificados en un escrutinio basado en la expresión constitutiva del gen de resistencia al herbicida glifosato dirigida por el promotor de tionina (Hilpert et al., 2001). Mientras que algunos de estos mutantes muestran niveles elevados de JA, otros tienen niveles normales, lo que sugiere que deben poseer una sensibilidad aumentada a JA.

joe1 y *joe2* fueron aislados como mutantes con una expresión aumentada del reportador luciferasa cuya expresión estaba dirigida por el promotor de *LOX2* (regulado por JA; Jensen et al., 2002). Ambos deben actuar por encima de COI1 puesto que el fenotipo de éste es epistático del de los primeros, y se ha sugerido que *joe2* podría ser alélico de *cev1* (Jensen et al., 2002).

Recientemente, se ha descrito un nuevo mutante, *cos1* (*coi1suppressor1*), identificado a partir de un escrutinio de mutaciones supresoras del fenotipo de *coi1* (Xiao et al., 2004). *cos1* restaura la capacidad de mutantes *coi1* de responder a JA en diversos procesos regulados por esta hormona como son el crecimiento de la raíz, la senescencia y la defensa. La identificación de *cos1* como una lumazina sintasa, señala a la ruta de la riboflavina como un modulador de la señalización de JA.

Tabla I.- Fenotipo de mutantes descritos en la señalización de JA en *Arabidopsis thaliana*.

| Mutante | Identificación/Fenotipo | Referencia |
|--------------------------|--|--|
| Insensibles | | |
| <i>coi1</i> | Insensibilidad a coronatina en inhibición del crecimiento de raíz y acumulación de antocianinas. | Feys et al., 1994; Xie et al., 1998 |
| <i>jar1/jin4</i> | Insensibilidad a MeJA en inhibición del crecimiento de raíz. | Staswick et al., 1992; Berger et al., 1996 |
| <i>jin1</i> | Insensibilidad a JA en inhibición del crecimiento de raíz. | Berger et al., 1996; Lorenzo et al., 2004 |
| <i>jai3</i> | Insensibilidad a JA en inhibición del crecimiento de raíz en fondo <i>ein3</i> . | Lorenzo et al., 2004 |
| <i>jai4</i> | Insensibilidad a JA en inhibición del crecimiento de raíz en fondo <i>ein3</i> . | Lorenzo et al., 2004 |
| <i>mpk4</i> | Alteración en la expresión de genes de respuesta a JA y SA. | Petersen et al., 2000 |
| <i>axr1</i> | Insensibilidad a auxinas y JA en inhibición del crecimiento de raíz. | Xu et al., 2002; Tiryaki y Staswick, 2002 |
| <i>jue1, jue2 y jue3</i> | Expresión reducida de <i>pLOX2:LUC</i> | Jensen et al., 2002 |
| Constitutivos | | |
| <i>cet1/9</i> | Expresión constitutiva de <i>pTHI2.1:BAR</i> . | de Hilpert et al., 2001 |
| <i>cev1</i> | Expresión constitutiva de <i>pVSP1:LUC</i> . | de Ellis y Turner, 2001 |
| <i>cex1</i> | Expresión constitutiva de genes de respuesta a JA, e inhibición del crecimiento de raíz. | de Xu et al., 2001 |
| <i>joe1</i> | Expresión aumentada de <i>pLOX2:LUC</i> y acumulación de antocianinas. | de Jensen et al., 2002 |
| <i>joe2</i> | Expresión aumentada de <i>pLOX2:LUC</i> y disminución en la inhibición del crecimiento de raíz. | de Jensen et al., 2002 |
| Otros | | |
| <i>cos1</i> | Supresor de <i>coi1</i> . | Xiao et al., 2004 |

Además de los escrutinios de mutantes de pérdida (o reducción) de función, experimentos de ganancia de función también han contribuido a la elucidación de los componentes de la ruta de señalización de JA. Este tipo de experimentos ha permitido demostrar la implicación de dos factores transcripcionales de la familia ERF (ORCA3 y ERF1; van der Fits y Memelink, 2000; Lorenzo et al., 2003) en la activación de genes regulados por JA en *Cataranthus* y *Arabidopsis*, respectivamente.

INTERACCIONES DE LA SEÑALIZACIÓN DEL JA CON LA DE OTRAS HORMONAS.

Los jasmonatos, al igual que cualquier otra hormona, no participan de forma aislada en la activación de los procesos que regulan, sino que lo hacen interaccionando con otras moléculas señalizadoras. Se ha descrito un amplio número de interacciones entre los JAs y otras rutas de señalización hormonal como las de ET, SA, auxinas o ABA (Turner et al., 2002; Rojo et al., 2003), de las que a continuación describiremos algunos ejemplos:

Interacción con etileno (ET).

El JA y el ET cooperan o antagonizan en la regulación de diferentes respuestas a estrés, incluyendo la defensa frente a patógenos, heridas (mecánicas o bióticas), exposición a ozono y desarrollo exagerado de la curvatura apical (hook) del hipocotilo (Turner et al., 2002; Rojo et al., 2003). La selección de la respuesta más adecuada a cada uno de estos estímulos está determinada en parte por la interacción, positiva o negativa, que se establece entre estas dos rutas de señalización. En el caso de patógenos necrotrofos, por ejemplo, ambas hormonas (ET y JA) sinergizan en la activación de la expresión de genes de defensa (Xu et al., 1994; Penninckx et al., 1998), y los mutantes afectados en la síntesis o señalización de cualquiera de estas dos hormonas son incapaces de inducir estas respuestas de defensa y son más susceptibles al ataque de los patógenos (Knoester et al., 1998; Vijayan et al., 1998; Staswick et al., 1998; Thomma et al., 1998; 1999). Sin embargo, en respuesta a heridas provocadas por fitófagos o daño mecánico estas dos rutas de señalización antagonizan en la activación de defensas (Rojo et al., 1999; 2003). Aunque actualmente los mecanismos moleculares que subyacen a estas interacciones son poco conocidos, la identificación de nuevos componentes de estas rutas, como ERF1 y AtMYC2, está facilitando su comprensión.

ERF1 (Ethylene-Response-Factor1) es un elemento clave en la activación de los mecanismos de defensa de la planta frente a patógenos necrotrofos. Este factor transcripcional se describió inicialmente en *Arabidopsis* como un gen de respuesta inmediata a ET que participa en una cascada de activación transcripcional de genes inducibles por esta hormona (Solano et al., 1998). La expresión de ERF1 se induce tras la infección por patógenos necrotrofos (v.g. *Botrytis cinerea*) y regula "in vivo" la expresión de genes de defensa (v.g. *PDF1.2*, *b-CHI*). La expresión constitutiva de *ERF1* en plantas transgénicas es suficiente para activar la expresión de estos genes y confiere resistencia frente a diversos hongos necrotrofos, como *Botrytis cinerea* y *Plectosphaerella cucumerina* (Berrocal et al., 2002). Además de participar

en la señalización de ET, ERF1 es también un elemento clave en la respuesta a JA en *Arabidopsis*, y se ha demostrado que juega un papel importante en la integración de ambas señales para la activación de mecanismos de defensa (Figura 1; Lorenzo et al., 2003). Al igual que en el caso de *PDF1.2* (Penninckx et al., 1996; 1998), *ERF1* se induce por tratamiento con JA, y esta inducción depende de ET puesto que no ocurre en mutantes *ein2* (insensibles a ET). Asimismo, la inducción por ET de la expresión de *ERF1* depende de JA puesto que no ocurre en mutantes *coi1* (insensibles a JA). El hecho de que la inducción de la expresión de *ERF1* requiera la activación de las señales de ET y JA simultáneamente, explica desde un punto de vista molecular la cooperación de las dos señales en la activación de los genes de defensa (regulados por ERF1; Lorenzo et al., 2003).

En *Catharanthus roseus* se ha descrito un elemento de respuesta a JA y elicitores (JERE) y dos factores transcripcionales (ORCA2 y ORCA3) capaces de reconocerlo (Menke et al., 1999; van der Fits y Memelink, 2000). Tanto el JERE como ORCA2 y ORCA3 son muy similares al sitio de unión a DNA de ERF1 (caja GCC) y a ERF1, respectivamente. Esto sugiere que los genes ORCA podrían tener en *Catharanthus* un papel similar al de ERF1 en *Arabidopsis*.

AtMYC2, como se describía anteriormente, es un factor transcripcional de tipo bHLHzip localizado en el núcleo celular (Lorenzo et al., 2004). Análisis transcriptómicos de los mutantes *jin1*, han permitido comprobar que AtMYC2 es un regulador positivo de la expresión de un gran número de genes de respuesta a herida, y al mismo tiempo, reprime la expresión de genes de respuesta a patógenos. Este efecto es antagónico al de ERF1, que regula positivamente la expresión de genes de respuesta a patógenos y tiene un efecto negativo en la expresión de genes de respuesta a herida (Lorenzo et al., 2004; y datos sin publicar). Esto evidencia la existencia de dos ramas en la ruta de señalización de JA reguladas diferencialmente por AtMYC2 y ERF1, y que explican la interacción molecular entre las rutas de ET y JA en la activación de defensas (Figura 1). La alternativa de la planta para activar el tipo de respuesta adecuada a dos tipos distintos de estrés (patógeno y herida) depende sustancialmente de la relación que se establece entre estos dos reguladores transcripcionales.

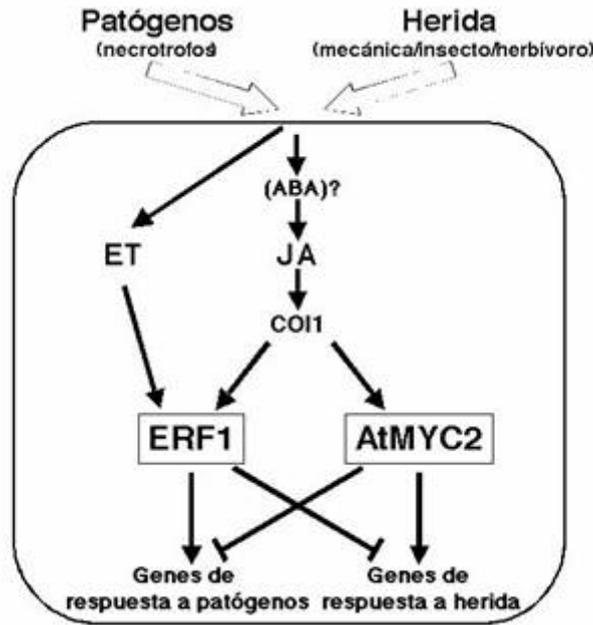


Figura 1.- Representación esquemática de la activación de respuestas a patógenos y herida en *Arabidopsis* dependientes de AtMYC2 y ERF1. Diferentes tipos de estrés, como la herida (mecánica o biótica) o la infección por patógenos necrotrofos, inducen la síntesis y posterior activación de las rutas de ET y JA. El JA por sí solo induce la expresión de AtMYC2 que es el responsable de la activación de genes de respuesta a herida y de la represión de genes de respuesta a patógenos. Por otra parte, la cooperación de las señalizaciones de ET y JA a través de la inducción transcripcional de ERF1 da lugar a la activación de genes de respuesta a patógenos y a la represión de genes de respuesta a herida (Lorenzo et al., 2003; 2004).

Interacción con ácido abscísico (ABA).

Un gran número de procesos fisiológicos y del desarrollo están influenciados por este "crosstalk". En particular, el JA inhibe la germinación en varias especies y tiene un efecto sinérgico con el ABA en este proceso en *Arabidopsis* (Wilens et al., 1991; Staswick et al., 1992; Ellis y Turner, 2002).

El estudio de las respuestas a herida en especies solanáceas ha revelado muchos de los mecanismos moleculares que participan en su señalización. Así, se ha observado la implicación del ABA, aunque su papel presenta algunas controversias. Se requiere percepción de ABA para la inducción por herida de los genes *PIN* (Carrera y Prat, 1998), pero puede no ser una señal primaria para la percepción del daño mecánico (Birkenmeier y Ryan, 1998).

AtMYC2 fue aislado inicialmente como un factor de respuesta a ABA (RD22BP1) que regula la expresión del gen *RD22* (Abe et al., 1997; 2003). El descubrimiento de que el mutante *jin1* está afectado en este gen (AtMYC2) abre nuevas vías en el estudio de esta interacción. Ambas hormonas, ABA y JA, inducen la expresión de AtMYC2 (Lorenzo et al., 2004) y ésta inducción depende de COI1 en ambos casos, lo que indica que la activación de AtMYC2 por ABA ha de estar mediada por la señalización de JA, como ya se ha descrito en las respuestas a herida, donde el ABA

induce tanto la síntesis como la señalización de JA (Hildmann et al., 1992; Peña-Cortes et al., 1995; León et al., 2001).

También se han descrito interacciones negativas entre las señalizaciones de ABA y JA, como ejemplifican la hipersensibilidad de los mutantes *coi1-16* y *jar1* a la germinación en presencia de bajas concentraciones de ABA (Staswick et al., 1992; Ellis y Turner, 2002).

Interacción con ácido salicílico (SA).

Entre las interacciones descritas para las rutas de señalización de SA y JA/ET en la inducción de las respuestas de defensa tras la infección por un patógeno, se encuentran ejemplos tanto de antagonismo como de cooperación. Las plantas han desarrollado diversos mecanismos de regulación para ajustar de una forma más precisa las respuestas a diferentes tipos de patógenos. Entre las interacciones antagonistas que se han descrito se ha mostrado que el SA inhibe la síntesis y activación de genes de respuesta a JA en la respuesta a herida en tomate y patata (Doares et al., 1995; Harms et al., 1998; Niki et al., 1998; O'donnell et al., 1996). De una forma opuesta, el tratamiento con JA inhibe la expresión mediada por SA de algunos genes PR (Niki et al., 1998). Además, mutantes que se encuentran afectados tanto en la acumulación como en la respuesta a SA muestran una expresión elevada de genes regulados por ET/JA, que en ocasiones ha sido revertida por la adición de un inductor de la señalización de SA como es el ácido isonicotínico. En el contexto de la muerte celular inducida por ozono, el SA actúa a nivel de la muerte celular dependiente de superóxido que es mitigada por la acción de JA. Estos ejemplos de interacciones antagonistas a nivel molecular también deben operar *in vivo* en la resistencia a un patógeno en particular, como se resalta en la reducida tolerancia a *Pseudomonas syringae* de las plantas transgénicas que sobre-expresan ERF1, indicando que la sobre-activación de la señalización de ET/JA mediada por ERF1 puede tener un efecto negativo en la tolerancia a *P. syringae* (dependiente de SA; Berrocal et al., 2002).

Por otro lado, también existen ejemplos de cooperación en la expresión de genes de defensa entre las rutas dependientes de SA y de ET/JA, como lo demuestra la implicación de ambas rutas en la resistencia de *Arabidopsis* a *P. cucumerina* (Berrocal et al., 2002), *P. syringae* y *Peronospora parasitica* (Clarke et al., 2000). Asimismo, el análisis transcriptómico de plantas infectadas con *Alternaria brassicicola* o tratadas con SA, JA o ET ha puesto de manifiesto que el efecto de estas fitohormonas mas bien solapa que antagoniza en la activación de defensas frente a *A. brassicicola* (Schenk et al., 2000).

Aunque existen numerosos ejemplos sobre interacciones entre SA y JA en la señalización de los mecanismos de defensa, aún faltan por elucidar los componentes implicados y la forma en que estas interacciones se llevan a cabo. En este sentido, se ha identificado en tabaco la proteína kinasa WIPK (Seo et al., 1995), cuya expresión se requiere para la biosíntesis de JA inducida por herida. Mediante plantas transgénicas que suprimen su expresión y tras un tratamiento de herida, estas plantas acumulan SA y transcritos del gen *PR1*, indicando que la supresión en la señalización de JA permite la inducción por herida de la ruta de SA. También,

la sobre-expresión de WIPK produce la acumulación de JA y del gen *PIN2* (Seo et al., 1999).

Del mismo modo, se ha demostrado en *Arabidopsis* que el factor de transcripción específico de plantas, WRKY70, puede explicar a nivel molecular el antagonismo entre las rutas de señalización de defensas mediadas por SA y JA (Li et al., 2004). Su expresión es activada por SA de una forma independiente de NPR1 y reprimida por JA. La sobre-expresión constitutiva de este factor aumenta la resistencia a patógenos virulentos y provoca a su vez la expresión constitutiva de genes relacionados con la patogénesis inducida por SA. Por otro lado, la supresión por antisentido de WRKY70 activa los genes de respuesta a JA dependientes de COI1. Todos estos datos sugieren el papel de WRKY70 como activador de los genes inducidos por SA y represor de los genes de respuesta a JA, integrando las señales de ambas rutas antagonistas.

Finalmente, la MAP kinasa MPK4 representaría el ejemplo contrario a WRKY70. MPK4 es necesaria para la expresión génica en respuesta a JA (Petersen et al., 2000). En el mutante *mpk4* las dos rutas mayoritarias de defensa en plantas se ven afectadas de una forma opuesta: las defensas dependientes de SA están constitutivamente activadas debido a los niveles elevados de SA que presenta, así como la resistencia sistémica adquirida (SAR) y el gen de defensa *PR1*, mientras que la inducción de genes de defensa dependientes de JA está bloqueada. Estos resultados indican que la cascada de MPK4 puede suprimir simultáneamente la biosíntesis de SA y promover la percepción/respuesta a JA necesaria para inducir genes como *PDF1.2* y *THI2.1*.

Interacciones mediadas por el proteosoma: Auxinas, patógenos y luz.

La degradación de proteínas es un importante mecanismo de regulación en los procesos celulares. El equilibrio entre la síntesis y la degradación de un enzima, es decir el "turnover" proteico, juega un importante papel en el desarrollo.

La existencia de sistemas o estructuras específicas para que este proceso tenga lugar, demuestran que la degradación de proteínas constituye una función tan importante en la célula como lo es su síntesis. Además de los orgánulos especializados en la degradación de proteínas, como son los lisosomas o las vacuolas en plantas, existe el proteosoma 26S implicado en la degradación de proteínas específicas dentro de la célula (Rechsteiner et al., 1993). En las células vegetales, que en general poseen tasas de división menores que otros organismos eucarióticos, la degradación controlada de proteínas por el proteosoma 26S juega un importante papel en la regulación de la actividad génica. En una célula eucariótica se calcula que más del 90% de las proteínas de vida corta son degradadas por este sistema (Lam, 1997).

El proteosoma 26S puede definirse como un complejo enzimático que degrada proteínas ubiquitinadas en un proceso dependiente de ATP. El complejo se divide en dos partículas, el proteosoma 20S que contiene los lugares activos de proteólisis y la partícula reguladora 19S compuesta de varias subunidades designada como RPT (regulatory particle triple A-ATPase) (Finley et al., 1998). La degradación de los

sustratos específicos está precedida por un mecanismo de ubiquitinación que tiene lugar por la formación de un enlace covalente, dependiente de ATP, entre la proteína y un péptido muy conservado de 76 aminoácidos llamado ubiquitina. Este proceso requiere la actividad de la enzima activadora de ubiquitina E1, de la enzima conjugadora de ubiquitina E2 y finalmente una ubiquitin-ligasa E3. La ligasa E3 del tipo SCF forma a su vez el denominado complejo SCF, junto con las proteínas culina y RBX1, que puede asociarse con distintas combinaciones de proteínas SKP1 y F-box que funcionan como receptores de los sustratos a degradar (Figura 2). En Arabidopsis existen mas de 700 proteínas F-box distintas (Risseeuw et al., 2003), muchas más que en otros organismos complejos similares de diferentes reinos, lo que pone de manifiesto la importancia que juega la regulación de la degradación de proteínas en la señalización de plantas.

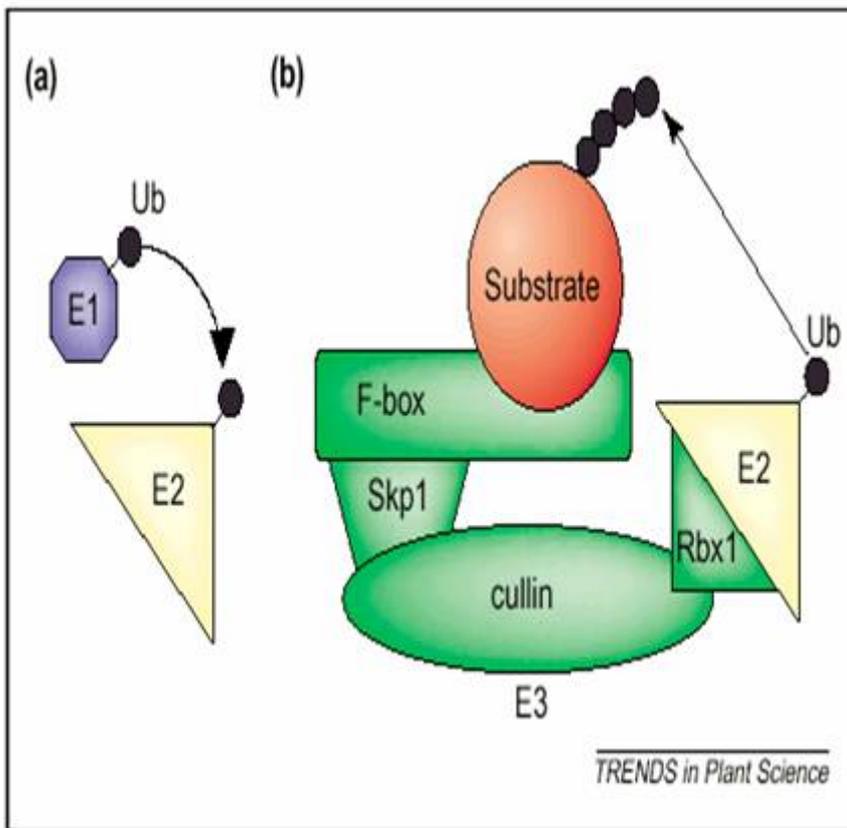


Figura 2.- Pasos fundamentales en la ruta de ubiquitinación de proteínas sustrato dependiente de ligasas E3 de tipo SCF para su degradación por el proteosoma 26S. (a) La ubiquitina (Ub) se une por un enlace tioéster a la enzima activadora de ubiquitina (E1). Después es transferida a un residuo de cisteína de la enzima conjugadora de ubiquitina (E2). (b) La ubiquitin-ligasa E3 de tipo SCF (Skp1, culina, F-box y Rbx1) cataliza la transferencia de ubiquitina desde E2 hasta un residuo de lisina en la proteína sustrato. Finalmente, la formación de cadenas de poliubiquitina en la proteína sustrato la dirigen a su degradación por el proteosoma 26S.

Interacción con auxinas.

Algunos mutantes afectados en la señalización de auxinas, como *axr1* (*auxin resistant1*), también tienen alterada la respuesta a JA. De hecho, el alelo *axr1-24* se identificó en un escrutinio de mutantes alterados en la respuesta de inhibición del crecimiento de la raíz por JA (Xu et al., 2002; Tiryaki y Staswick, 2002). AXR1 es un regulador positivo de las respuestas a auxinas que modula la actividad del complejo SCF TIR1 a través de la modificación de culina (Schwechheimer et al., 2002). Puesto que esta proteína, culina, es un componente general de todos los complejos SCF, se supone que en este caso el efecto pleiotrópico de esta mutación se debe a que AXR1 también actúe sobre complejos SCF COI1.

De una forma similar, en nuestro laboratorio hemos identificado la mutación *jai4* (*jasmonic acid insensitive4*) en un escrutinio de mutantes modificadores de la sensibilidad a JA de mutantes *ein3*. El gen *JAI4* codifica la proteína SGT1b (Lorenzo y Solano, en preparación). En levaduras, un homólogo de SGT1b interacciona con componentes de complejos SCF, por lo que se ha sugerido que tenga un papel en la regulación de la degradación de proteínas por el proteosoma (Kitagawa et al., 1999). SGT1b también se ha descrito como un regulador esencial de la respuesta a patógenos biotrofos, lo que ha implicado al proteosoma en la regulación de esta respuesta (Austin et al., 2002; Azevedo et al., 2002). Hemos comprobado que además de ser esencial para la respuesta a JA también lo es para la resistencia a patógenos necrotrofos y para la respuesta a auxinas, que son procesos regulados por ubiquitinación (Lorenzo y Solano, en preparación; Gray et al., 2003). SGT1b, por tanto, explica el "crosstalk" entre estas rutas de señalización mencionadas puesto que participa en un proceso de regulación común a todas ellas: la degradación de proteínas por ubiquitinación.

Interacción con la luz.

Uno de los procesos mejor estudiados donde la degradación de proteínas específicas por el proteosoma juega un papel fundamental en el desarrollo son las respuestas fotomorfogénicas. La implicación de los complejos SCF y el signalosoma COP9 (CSN) en este proceso se ha llevado a cabo mediante estudios genéticos y moleculares donde se ha observado que el CSN junto con COP1 (ubiquitin-ligasa E3) y COP10 (E2) controlan la fotomorfogénesis a través de la degradación dependiente de la luz de los factores de transcripción HY5 y HYH (Kwok et al., 1996; Holm et al., 2002).

Además de COP1, el signalosoma interacciona con ligasas E3 del tipo SCF como SCF TIR1 y SCF COI1 que median las respuestas a auxinas y ácido jasmónico, respectivamente (Schwechheimer et al., 2002). Plantas transgénicas con una función reducida de dicho complejo son menos sensibles que el WT a JA en la inhibición del crecimiento radicular y en la inducción de la expresión de genes de respuesta a JA, como *VSP*, lo que sugiere la participación del signalosoma en la regulación de la señalización de JA (Feng et al., 2003).

BIBLIOGRAFÍA.

Abe, H., Urao, T., Ito, T., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *Plant Cell* . 2003, 15, 63-78.

Abe, H., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, T., Iwasaki, T., Hosokawa, D., and Shinozaki, K. Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell*. 1997, 9, 1859-1868.

Austin, M.J. Muskett, P., Kahn, K., Feys, B.J., Jones, J.D.G., Parker, J.E. Regulatory role of SGT1 in early R gene-mediated plant defenses. *Science* . 2002, 295, 2077-2080.

Azevedo, C. Sadanandom, A., Kitagawa, K., Freialdenhoven, A., Shirasu, K., Schulze-Lefert, P. The RAR1 interactor SGT1, an essential component of R gene-triggered disease resistance. *Science* . 2002, 295, 2073-2076.

Berger, S. Jasmonate-related mutants of Arabidopsis as tools for studying stress signaling. *Planta*. 2002, 214, 497-504.

Berger, S., Bell, E., Mullet, J.E. Two Methyl Jasmonate-Insensitive Mutants Show Altered Expression of *AtVsp* in Response to Methyl Jasmonate and Wounding. *Plant Physiol*. 1996, 111, 525-531.

Berrocal-Lobo, M., Molina, A., Solano, R. Constitutive expression of *ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1* in Arabidopsis confers resistance to several necrotrophic fungi. *Plant J*. 2002, 29, 23-32.

Birkenmeier, G.F., Ryan, C.A. Wound signaling in tomato plants. Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation. *Plant Physiol*. 1998, 117, 687-693.

Boter M., Ruiz-Rivero, O., Abdeen, A., Prat, S. Tomato and Arabidopsis conserved MYC transcription factors play a key role in JA signaling. *Genes and Development* . 2004, en prensa.

Carrera, E., Prat, S. Expression of the Arabidopsis *abi1-1* mutant allele inhibits proteinase inhibitor wound-induction in tomato. *Plant J* . 1998, 15, 765-771.

Clarke, J.D., Volko, S.M., Ledford, H., Ausubel, F.M., Dong, X. Roles of salicylic acid, jasmonic acid and ethylene in *cpr* -induced resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* . 2000, 12, 2175-2190.

Creelman, R.A., Mullet, J.E. Oligosaccharins, brassinolides, jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* . 1997, 9, 1211-1223.

del Pozo, J.C., Estelle, M. The Arabidopsis cullin AtCUL1 is modified by the ubiquitin-related protein RUB1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999, 96, 15342-15347.

Devoto, A., Nieto-Rostro, M., Xie, D., Ellis, C., Harmston, R., Patrick, E., Davis, J., Sherratt, L., Coleman, M., Turner, J.G. COI1 links jasmonate signalling and fertility to the SCF ubiquitin-ligase complex in Arabidopsis. *Plant J* . 2002, 32, 457-466.

Doares, S.H., Narvaez-Vasquez, J., Conconi, A., Ryan, C.A. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid. *Plant Physiol*. 1995, 108, 1741-1746.

Ellis, C., Turner, J.G. The Arabidopsis mutant *cev1* has constitutively active jasmonate and ethylene signal pathways and enhanced resistance to pathogens. *Plant Cell* . 2001, 13, 1025-1033.

Ellis, C., Karafyllidis, I., Wasternack, C., Turner, J.G. The Arabidopsis mutant *cev1* links cell wall signaling to jasmonate and ethylene responses. *Plant Cell* . 2002, 14, 1557-1566.

Ellis, C., Turner, J.G. A conditionally fertile *coi1* allele indicates cross-talk between plant hormone signalling pathways in *Arabidopsis thaliana* seeds and young seedlings. *Planta*. 2002, 215, 549-556.

Farmer, E.E., Almeras, E., Krishnamurthy, V. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Curr. Opin. Plant Biol*. 2003, 6, 372-378.

- Feys, B., Benedetti, C.E., Penfold, C.N., Turner, J.G. Arabidopsis Mutants Selected for Resistance to the Phytotoxin Coronatine Are Male Sterile, Insensitive to Methyl Jasmonate, and Resistant to a Bacterial Pathogen. *Plant Cell*. 1994, 6, 751-759.
- Feng, S., Ma, L., Wang, X., Xie, D., Dinesh-Kumar, S.P., Wei, N., Deng, X.W. The COP9 signalosome interacts physically with SCF COI1 and modulates jasmonate responses. *Plant Cell*. 2003, 15, 1083-1094.
- Finley, D., Tanaka, K., Mann, C., et al. Unified nomenclature for subunits of the *Saccharomyces cerevisiae* proteasome regulatory particle. *Trends Biochem. Sci.* 1998, 23, 244-245.
- Gray, W.M., Muskett, P.R., Chuang, H-w., Parker, J.E. Arabidopsis SGT1b is required for SCF TIR1-mediated auxin response. *Plant Cell*. 2003, 15, 1310-1319.
- Harms, K., Ramirez, I.I., Peña-Cortes, H. Inhibition of wound-induced accumulation of allene oxide synthase transcripts in flax leaves by aspirin and salicylic acid. *Plant Physiol.* 1998, 118, 1057-1065.
- Hildmann, T., Ebner, M., Pena-Cortes, H., Sanchez-Serrano, J.J., Willmitzer, L., Prat, S. General roles of abscisic and jasmonic acids in gene activation as a result of mechanical wounding. *Plant Cell*. 1992, 4, 1157-1170.
- Hilpert, B., Bohlmann, H., op den Camp, R.O., Przybyla, D., Miersch, O., Buchala, A., Apel, K. Isolation and characterization of signal transduction mutants of *Arabidopsis thaliana* that constitutively activate the octadecanoid pathway and form necrotic microlesions. *Plant J.* 2001, 26, 435-446.
- Holm, M., Ma, L.G., Qu, L.J., Deng, X.W. Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light-dependent gene expression in Arabidopsis. *Genes Dev.* 2002, 16, 1247-1259.
- Jensen, A.B., Raventos, D., Mundy, J. Fusion genetic analysis of jasmonate-signalling mutants in Arabidopsis. *Plant J.* 2002, 29, 595-606.
- Kitagawa, K., Skowyra, D., Elledge, S.J., Harper, J.W., Hieter, P. SGT1 encodes an essential component of the yeast kinetochore assembly pathway and a novel subunit of the SCF ubiquitin ligase complex. *Mol. Cell.* 1999, 4, 21-33.
- Knoester, M., van Loon, L.C., van den Heuvel, J., Henning, J., Bol, J.F., Linthorst, H.J.M. Ethylene-insensitive tobacco lacks nonhost resistance against soil-borne fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998, 95, 1933-1937.
- Kwok, S.F., Piekos, B., Miséra, S., Deng, X.W. A complement of ten essential and pleiotropic Arabidopsis COP/DET/FUS genes is necessary for repression of photomorphogenesis in darkness. *Plant Physiol.* 1996, 110, 731-742.
- Lam, E. Nucleic acids and proteins. En *Plant Biochemistry*. Eds Dey PM, Harborne JB. Academic Press, San Diego. 1997. pp, 316-352.
- Leon, J., Rojo, E., Sanchez-Serrano, J.J. Wound signalling in plants. *J. Exp. Bot.* 2001, 52, 1-9.
- Li, L., Zhao, Y., McCaig, B.C., Wingerd, B.A., Wang, J., Whalon, M.E. Pichersky, E., Howe, G.A. The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. *Plant Cell*. 2003, 16, 126-143.
- Li, J., Brader, G., Palva, T. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. *Plant Cell*. 2004, 16, 319-331.
- Lorenzo, O., Chico, J.M., Sanchez-Serrano, J.J., Solano, R. JASMONATE-INSENSITIVE1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defence responses in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2004, en prensa.
- Lorenzo, O., Piqueras, R., Sanchez-Serrano, J.J., Solano, R. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *Plant Cell*. 2003, 15, 165-178.
- McConn, M., Creelman, R.A., Bell, E., Mullet, J.E., Browse, J. Jasmonate is essential for insect defense in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94, 5473-5477.

- Menke, F.L.H et al. A novel jasmonate- and elicitor-responsive element in the periwinkle secondary metabolite biosynthetic gene *Str* interacts with a jasmonate- and elicitor-inducible AP2-domain transcription factor ORCA2. *EMBO J.* 1999, 18, 4455-4463.
- Mueller, M.J. Enzymes involved in jasmonic acid biosynthesis. *Physiol. Plant.* 1997, 100, 653-663.
- Niki, T., Mitsuhashi, I., Seo, S., Ohtsubo, N., Ohashi Y. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 1998, 39, 500-507.
- O'Donnell, P.J., Calvert, C., Atzorn, R., Wasternack, C., Leyser, H.M.O., Bowles, D.J. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* . 1996, 274, 1914-1917.
- Overmyer, K., Tuominen, H., Kettunen, R., Betz, C., Langebartels, C., Sandermann, H., Jr., Kangasjarvi, J. Ozone-sensitive Arabidopsis *rcd1* mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating superoxide-dependent cell death. *Plant Cell* . 2000, 12, 1849-1862.
- Pena-Cortes, H., Fisahn, J., Willmitzer, L. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor II gene expression in tomato and potato plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995, 92, 4106-4113.
- Penninckx, I.A.M.A., Eggermont, K., Terras, F.R.G., Thomma, B.P.H.J., De Samblanx, G.W., Buchala, A., Metraux, J.-P., Manners, J.M., Broekaert, W.F. Pathogen-induced systemic activation of a plant defensin gene in Arabidopsis follows a salicylic acid-independent pathway. *Plant Cell.* 1996, 8, 2309-2323.
- Penninckx, I.A.M.A., Thomma, B.P.H.J., Buchala, A., Metraux, J.-P., Broekaert, W.F. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin. *Plant Cell.* 1998, 10, 2103-2113.
- Petersen, M., et al. Arabidopsis Map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell.* 2000, 103, 1111-1120.
- Pieterse, C.M., van Wees, S.C., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J., van Loon, L.C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Cell.* 1998, 10, 1571-1580.
- Rao, M.V., Lee, H.I., Davis, K.R. Ozone-induced ethylene production is dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in concert to regulate ozone-induced cell death. *Plant J.* 2002, 32, 447-456.
- Rechsteiner, M., Hoffman, L., Dubiel, W. The multicatalytic and 26S proteases. *J. Biol. Chem* . 1993, 268, 6065-6068.
- Reymond, P., Farmer, E.E. Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 1998, 1, 404-411.
- Risseuw, E.P., Daskalchuk, T.E., Banks, T.W., Liu, E., Cotelesage, J., Hellmann, H., Estelle, M., Somers, D.E., Crosby, W.L. Protein interaction analysis of SCF ubiquitin E3 ligase subunits from Arabidopsis. *Plant J.* 2003, 34, 753-767.
- Rojo, E., Leon, J., Sanchez-Serrano, J.J. Cross-talk between wound signalling pathways determines local versus systemic gene expression in *Arabidopsis thaliana* . *Plant J.* 1999, 20, 135-142.
- Rojo, E., Solano, R., Sanchez-Serrano, J.J. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation* . 2003, 22, 82-98.
- Schenk, P.M., Kazan, K., Wilson, I., Anderson, J.P., Richmond, T., Somerville, S.C. Manners, J.M. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* . 2000, 97, 11655-11660.
- Schwechheimer, C., Serino, G., Deng, X.W. Multiple ubiquitin ligase-mediated processes require COP9 signalosome and AXR1 function. *Plant Cell* . 2002, 14, 2553-2563.
- Seo, S., Okamoto, M., Seto, H., Ishizuka, K., Sano, H., Ohashi, Y. Tobacco MAP kinase: a possible mediator in wound signal transduction pathways. *Science* . 1995, 270, 1988-1992.

- Seo, S., Sano, H., Ohashi, Y. Jasmonate-based wound signal transduction requires activation of WIPK, a tobacco mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell*. 1999, 11, 289-298.
- Smolen, G.A., Pawlowski, L., Wilensky, S.E., Bender, J. Dominant alleles of the basic helix-loop-helix transcription factor ATR2 activate stress-responsive genes in Arabidopsis. *Genetics*. 2002, 161, 1235-1246.
- Solano, R., Stepanova, A., Chao, Q.M., Ecker, J.R. Nuclear events in ethylene signaling: A transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes Dev*. 1998, 12, 3703-3714.
- Staswick, P.E., Su, W., Howell, S.H. Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an Arabidopsis thaliana mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992, 89, 6837-6840.
- Staswick, P.E., Tiryaki, I., Rowe, M.L. Jasmonate response locus *JAR1* and several related Arabidopsis genes encode enzymes of the firefly luciferase superfamily that show activity on jasmonic, salicylic, and indole-3-acetic acids in an assay for adenylation. *Plant Cell*. 2002, 14, 1405-1415.
- Staswick, P.E., Yuen, G.Y., Lehman, C.C. Jasmonate signaling mutants of Arabidopsis are susceptible to the soil fungus *Pythium irregulare*. *Plant J*. 1998, 15, 747-754.
- Thomma, B.P.H.J., Eggermont, K., Penninckx, I.A.M.A., Mauch-Mani, B., Vogelsang, R., Cammue, B.P.A., Broekaert, W.F. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in Arabidopsis are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998, 95, 15107-15111.
- Thomma, B.P.H.J., Eggermont, K., Tierens, K.F.M.-J., Broekaert, W.F. Requirement of functional *Ethylene-Insensitive2* gene for efficient resistance of Arabidopsis to infection by *Botrytis cinerea*. *Plant Physiol*. 1999, 121, 1093-1101.
- Turner, J.G., Ellis, C., Devoto, A. The jasmonate signal pathway. *Plant Cell*. 2002, 14, S153-164.
- Tiryaki, I., Staswick, P.E. An Arabidopsis mutant defective in jasmonate response is allelic to the auxin-signaling mutant *axr1*. *Plant Physiol*. 2002, 130, 887-894.
- van der Fits, L., Memelink, J. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. *Science*. 2000, 289, 295-297.
- Vijayan, P., Shockey, J., Levesque, C.A., Cook, R.J., Browse, J. A role for jasmonate in pathogen defense of Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998, 95, 7209-7214.
- Wilen, R.W., vanRooijen, G.J., Pearce, D.W., Pharis, R.P., Holbrook, I.A., Moloney, M.M. Effects of jasmonic acid on embryo specific processes in *Brassica* and *Linum* oilseeds. *Plant Physiol*. 1991, 95, 399-405.
- Xiao, S., Dai, L., Liu, F., Wang, Z., Peng, W., Xie D. COS1: an Arabidopsis *coronatine insensitive1* suppressor essential for regulation of jasmonate-mediated plant defense and senescence. *Plant Cell*. 2004, en prensa.
- Xie, D.X., Feys, B.F., James, S., Nieto-Rostro, M., Turner, J.G. *COI1*: an Arabidopsis gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science*. 1998, 280, 1091-1094.
- Xu, Y., Chang, P.F., Liu, D., Narasimhan, M.L., Ragothama, K.G., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A. Plant defense genes are synergically induced by ethylene and methyl jasmonate. *Plant Cell*. 1994, 6, 1077-1085.
- Xu, L., Liu, F., Lechner, E., Genschik, P., Crosby, W.L., Ma, H., Peng, W., Huang, D., Xie, D. The SCF(COI1) ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2002, 14, 1919-1935.
- Xu, L., Liu, F., Wang, Z., Peng, W., Huang, R., Huang, D., Xie, D. An Arabidopsis mutant *cex1* exhibits constant accumulation of jasmonate-regulated *AtVSP*, *Thi2.1* and *PDF1.2*. *FEBS Lett*. 2001, 494, 161-164.