

Capítulo XIII

Interacción Planta Patógeno

Claudia Stange¹, E. Briceño², B.A. Latorre² y Patricio Arce-Johnson³

INTRODUCCIÓN

Respuesta de Defensa de Las Plantas Frente a Patógenos

Las plantas han sido explotadas como fuente de alimento y refugio por parte de un amplio rango de patógenos como virus, hongos (*Chromista* y *Fungi*), bacterias (*Eubacteria*), nemátodos (*Animalia*, *Nematoda*), insectos y animales. Frente a este medio ambiente adverso, las plantas han desarrollado mecanismos para reconocer y defenderse de estos agentes patogénicos presentes en la rizósfera y en órganos aéreos. Algunos de estos mecanismos actúan como una resistencia pasiva (Fig. 1) debido a que la planta no es un hospedero natural al patógeno. En estas condiciones la planta interpone barreras físicas y químicas que impiden la infección del patógeno. También puede deberse a la falta de proteínas y factores vegetales necesarios para su diseminación. En especial se ha observado la detención y arresto de patógenos como los virus en la etapa de replicación y movimiento a corta distancia (célula a célula).

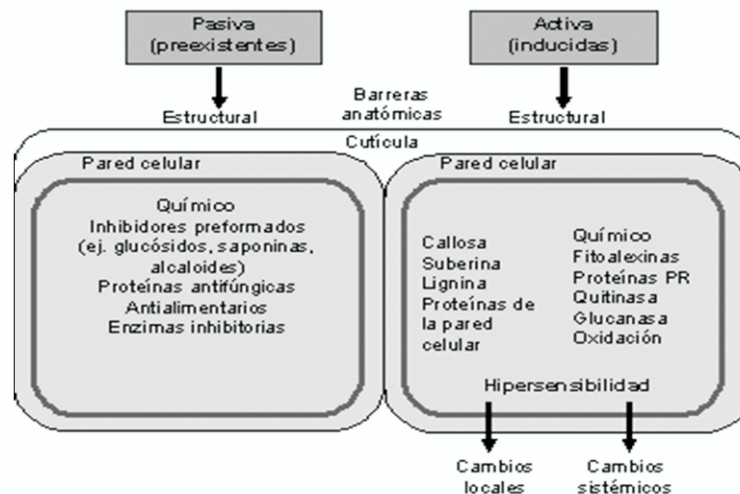


Fig. 1. Mecanismos de defensa pasivos y activos desarrolladas por las plantas en respuesta a estrés bióticos o abióticos (Adaptado de Lucas, 1998)

¹ Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. E-mail:

² Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. E-mail:

³ Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. E-mail: parce@bio.puc.cl

La resistencia activa por el contrario obedece a una respuesta de la planta frente al patógeno y está basada en el modelo de la teoría del gen por gen descrito por Flor en el año 1971 (Fig. 1). Este se define por la expresión de un gen de resistencia (R) en la planta, el cual puede unir directa o indirectamente al producto del gen de avirulencia (avr) del patógeno invasor. Por lo tanto, las proteínas R actúan como receptor y las proteínas activadoras AVR como ligando. Los genes avr son dominantes y codifican para una sola proteína. Así para el caso de los virus puede ser la proteína de la cápside o la replicasa. Las proteínas AVR de bacterias y hongos son por lo general proteasas cuya función es contribuir a la agresividad del patógeno. Si la planta no posee un gen R específico para cierto patógeno avirulento se produce una reacción compatible. En una interacción compatible, la planta no activa una eficiente respuesta de defensa, permitiendo la penetración, invasión y multiplicación del patógeno en sus tejidos, produciendo síntomas generalizados característicos de cada patógeno (ver ejemplo en Fig. 2a).

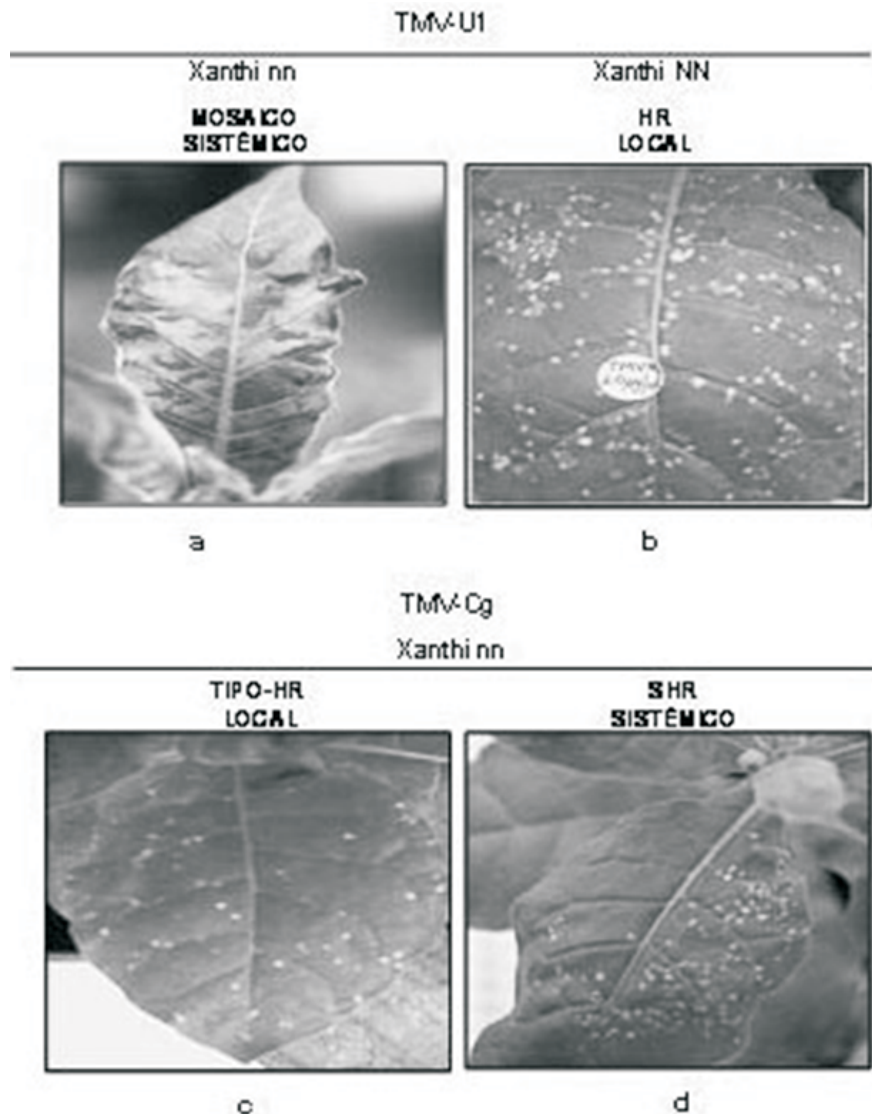


Fig. 2. Síntomas sistémicos y locales en plantas de tabaco infectadas con virus. Las plantas de tabaco Xanthi nn y NN fueron infectadas en una hoja basal con el virus TMV-U1. Los síntomas locales y sistémicos fueron evaluados a partir del tercer día. a, Tabacos Xanthi nn infectados con TMV-U1. Síntomas de tipo mosaico sistémico (clorosis y arrugamiento) se comienzan a apreciar a partir de los 10 días post infección (dpi). b, Tabacos Xanthi NN infectados con TMV-U1. Síntomas locales de hipersensibilidad (HR) se presentan a partir de los 2 dpi. c, Tabacos Xanthi nn infectados con TMV-Cg. Se presentan las lesiones locales que se desarrollan durante la respuesta tipo-HR a partir de los 3 dpi. d, Tabacos Xanthi nn infectados con TMV-Cg. Se muestran las lesiones sistémicas que se manifiestan en las hojas apicales en la respuesta SHR.

En la ruta de desarrollar mecanismos de resistencia efectivos contra los patógenos, las plantas han sido capaces de coevolucionar con los patógenos y generar nuevos receptores para los AVR. Es por ello que cuando una planta posee un gen R específico para cierto patógeno se produce una reacción incompatible. En una interacción incompatible, la planta activa los mecanismos de defensa efectivos, luego del reconocimiento del microorganismo, impidiendo su penetración, invasión o multiplicación, lo que se manifiesta como resistencia.

Respuesta de Hipersensibilidad

La formación del complejo Receptor-ligando inicia una cascada de señales de transducción, las que finalmente desencadenan la respuesta de Hipersensibilidad (HR). La respuesta HR (Fig. 2b) es una reacción local y se caracteriza por la aparición de lesiones necróticas en el sitio de infección. Como consecuencia de la respuesta HR se detiene la invasión del patógeno en las células inicialmente infectadas, evitando la diseminación del patógeno por toda la planta. La reacción HR se desencadena debido a ciertos eventos moleculares que permiten la restricción del movimiento del patógeno. El primer evento celular que se ha detectado es el flujo de iones a través de la membrana plasmática que produce intermediarios reactivos de oxígeno (EROS) como son el radical superóxido (O_2^-), oxidrilo (OH^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El primer estallido oxidativo (ROS I) es inespecífico y se observa entre los minutos y las primeras horas después de la infección del virus. La etapa II de EROS se correlaciona directamente con la respuesta de defensa y se produce entre las 2 horas y 2-6 días post infección dependiendo del patógeno. Además, se ha observado que aumentan los niveles de ácido salicílico (AS), hormona vegetal involucrada en la respuesta de defensa de plantas. También, se produce la síntesis y entrecruzamiento de proteínas de pared, lignificación de la pared celular y depósito de callosa en torno a la lesión. En respuesta al ataque de hongos y otros fitopatógenos, algunas las plantas contrarrestan la penetración e invasión de estos patógenos, con algunos compuestos o minerales como glicoproteínas, compuestos fenólicos, lignina, suberina, sílice y calcio. Por ejemplo, la acumulación de ácidos clorogénico, caféico y ferúlico son ejemplos de compuestos fenólicos acumulados en respuesta algunas plantas, como sustancias de defensa contra infecciones fúngicas. Junto a ello se sintetizan compuestos antimicrobianos derivados de la ruta fenilpropanoide como fitoalexinas y proteínas relacionadas con patogénesis (PR). Las proteínas PR constituyen un grupo heterogéneo de proteínas, constitutivas o inducidas, muy estables a pH bajos, relativamente resistentes a la acción de proteasas, generalmente entre 8-100 kDa, tóxicas para los patógenos, las que se acumulan predominantemente en los espacios extracelulares. Se inducen diferencialmente dependiendo de la especie vegetal y del tipo de infección que ha sufrido la planta. La presencia de proteínas PR es fácilmente demostrable al comparar por electroforesis, extractos de plantas sanas y de plantas expuestas a la acción de patógenos. Se concentran en el lugar de infección, pero también se encuentran en tejidos sin inocular, y mantienen su actividad desde unos días a algunas semanas

Entre las PR se encuentran PR1 y PR5 que tienen actividad antifúngica y anti-oomycete, PR2 que tiene actividad -1,3 glucanasa, PR3 y PR8 de actividad quitinasa y PR10 de actividad nucleasa. No obstante, dado que β -glucan y quitina, son los principales constituyentes de la pared celular de hongos, la acción de quitinasas y β -1,3-glucanasas se asocia con actividad antifúngica. Estas son proteínas hidrolíticas que en forma sinérgica degradan la pared celular de los hongos y su presencia se correlaciona con la resistencia de la plantas a algunas micosis.

Genes de defensa como GST (glutación S-transferasa), SOD (superóxido dismutasa) y PAL (fenilalanina amonio-liasa) se inducen rápidamente en la planta luego de la infección de un patógeno. Las enzimas GST y SOD cumplen un rol fundamental en la detoxificación de moléculas EROS en la célula infectada. La enzima PAL es requerida para la síntesis de AS, el que aumenta casi 10 veces a las 24 horas post infección en la hoja inoculada y posteriormente en las regiones distales de la planta. Se ha descrito que la acumulación de AS en los tejidos distantes es inducida por señales sistémicas que se generan desde el sitio inicial de infección. El aumento en los niveles endógenos de AS es necesario para la activación transcripcional de los genes que codifican para

proteínas PR ácidas (2 a 6 días post infección). Esta respuesta de defensa se conoce como resistencia sistémica adquirida (SAR), en la cual la acumulación de AS y proteínas PR en los tejidos distantes al sitio de infección, permiten a la planta defenderse con mayor intensidad y velocidad frente a una segunda infección de un patógeno.

Respuesta sistémica adquirida

La respuesta SAR es un mecanismo de resistencia que permanece por algunas semanas en la planta y permite el reconocimiento de un amplio rango de patógenos incluyendo hongos, pseudohongos (*Chromista*), bacterias y virus. Generalmente se expresa como una disminución de la severidad (ej. número y tamaño de las lesiones producidas) de las enfermedades que estos patógenos producen en monocotiledóneas y dicotiledóneas. Aparentemente, SAR es inducida únicamente antes de la floración o de la cuaja, en respuesta a una reacción de hipersensibilidad. La inducción de SAR ocurre por la acción de una señal inespecífica, transportada sistémicamente cuya exacta naturaleza molecular se desconoce. No obstante, numerosos trabajos han demostrado la acumulación de ácido salicílico (AS), en el floema, en respuesta a una infección primaria, y se por lo tanto se asocia este compuesto con la señal necesaria para activar una serie de procesos bioquímicos propios de la SAR, los que incluyen la síntesis de proteínas regulatorias (NPR1), activación de una batería de genes PR y a la acumulación de diversas proteínas PR, algunas de las cuales presentan actividad antifúngica y antimicrobiana en general. A pesar que la concentración de AS se correlaciona con la inducción de proteínas PR, es posible aun que la naturaleza química de esta señal en algunas plantas sea diferente.

El AS puede inhibir la acción de enzimas oxidativas (catalasas) y de este modo provocar un incremento de H_2O_2 y otras especies reactivas de oxígeno. Tanto la inhibición de catalasas como el aumento de especies reactivas de oxígeno inducen la expresión de genes de defensa asociados con SAR. Por esto, se ha postulado que la acción de AS en SAR podría estar mediada por concentraciones elevadas H_2O_2 , y estrés oxidativo, lo que posiblemente ocurriría en un grupo reducido de células en directo contacto con el patógeno u otro agente inductor, provocando una reacción de hipersensibilidad microscópica.

Una nueva dirección en el control de enfermedades de los cultivos, es el uso de productos potenciales inductores exógenos de SAR en plantas. Entre otros los ácidos beta amino butírico (BABA), 2,6-dicloroisonicotínico (INA) y AS, acibenzolar-S-metil, probenazole, y posiblemente algunos fungicidas inducen SAR en plantas exógenamente tratadas con estos compuestos. El *ácido beta amino butírico (BABA)* es un aminoácido no proteínico, favorece la capacidad de defensa de las plantas contra factores bióticos (ej. Hongos o virus) y abióticos (ej. salinidad), al parecer sensibilizándolas de modo que éstas expresan en mejor forma los mecanismos básicos de defensa. El *Acido 2,6-dicloroisonicotínico (INA)* induce SAR contra un amplio espectro de patógenos en especies monocotiledóneas y dicotiledóneas, sin estar necesariamente relacionado en forma directa con la acumulación de AS. Es relativamente fitotóxico en algunas especies lo que limita su eventual uso comercial. El *Acido salicílico (AS)* por su parte, es capaz de inducir SAR en las plantas al aplicarlo exógenamente. Sin embargo, la movilidad del AS aplicado de este modo es escasa y en numerosas plantas es fitotóxico. *Benzotiadiazoles (BT)* como el acibenzolar-S-metil, análogo sintético de AS, es capaz de inducir la síntesis de proteínas PR (ej. quitinasa) y SAR en numerosas especies cultivadas, sin que éstas hubieran sido previamente infectadas. De este modo se obtiene protección contra eventuales ataques de hongos y otros fitopatógenos. Las plantas lo absorben rápidamente por tejidos verdes y lo movilizan en forma acropétala y basipétala, desarrollando protección sistémica contra hongos, pseudohongos (*Chromista*), bacterias y virus fitopatógenos, tanto en plantas anuales como perennes. Se puede usar sin riesgo de fototoxicidad en diversos cultivos, por lo que su uso comercial con estos objetivos es muy promisorio. El Probenazole (PBZ) es un *Benzisothiazole (BIZ)*, que induce la formación especies reactivas de oxígeno, acumulación de AS y de factores antimicrobianos. Es un compuesto usado en el control de *Magnaporthe grisea* y otros patógenos del arroz. También se han utilizado *Fungicida* sistémicos para el tratamiento de

enfermedades producidas por hongos y pseudohongos como el fosetil aluminio el que se descompone internamente en la planta en los compuestos biológicamente activos: mono y bifosfito de potasio. Al mismo tiempo, activa algunos mecanismos SAR, debido a la inducción de fitoalexinas. Por ejemplo, la presencia de fosfitos controla *Phytophthora citrophthora* en cítricos pero al mismo tiempo induce la síntesis y acumulación de escoparona, fitolaxina capaz de limitar la acción de este pseudohongo fitopatógeno.

Resistencia sistémica inducida.

La resistencia sistémica inducida (SIR) es otro tipo de defensa inducida que ocurre en las plantas activada por la acción de rizobacterias saprofitas (ej. *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*) que colonizan la rizósfera, pudiendo ejercer una acción biocontroladora. Estas bacterias localizadas en la superficie de raíces inducen resistencia sistémica en hojas y tallos, protegiendo especies dicotiledóneas contra varios hongos, bacterias y otros microorganismos fitopatógenos. La SIR es independiente de la acumulación de AS y de la expresión de genes de proteínas PR, pero depende la vía del ácido jasmónico (AJ) y del etileno. Posiblemente, las plantas se sensibilizan a la acción del AJ y etileno sin que necesariamente aumente la concertación de estos compuestos durante la SIR. En *Arabidopsis* se ha determinado que está asociado con la inducción foliar de defensinas, péptidos ricos en cisteína con acción antifúngica.

Resistencia extrema y HR sin mediar resistencia a patógenos.

Recientemente se ha descrito que se puede producir resistencia de plantas frente a patógenos sin presentar síntomas de HR, salvo lesiones microscópicas. Este tipo de resistencia ha sido llamada resistencia extrema (ER) o inmunidad. Se han reportado casos de RE en distintas especies vegetales frente a virus como es el caso del receptor *Tm-1* frente a TMV en tomate, el gen R frente a CPMV en poroto, *Sw5* en tomate, *Rsv1* en soya, *Ry* para *Potato virus Y* (PVY), *Nx* y *Rx* para *Potato virus X* (PVX) en *Solanum tuberosum*. En este caso el gen Rx de papa induce resistencia a virus PVX sin necesariamente gatillar HR. Esta misma respuesta se ha observado para Cf9 frente a *C. fulvum* en tomate.

Así mismo, se ha reportado el desarrollo de HR sin mediar resistencia al patógeno. En las mutantes *ndr-1* y *dnd* de *Arabidopsis*, se produce HR a pesar de que la planta es susceptible a *Pseudomonas syringae*. Plantas de tabaco Xanthi nn sensibles a TMV-U1, producen HR frente a otra cepa de tobamovirus (TMV-Cg), pero sin restringir el movimiento sistémico del virus. A la respuesta local generada por TMV-Cg en tabacos Xanthi nn, se ha denominado tipo-HR debido a la similitud respecto a la respuesta HR (Fig. 2c). Sin embargo, el virus no es retenido en el sitio inicial de infección, el cual al diseminarse por toda la planta induce lesiones necróticas en forma de anillos y líneas en hojas apicales y medias a los 12 dpi (Fig. 2d). Esta necrosis sistémica observada en hojas superiores se ha llamado "SHR" (Systemic HR). En las lesiones locales de la respuesta tipo-HR y en las lesiones sistémicas se observa depósito de callosa, muerte celular y producción de peróxido de hidrógeno al igual que en una HR. Ambos síntomas no han sido reportados previamente para una reacción compatible entre un tabaco sensible y un tobamovirus y han permitido postular la presencia de un receptor en plantas de tabaco Xanthi nn capaz de reconocer deficitariamente al activador de TMV-Cg.

En este sentido se ha sugerido que la resistencia extrema (RE) o resistencia independiente de HR, se produce cuando existe alta afinidad entre el receptor y el activador (AVR), o cuando el activador se produce tempranamente durante la infección. Por ello, la resistencia asociada a HR sería una respuesta de afinidad intermedia entre el receptor y su activador, o bien, una respuesta a la tardía aparición del activador durante el proceso infectivo. Más aún, si se produce HR sin mediar resistencia, sería en el caso que exista baja afinidad entre el receptor y el activador. Un ejemplo de este fenómeno sería el observado en plantas de tabaco Xanthi nn al ser infectadas con TMV-Cg.

Tabla 1. Clasificación de genes de resistencia en plantas. Actualizado de Buchanan, 2000

Clase	gen R	planta	patógeno	tipo patógeno	avr	estructura	Localización celular	Referencia
a	RPS2	Arabidopsis	<i>Pseudomona syringae</i>	bacteria	avrRpt2	LZ-NBS-LRR	citoplasma	Bent y cols., 1994, Mindrinos y cols., 1994
	RPS5		p.v. tomato		avrPphB	LZ-NBS-LRR	citoplasma	Warren y cols., 1995
	RPM1	Arabidopsis	<i>P. syringae</i> p.v. maculicola	bacteria	avrRpm1 avrB	LZ-NBS-LRR	citoplasma	Bent y cols., 1994, Grant y cols., 1994
	Rx	papa	Potato virus X	virus	Proteína	LZ.NBS-LRR	citoplasma	Bendahmane y cols., 1997
	Gpa2	papa	<i>Globodera pallida</i>	nemátodo	¿?	LZ-NBS-LRR	citoplasma	Roupe v d Voort y cols., 1997
	RPP8	tomate	<i>Peronospora parasítica</i>	hongo	avrRPP8	LZ-NBS-LRR	citoplasma	McDowell y cols., 1998
1b	N	tabaco	TMV	virus	replicasa	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Whitham y cols., 1994
	L6, L2, L8, L10	lino	<i>Melampsora lini</i>	hongo	AL6	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Lawrence y cols., 1995
	M	lino	<i>M. lini</i>	hongo	AM	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Anderson y cols., 1997
	RPP5	Arabidopsis	<i>Peronospora parasítica</i>	hongo	avrRPP5	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Parker y cols., 1997
	RPP1	Arabidopsis			avrRPP1	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Gassmann y cols., 1999
	RPS4	Arabidopsis	<i>Pseudomona syringae</i> p.v. tomato	bacteria	avrRps4	TIR-NBS-LRR	citoplasma	
	Bs4	tomate	<i>Xanthomonas campestris</i>	bacteria	AvrBs4	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Ballvora y cols., 2001a
	Bs3	pimiento	<i>Xanthomonas campestris</i>	bacteria	AvrBs3	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Ballvora y cols., 2001b
	RY-1	papa	PVY	virus	¿?	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Vidal y cols., 2002
	NL-25, NL-27	papa	<i>Synchytrium endobioticum</i>	hongo	¿?	TIR-NBS-LRR	citoplasma	Hehl y cols., 1999
	Mi	tomate	<i>Meloidogyne incognita</i>	nemátodo y áfido	¿?	NBS-LRR	citoplasma	Dickinson y cols., 1993
	Prf	tomate	<i>P. syringae</i> pv. tomato	bacteria	avrPto	NBS-LRR	citoplasma	Martin y cols., 1993
	Pto	tomate				proteína quinasa	citoplasma	
2	Cf-9	tomate	<i>Cladosporium fulvum</i>	hongo	avr9	eLRR-TM	transmemb.	Jones y cols., 1994
	Cf-4				avr4			Thomas y cols., 1997
	Cf-2				avr2			Dixon y cols., 1996
	Cf-5				avr5			Jones y cols., 1993
3	Xa21	arroz	<i>X. oryzae</i> pv <i>oryzae</i>	bacteria	¿?	LRR, proteína quinasa	transmemb.	Song y cols., 1995
4	Hm1	maíz	<i>Cochliobolus carbonum</i> , race1	hongo	--	toxina reductasa	citoplasma	Johal y Briggs, 1992
5	Mlo	cebada	<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>hordei</i>	hongo	¿?	R asociado a proteína G	transmemb	Devoto y cols., 1999
6	Hs1 pro	Caña de azúcar	<i>Heterodera schachtii</i>	nemátodo	¿ ?	controversial	¿ ?	Cai y cols., 1997

proteínas LRR. Este dominio está compuesto de 14 a 29 repeticiones del motivo LxxLxLxxN/CxL, donde L es leucina o serina y X, cualquiera aminoácido. Las L estarían expuestas al interior de la estructura, mientras que los aminoácidos x se expondrían al solvente y podrían interactuar con otras proteínas. Se ha reportado que el dominio LRR es responsable de procesos biológicos importantes como interacción hormona-receptor, inhibición enzimática, adhesión celular, tráfico celular y en la respuesta inmune. De acuerdo a la estructura terciaria tipo herradura o media

herradura que adopta este dominio dentro de la proteína es que se ha postulado que podría estar implicado en la interacción proteína-proteína en animales y en el reconocimiento del ligando AVR. En la región central, los receptores de resistencia poseen un dominio de unión a nucleótidos (NBS). El dominio NBS se encuentra en numerosas proteínas que unen ATP o GTP como ATP sintetasas o GTPasas, lo cual sugiere que los receptores de resistencia requieren ATP o GTP. Al respecto se ha descrito que el dominio NBS podría estar involucrado en promover la respuesta de defensa a través de la activación de proteínas G. El dominio NBS está formado por un motivo de unión a fosfato llamado P-loop, por un dominio hidrofóbico, un dominio kinasa 2 que coordina el metal para la transferencia de fosfato y un dominio kinasa 3a que contiene una arginina que podría estar implicada en la unión de la purina del ATP.

Análisis filogenéticos han dividido la familia de receptores NBS-LRR en dos subfamilias de acuerdo al motivo localizado en el dominio N-terminal. En el primer subgrupo (1a) están aquellos que poseen el dominio TIR, el cual es homólogo al dominio citoplasmático del receptor TOLL de *Drosophila* y al receptor de IL-1 (RIL1). Además, este dominio se encuentra formando parte de los receptores TLR (Toll Like Receptors) en humanos, los que tendrían un rol fundamental en activar señales de transducción en la respuesta inmune, a través de homo y heterodimerización con proteínas adaptadoras como MyD88 que también poseen dominios TIR.

El grupo 1b posee en el extremo amino terminal un dominio Leucine zipper (LZ) o coiled coil (CC), los que también están involucrados en homo y heterodimerizaciones de factores de transcripción y podrían estar participando en la señalización de la respuesta de defensa en plantas.

Los receptores más representativos del grupo 1^a, TIR/NBS/LRR son: RPS4 de *Arabidopsis thaliana* que confiere resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* la que posee el gen de avirulencia *avrRps4*, RPP1 y RPP5 de *Arabidopsis* que otorga resistencia al hongo *Pernospora parasítica* el que posee el *avrRpp1* y *avrRpp5* respectivamente, el receptor N de tabaco que reconoce la replicasa 126 kDa codificada en el tobamovirus TMV-U1 (virus del mosaico del tabaco) y el gen L6 y M de lino que otorga resistencia al hongo *Melampsora lini*. Los genes de este grupo sufren corte y empalme (*splicing*) alternativo especialmente en el intrón II o III. La generación de transcritos alternativos se traduce en la obtención de proteínas completas y truncadas, careciendo generalmente las últimas del dominio LRR. Se ha descrito que la proporción de la proteína RPP5 truncada es mayor que la proteína completa y además, es necesaria para otorgar la resistencia al hongo. Un comportamiento similar fue descrito para el receptor N de tabaco frente a TMV. En este caso es necesaria la expresión de la proteína N de 131 kDa y una proteína truncada de N (N^{tr}) de 75,3 kDa proveniente de la expresión del transcrito alternativo (NI) del gen N. El *splicing* alternativo del gen N, que origina el transcrito NI ocurre en el intrón 3 y es inducido por el virus durante la infección.

En el grupo 1b de receptores NBS/LRR con dominio leucine zipper (LZ) o coiled coil (CC) en el extremo amino, se encuentran los genes RPS2, RPS5, RPP8 y RPM1 de *Arabidopsis thaliana*. RPS2 confiere resistencia a cepas de *Pseudomonas syringae* que contienen el plásmido con el gen de avirulencia *avrRpt2*. RPS5 también otorga resistencia a *P. syringae* pero que posee el *avrPphB*. RPM1 en cambio, otorga resistencia a cepas de *Pseudomonas syringae* que expresan los genes *avrB* o *avrRpm1*. RPP8 reconoce el gen de avirulencia *avrRpp8* presente en la cepa del hongo de *Pernospora parasítica* (Fig. 3, Tabla 1).

Al grupo 2 pertenece el gen de resistencia Pto de tomate que confiere resistencia a la bacteria patogénica *Pseudomonas syringae* pv *tomato* la que contiene el gen de avirulencia *avrPto*. El gen Pto fue el primero en ser aislado que cumple con el modelo de interacción gen por gen. Pto codifica para una proteína kinasa serina/ treonina que es capaz de autofosforilarse y fosforilar a otras proteínas kinasas y factores de transcripción involucrados en la cascada de señales de transducción que convergen para establecer la respuesta de defensa de la planta.

Los genes Cf-9, Cf-2, Cf-4 y Cf-5 de tomate forman el tercer grupo de los genes R. Todos ellos confieren resistencia al hongo *Cladosporium fulvum* que posee el gen de avirulencia *avr9*, *avr2*,

avr4 y avr5, respectivamente. Todo este grupo de receptores posee un dominio de transmembrana, un péptido señal de destinación a membrana y en la región amino terminal presenta el dominio LRR. Hasta el día de hoy no se ha podido comprobar una unión directa del AVR con el receptor Cf9, por lo que se ha propuesto que deben existir proteínas adaptadoras que actuarían de puente entre ambas.

El grupo 4 está compuesto por el gen Xa21 de arroz que otorga resistencia a más de 30 cepas de la bacteria *Xanthomona oryzae*. La proteína Xa21 también presenta en la región amino terminal un péptido señal de destinación a membrana, motivos LRR extra citoplasmáticos, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de actividad serina/ treonina kinasa (Fig. 3 y Tabla 1).

El gen de resistencia Hm1, que confiere resistencia al hongo *Cochliobolus carbonum* constituye el grupo 5. Este hongo secreta la toxina HC que inactiva la histona deacetilasa de la planta, necesaria para la respuesta de defensa. Hm1 codifica para una toxina HC reductasa (HTRC) dependiente de NADPH que detoxifica a la planta de la toxina HC.

El gen Mlo de cebada constituye el sexto grupo de genes de resistencia. La proteína MLO codificada por este gen confiere resistencia al hongo *Erysiphe graminis f.sp. hordei* y sería un receptor con siete regiones de transmembrana el que estaría asociado a proteína G para llevar a cabo su función.

El último grupo está compuesto por Hs1 pro-1 de caña de azúcar que confiere resistencia al nemátodo *Heterodera schachtii*. Este gen codificaría para una proteína de 282 amino ácidos con repetidos imperfectos de leucina y un motivo de unión a membrana.

Análogos a genes de resistencia se han identificado recientemente (RGAs) en varias especies vegetales como soya, citrus, vid, manzano y damasco, entre otras, utilizando partidores específicos o degenerados de motivos conservados de genes de resistencia como el dominio NBS. Análisis genéticos mostraron que estos RGAs se encuentran agrupados en el genoma y asociados a loci de genes de resistencia. Es por esto que los marcadores RGAs están siendo utilizados actualmente para la identificación de genes de resistencia.

RESISTENCIA A VIRUS EN PLANTAS

Mecanismo de Infección

Los virus son el grupo de patógenos que producen mayores pérdidas económicas y biológicas en especies vegetales en todo el mundo. Es por ello que el mecanismo de infección de los virus en plantas y de cómo éstas han podido coevolucionar para defenderse frente a esta agresión, se han estudiado en profundidad hace más de 50 años. Los virus que infectan plantas son generalmente de tipo RNA hebra positiva, aunque también existen virus tipo DNA como los geminivirus y luteovirus

.El proceso de infección viral comienza con la penetración de la pared celular de células vegetales a través de heridas causadas por efectos abrasivos del medio ambiente o por vectores como áfidos, insectos o nemátodos. Dentro del citoplasma de la célula, el virus se desensambla. El material genético es utilizado para la traducción de las proteínas estructurales como la proteína de la cápside (PC), replicasa, proteínas de movimiento y otras proteínas específicas de cada raza viral. Una vez traducido el material genético, éste es replicado para producir múltiples copias del mismo genoma viral y lograr infectar sistémicamente la planta hospedero. En plantas susceptibles el virus utiliza la vía simplástica para establecer la infección sistémica. En una primera etapa las proteínas de movimiento (PM) se unen al genoma viral y lo transportan de célula a célula a través de los plasmodesmos desde células epidermales, a células del mesófilo hasta llegar a los haces vasculares. Durante muchos años se ha investigado la compleja interacción entre los virus de plantas y su hospedero. Sin embargo, los avances recientes en esta área han podido aportar evidencias de cómo los virus se acumulan y mueven en las plantas. En los procesos de traducción, replicación y movimiento local y sistémico, el virus se vale de la maquinaria vegetal y de proteínas

del hospedero para completar su ciclo de vida. Los factores del hospedero que han sido reportados en participar en el ciclo infectivo de los virus han sido identificados mediante mutagénesis y actúan preferentemente sobre el movimiento célula a célula y el movimiento sistémico. Por ejemplo, plantas de *Arabidopsis* mutantes homocigotas para *tom1* y *tom2*, impiden la acumulación de TMV en la célula infectada. *Tom1* y *Tom2* codifican para proteínas de membrana del tonoplasto que interaccionan entre sí y con el dominio helicasa de la replicasa del virus. Por otro lado, existen muchas evidencias de que el citoesqueleto y sus componentes se encuentran involucrados en el movimiento viral para promover el transporte de los virus a través de los plasmodesmos. Muchas MP virales son destinadas a los plasmodesmos vía el retículo endoplásmico, mientras que los filamentos de actina/miosina estarían regulando el flujo de las proteínas por el RE.

Aportando a esta aseveración, se ha determinado que la PM del tobamovirus TMV (Virus del Mosaico del Tabaco), no sólo se asocia al RNA viral, sino también a componentes del citoesqueleto de la célula infectada como los microfilamentos y al retículo endoplásmico. Además, es capaz de aumentar 10 veces el límite de exclusión (diámetro) de los plasmodesmos, facilitando el paso de las moléculas virales. Para llevar a cabo estas funciones, debe interactuar con factores del hospedero, entre los que se encuentran las pectin metilesterasas (PME), microtúbulos (MTs), filamentos de actina, proteínas quinasas ROI y la chaperona calreticulina. La replicasa 126K/183K de TMV también se asocia a microfilamentos y es necesaria para el movimiento célula-célula del virus. Por otra parte, la proteína TGBp2 MP de potato potexvirus X (PVX) también se asocia al RE, a microfilamentos de actina y no se relacionan con el aparato de Golgi. Esta analogía entre la función de PM de potexvirus y tobamovirus, sugiere que ambos grupos virales, por lo menos, utilizan el mismo mecanismo de movimiento célula a célula.

De las células acompañantes el virus llega al *sieve element* (SE) por donde tiene acceso directo al floema. Análisis de mutantes de TMV y tobacco etch virus (TEV) sugieren que la proteína de la cápside (PC) es esencial para atravesar los SE y conducir sistémicamente la infección. Algunos virus DNA también requieren de PC para movimientos a larga distancia, pero algunos geminivirus no las requieren. Otros virus, como los Luteovirus quedan limitados al floema, parenquima, células acompañantes y SE debido probablemente a que no pueden salir de allí. Por el floema se transportan nutrientes y fotoasimilados, por lo tanto la infección viral trae como consecuencia una disminución en la incorporación de estos compuestos en las hojas apicales de la planta. Es por este mecanismo de infección que síntomas de clorosis, arrugamiento de hojas se hacen más evidentes en regiones apicales de las plantas infectadas.

Genes de resistencia a virus

Actualmente se han caracterizado completamente 9 genes de resistencia frente a virus en distintas especies vegetales (Tabla 2). Entre ellos está el gen *Sw5* para resistencia al *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) en tomate. El locus *Sw-5* fue aislado mediante clonamiento posicional. Los resultados indicaron que se encontraba en el cromosoma 9 y que pertenecía al grupo de proteínas CC-NBS-LRR. El gen *RTM1*, *RTM2* para resistencia a TMV en *Arabidopsis*, *HRT* para resistencia a *Turnip crinkle virus* (TCV) en *Arabidopsis* (Cooley y cols., 2000). *HRT* es un gen único y dominante que se ubica en el cromosoma 5 y codifica para un receptor de estructura CC-NBS-LRR homóloga a RPP8 que confiere resistencia a *Peronospora parasitica*. Es por ello que se han agrupado en la familia *HRT/RPP8*, a pesar de reconocer a patógenos diferentes. Utilizando plantas transgénicas que expresan *HRT* se determinó que este gen no es suficiente para montar la respuesta de resistencia a TCV. Las plantas de *Arabidopsis* transgénicas con *HRT*, montaban la respuesta HR pero sin mediar resistencia al virus. La resistencia completa a TCV se obtiene en plantas que además poseen el alelo recesivo *rrt*. El activador de la respuesta HR en este sistema *HRT/RRT*, es la PC de TCV, la cual se ha descrito interactúa con el factor de transcripción TIP (TCV interacting protein). Se ha postulado que esta interacción aparentemente serviría para mantener a TIP fuera del núcleo y evitar una respuesta molecular de defensa por parte de la planta.

El gen *Tm22* de tomate cuyo producto reconoce al *Tomatomosaic virus* (ToMV) fue aislado por

Tabla 2. Determinantes avirulentos y sus correspondientes genes de resistencia. BYMV; *Bean yellow mosaic virus*, CaMV; *Cauliflower mosaic virus*, CMV; *Cucumber mosaic virus*, LMV; *Lettuce mosaic virus*, MNSV; *Melon necrotic spot virus*, PSbMV; *Pea seed borne mosaic virus*, PVA-M; *Potato virus A strain M*, PVY; *Potato virus Y*, PVX; *Potato virus X*, TBSV; *Tomato bush stunt virus*, TCV; *Turnip crinkle virus*, TuMV; *Turnip mosaic virus*, ToMV; *Tomato mosaic virus*, TMV; *Tobacco mosaic virus*, TVMV; *Tobacco vein mottling virus*, TSWV; *Tomato spotted wilt virus*, SMV; *Soybean mosaic virus*, nd: no determinado. Adaptado de Kang y cols., 2005.

Gen de Resistencia	Planta de origen	Virus	AVR	Mecanismo de Resistencia	Referencia
Othello	Poroto	BYMV	proteína BV1	HR	Garrido-Ramirez y cols., 2000
<i>TuRBO1</i> , <i>TuRBO1b</i>	<i>Brassica napus</i>	TuMV	CI	HR	Jenner y cols, 2000
<i>TuRBO3</i> <i>TuRBO4</i>	<i>Brassica napus</i>	TuMV	P3	Replicación	Jefferies y cols. 2003.
<i>TuRBO5</i>	<i>Brassica napus</i>	TuMV	CI	HR	Jenner y cols, 2003
nd	<i>C. amaranticolor</i>	CaMV	Gen VI		Kiraly y cols,1999. Schoelz y cols, 1986.
nd	Cowpea	CMV	2a polimerasa	HR	Kim y Palukaitis, 1997
<i>nsv</i>	<i>Cucumis melo L</i>	MNSV	3' porción del genoma viral	Replicación	Diaz y cols, 2004.
<i>mo11</i> <i>mo12</i>	Lechuga	LMV	Mitad 3' del genoma	Movimiento y Replicación	Redondo y cols, 2001.
nd	<i>Nicandra physaloides</i>	PVA-M	62 K y VPg	Movimiento sistémico	Rajamaki y Valkonen, 1999.
<i>sbm-1</i>	Arveja	PSbMV	VPg	Replicación	Keller y cols, 1998.
<i>sbm-2</i>	Arveja	PSbMV	P3 y 6K1 citron		Johansen y cols, 2001.
<i>L1, L2, L3</i>	Pimiento	TMV	PC	HR	Berzal-Herranz 1995.
<i>pvr21</i> <i>pvr22</i>	Pimiento	PVY	VPg	Movimiento y Replicación	Moury y cols, 2004
<i>Nb</i>	Papa	PVX	proteína de movimiento 25 K	HR	Malcuit y cols, 1999.
<i>Nx</i>	Papa	PVX	PC	HR	Santa Cruz y Baulcombe, 1993
<i>Ry</i>	Papa	PVX	proteasa NIa	Replicación	Mestre y cols, 2000.
<i>N'</i>	Tabaco	ToMV	PC	HR	Knorr y Dawson 1988. Saito y cols, 1987.
<i>va</i>	Tabaco	PVY	VPg	Célula a célula	Nicolas y cols, 1997.
nd	<i>N. clevelandii</i>	TBSV	proteína de movimiento P22	Célula a célula	35, Scholthof y cols, 1995.
<i>pot</i>	Tomate	PVY	VPg		Moury y cols, 2004.
<i>Rsv 1</i>	Poroto de soya	SMV	HC-Pro y P3 cistron		Eggenburger y Hill, 1997.
nd	Tabaco Xhanti nn	TMV-Cg	PC	Tipo HR	Eherenfeld y cols., 2005

mutagénesis por transposones y codifica para una proteína de estructura CC-NBS-LRR de 861 aa. El activador de Tm22 es la proteína de movimiento (PM).

En la búsqueda de un ecotipo de *Arabidopsis* que fuera resistente a *Cucumber mosaic virus cepa Y* (CMV-Y), se logró encontrar que el ecotipo C24 producía supresión de la replicación viral y la generación de HR al ser infectado con CMV-Y. El gen dominante *RCY1* (resistance to cucumber mosaic virus strain Y) fue identificado como el único responsable de la respuesta de resistencia a

CMV-Y. El gen *RCY1* se encuentra en el cromosoma 5 de *Arabidopsis* en donde se localizan otros genes de resistencia como *RAC3*, *RPS4*, *HRT*, *TTR1*, y 5 loci para *RPP*. Análisis de secuencia de esta región respecto a ecotipos de *Arabidopsis* mutantes C24 sensibles, permitieron identificar que el gen *RCY-1* codifica para una proteína de 140 kDa, de estructura CC-NBS-LRR. Al realizar virus quiméricos entre CMV-Y y la cepa virulenta CMV-B2, se identificó a la PC como el factor de avirulencia de CMV-Y. La respuesta de resistencia mediada por *RCY1* requiere de señales de transducción mediadas por ácido salicílico (AS) y etileno. Por último, se encuentra el gen *Rx* para resistencia a *PVX* en papa y el gen *N* de resistencia a *TMV* en tabaco (ver más adelante). También existen muchos otros genes *R* para virus en distintas especies vegetales, pero aún no han sido identificados ni caracterizados.

La mayoría de los genes de resistencia a virus son monogénicos dominantes y desencadenan respuesta HR frente a la infección viral. Sin embargo, en algunos casos se observa una dominancia incompleta debido supuestamente a un factor de dosaje del receptor. También existen ejemplos en que un gen dominante o recesivo es suficiente para ejecutar la respuesta de defensa frente a varias especies de una familia de virus. Este es el caso del gen de resistencia *I* de *Phaseolus vulgaris* que reconoce a 10 especies distintas de virus del género *Potyvirus*, produciendo síntomas necróticos de defensa. En otros casos como en la respuesta de defensa de *Capsicum* frente al potyvirus, *Pepper vein mottle virus*, sólo se observa resistencia cuando los alelos *pvr12* (homólogo a *eIF4E*) y *pvr6* (*eIF(iso)4E*) son homocigotos en la planta.

Los virus de plantas evolucionan rápidamente debido a que poseen ciclos de replicación cortos, cada célula de una planta hospedero posee varios genomas virales. El hecho que la replicasa del virus RNA no tenga capacidad correctora permite elevar la tasa de mutaciones a 10^{-4} por ciclo replicativo por base. Además, puede haber variación genética en los virus debido a mutaciones, recombinaciones y la adquisición de genomas adicionales. Estas características virales le otorgan la capacidad de modificar los genes *avr* y evadir las barreras de defensa en las plantas. En la Tabla 2 se indican los genes *avr* virales que se han identificado hasta hoy, el virus que los codifica y la respuesta de la planta resistente infectada con el virus.

Por otro lado, los virus han podido sortear barreras defensivas muy complejas de sus hospederos. En los años 90 se describió un tipo de defensa extrema hacia virus RNA, el cual consistía en el silenciamiento del RNA viral, lo que hoy conocemos como RNA interferente (RNAi, en animales) o silenciamiento génico post transcripcional (PTGS, en plantas). Las plantas por lo general poseen este mecanismo de silenciamiento para diversos roles, entre ellos, controlar la infección viral. El silenciamiento génico comienza con la formación de un duplex de RNA formado entre el RNA endógeno y el RNA blanco/viral. Un complejo multicomponente en el que se incluye a DICER/RISC se encarga de identificar y degradar al RNA blanco en pequeños fragmentos de 21-27 nt (RNAi), los cuales son las moléculas encargadas de amplificar la señal de silenciamiento al resto de la planta. Sin embargo, los virus han podido coevolucionar y algunos de ellos poseen proteínas supresoras del silenciamiento de las plantas, como P1/Hc-Pro (helper component-proteinase) que se encuentra codificada en el genoma de TEV (Tomato etch virus) y PPV (plum pox virus), y de P25 codificada en PVX. En un comienzo se pensaba que Hc-Pro era requerida para la replicación y el movimiento a larga distancia. Sin embargo, se pudo demostrar que actúa suprimiendo PTGS. Esta característica, hace que los virus TEV, PPV y PVX e Y sean muy agresivos al momento de invadir al hospedero.

El gen *Rx* confiere resistencia a *PVX* en papa.

El gen *Rx* fue aislado de papa mediante clonamiento posicional y el análisis de secuencia determinó que codificaba para una proteína de estructura CC-NBS-LRR de 107, 5 kDa que induce resistencia al virus X de papa (*PVX*) sin gatillar HR. En este tipo de resistencia extrema, el virus *PVX* queda limitado a las células inicialmente infectadas. La resistencia mediada por *Rx* es posible de observar en ensayos de infección de protoplastos. Al infectar con *PVX* protoplastos provenientes de plantas resistentes (*Rx*) y susceptibles (*rx*), las primeras muestran 10 veces menos acumulación de RNA de

PVX que las primeras y respecto a un control de infección con TMV. La resistencia mediada por Rx también puede afectar la infección de otros virus. Esto se comprobó al coinfectar PVX con TMV en protoplastos resistentes. En este ensayo, el RNA del virus TMV también se redujo a niveles comparables a los de PVX.

El activador de PVX es la proteína de la cápside (PC) y esto se determinó mediante la expresión constitutiva de la PC de PVX en plantas de tabaco o papa que expresan Rx. Al expresar la PC de PVX se observó HR generalizada y no RE. Esto puede deberse probablemente a que el nivel de proteína PC en la célula vegetal puede estar determinando la respuesta macroscópica (HR) al virus. Mediante mutagénesis al azar se obtuvieron plantas en que se producía muerte celular en ausencia de activador PC. Al realizar análisis de secuencia se determinó que este fenotipo se debía a mutaciones cercanas al motivo NBS-LRR de Rx.

Para determinar el mecanismo de activación de Rx por PC, se realizaron ensayos de agroinfiltración para coexpresar transientemente fragmentos del gen de resistencia Rx y la PCR de PVX. Así se logró demostrar que en Rx se generan interacciones intramoleculares entre los dominios LRR y CC, las cuales se rompen en presencia de PC, el activador de PVX. Estos antecedentes indican que las interacciones que involucran el motivo CC y LRR al motivo NBS no son equivalentes.

Además, pudieron comprobar que la activación de Rx dependía del rompimiento de la unión entre LRR y NBS. Utilizando VIGS (silenciamiento génico mediado por virus) para EDS1 Y RAR1 se determinó que la resistencia mediada por Rx no requiere de EDS1, una proteína con alta homología a lipasas eucarióticas, ni de RAR1 una proteína con motivo Zinc-finger que interactúa con factores del complejo multiproteico para la degradación de proteínas. Sin embargo, existen autores que al silenciar Rar1, obtuvieron una disminución de los niveles de Rx. Esto permite postular que Rar1 sería una cochaperona necesaria para varias proteínas R. Al silenciar MAP quinasa quinasa quinasa (MAPKKK) de tabaco y proteínas de estrés como HSP90, se reduce la función de RX.

El gen N de tabaco confiere resistencia al virus del mosaico del tabaco cepa silvestre U1 (TMV U1).

La interacción entre TMV-U1 y el producto del gen N presente en *Nicotiana tabacum* ha sido un modelo clásico para el estudio de la respuesta de defensa de plantas frente a patógenos. El gen N es un gen R que fue introducido de *Nicotiana glutinosa* mediante cruces genéticos con plantas de la especie *Nicotiana tabacum* sensibles a tobamovirus. Este gen de resistencia fue aislado de tabaco por el grupo de Barbara Baker a fines de 1994. Para ello, se realizaron mutaciones en plantas de tabaco NN resistentes al TMV-U1 que portan el gen N mediante el transposón Activador (Ac) de maíz. El análisis de la secuencia del DNA genómico y del cDNA, indicó que el gen N contiene 5 exones y 4 intrones (Fig. 3). El transcrito inmaduro del gen N sufre corte y emplame (*splicing*) alternativo en el intrón 3, evento que es característico de los genes de resistencia del grupo 1a. Producto de este corte y empalme alternativo se producen dos mRNAs. Uno de mayor tamaño (N^l), el que codifica para una proteína truncada (N^{tr}) de 652 aá (75,3 kDa) y que conserva solamente 1,5 repetidos de leucina (LRR). La generación de esta proteína pequeña se debe a la presencia de un codón de término de la traducción ubicado en el Δexón (proveniente del intrón 3) generado a partir del *splicing* alternativo (Fig. 3). La proteína N^{tr} finaliza con 36 aá sin asociación a una estructura de función conocida. El segundo transcrito (N^s) es el mayoritario y codifica para la proteína N completa de 1144 aá (131,4 kDa). Esta proteína presenta en su región amino terminal (8-150 aá), un dominio TIR o CD (dominio citoplasmático), el cual tiene un 55% de homología con el amino terminal del Receptor Toll de *Drosophila* y un 49% de homología con el Receptor de Interleuquina 1 (IL1R). Este dominio se encuentra codificado en el exón 1 (479 pb) del gen N. El exón 2 codifica para el motivo NBS, en el cual se encuentran los motivos P-loop, kinasa 2 y kinasa 3a, que podrían ser requeridos para la unión de los nucleótidos ATP o GTP necesarios para la fosforilación de proteínas. La mayor parte de la región proteica codificada por el exón 3 no presenta homología con alguna proteína de función conocida, aunque al final de este exón se inicia la región LRR. El exón 4 codifica para la mayor parte del dominio LRR compuesto por 14 repeticiones de 26 aá con intervalos

de leucina. El exón 5 codifica para los últimos cinco amino ácidos de la proteína N.

La proteína N silvestre también contiene 8 posibles sitios de N-glicosilación y no posee péptido señal ni dominios de transmembrana. Ello sugiere que N es un receptor citoplasmático, lo que está de acuerdo con la replicación de TMV en el citoplasma celular.

La expresión del gen N completo en plantas de tomate o tabaco que no poseen este gen funcional, le otorga a estas plantas resistencia a TMV-U1 mediante inducción de HR (Whitham y cols., 1996). Además, se determinó que las proteínas N y N^{tr} son necesarias para desencadenar una HR completa en plantas de tabaco que portan el gen N. De hecho, plantas transgénicas que expresan el receptor N pero no la proteína N^{tr}, desarrollan una respuesta de resistencia incompleta frente a la infección con TMV-U1. La respuesta de resistencia es fallida y se caracteriza por el desarrollo de lesiones necróticas locales y por la incapacidad de la planta de evitar el movimiento sistémico del virus.

La inducción de HR en plantas de tabaco NN, es una respuesta característica a la infección de todo el grupo de tobamovirus al que pertenece TMV-U1. En general, esta se manifiesta a temperaturas bajo los 28°. Sobre esta temperatura no se observa HR y el virus se disemina sistémicamente en la planta. Si en esta condición se baja la temperatura a 25° se reestablece la HR y se induce muerte celular en toda la planta, debido al reconocimiento sistémico del virus. Se propuso que las temperaturas elevadas sobre 28°C, debilitarían la interacción entre el activador viral y el receptor, afectando el mecanismo de defensa que desencadena HR en la planta.

Mediante el estudio con virus quiméricos de TMV-U1, se demostró que la región helicasa de la proteína replicasa 126 kDa es necesaria para inducir HR. Al realizar ensayos de expresión transiente y estable, se determinó que el activador de TMV-U1, era una región de 50 kDa de la replicasa 126 kDa que presenta los dominios de helicasa. La respuesta que se obtuvo fue dependiente del gen N y además termosensible, al igual que con TMV-U1 silvestre. También se demostró que la helicasa viral presentaba actividad ATPásica, y que esta actividad no era requerida para la inducción de HR.

Todavía no se ha logrado demostrar la interacción directa entre el activador y el receptor N durante la infección por TMV-U1. Por ello, se especula que deben existir factores del hospedero involucrados en la respuesta de defensa. Utilizando la técnica de silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) se han identificado proteínas del hospedero como NRG1, que podrían participar en mediar resistencia a TMV. Probablemente, el reconocimiento de la región helicasa (p50) de la replicasa 126 kDa de TMV-U1 se produce por el dominio LRR del receptor N a través de estas proteínas de la planta, como NRG1.

En este punto es importante considerar que el receptor N requiere de la proteína N completa y de otra troncada (N^{tr}) para desencadenar HR. Es interesante destacar que estos mismos investigadores lograron determinar que el virus TMV-U1 es el responsable de inducir el *splicing* alternativo en el intrón 3 del gen N, necesario para la síntesis de la proteína N^{tr}. Además, para desencadenar una HR completa se requiere un balance de las proteínas N/N^{tr} durante el proceso de infección viral. De este resultado se infiere que la variante N^{tr} (proteína TIR/NBS) interactuaría con el receptor N (y posiblemente con otras proteínas del hospedero), para mediar una respuesta de defensa coordinada.

CONCLUSIONES Y DIRECCIONES FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

Los casi 15 años de estudio en el área de interacción planta patógeno ha permitido conocer, aunque no a cabalidad, la compleja relación que existe cuando un patógeno penetra una célula vegetal. Este primer contacto es el comienzo de la guerra para la sobrevivencia. Para el patógeno, como los virus, significa perpetuarse en ese hospedero o ser eliminado. La respuesta frente a la infección viral para la planta significa sobrevivir o ser una maquinaria sujeta a los requerimientos del patógeno. Factores determinantes en esta batalla son sin duda los genes de resistencia de las

plantas. La evolución ha permitido a las plantas defenderse a nivel molecular de las agresiones de los patógenos. Sin embargo, éstos han podido coevolucionar y por medio de mutaciones genómicas se han generado nuevas proteínas AVR y factores supresores del silenciamiento para sortear las barreras de reconocimiento molecular vegetal. Es impresionante como pequeñas partículas como los virus utilizan la maquinaria y proteínas de la planta para establecer estrategias de movimiento célula a célula a través de los plasmodesmos y poder infectar sistémicamente su hospedero.

Los nuevos descubrimientos en la ruta de comprender los mecanismos de infección de virus en plantas y de la respuesta de éstas a nivel molecular, serán sin duda el centro de atención en los próximos años. Los conocimientos generados hasta hoy, junto con aquellos que quedan por dilucidar, han permitido y facilitarán en un futuro el desarrollo de estrategias moleculares para combatir las enfermedades causadas por virus en muchas especies vegetales de alto impacto a la economía de los países en el mundo. Estrategias utilizadas incluyen la incorporación del gen avr en una planta susceptible. Al ser infectada con el patógeno, se desencadenará el mecanismo de PTGS y con ello la planta se liberará de la infección. Otra aproximación es sobreexpresar genes cuya función se encuentra asociada a más de un gen R y a nivel local como en SAR. Por ejemplo, la sobreexpresión de NPR1, bajo un promotor constitutivo (35S del CaMV) aumenta la resistencia a varios patógenos. Una conclusión interesante de destacar de este experimento es que no todas las vías dependen sólo de la especificidad en el reconocimiento y que posiblemente al aumentar la dosis de una proteína intermediaria como NPR1, se facilita la respuesta de defensa. Una aproximación más directa en lograr controlar las infecciones virales, es introducir en la planta un gen de resistencia específico a cierto virus mediante transformación génica. A pesar del progreso en estrategias de manipulación génica en plantas, se deben superar varias barreras gubernamentales para poder comercializar masivamente productos agronómicos transgénicos. Otros factores relevantes incluyen las licencias Universitarias, y la instrucción de la población hacia dichos productos.

Otras Líneas de investigación que se han comenzado a desarrollar y que tendrán importancia en los años venideros contempla la utilización de los motivos NBS, muy comunes en genes R, como base para la identificación de nuevos genes R en plantas modelos y en especies de interés agroeconómico. Es así como se han podido identificar análogos a genes de resistencia (RGA) en vides, damascos, soya, cítricos, almendros y manzanos. Además, se han asociado marcadores moleculares a la resistencia de patógenos como plum pox virus (PPV) en damascos, a TMV en maíz, y a *C. fulvum* en *Rosa roxburghii*, entre otros. Ambas estrategias son viables para la identificación de genes R para patógenos virales que causan enormes daños en producción de frutas y hortalizas en el mundo.

RESUMEN

Las plantas poseen mecanismos de defensa para casi todos los patógenos que existen. Se ha descrito que el mecanismo molecular más efectivo está dado por la presencia de genes de resistencia (R) que reconocen específicamente un factor AVR proveniente de un patógeno. Producto de este reconocimiento se produce una respuesta de defensa denominada respuesta de hipersensibilidad (HR) que se observa visualmente con la aparición de lesiones locales en el sitio de infección y evitar así la diseminación del patógeno por la planta. A nivel molecular se desencadenan eventos complejos como estallido oxidativo y síntesis de compuestos antimicrobianos y proteínas relacionadas con patogénesis (PR) que permiten restringir la infección. Sin embargo, se ha descrito que algunas proteínas R son capaces de inducir una resistencia extrema frente a un patógeno, en la cual no se desarrolla HR. Por otro lado, HR se puede observar aún si el patógeno puede infectar sistémicamente la planta. Estas observaciones han permitido separar la respuesta HR de la reacción de defensa propiamente tal.

Los receptores R descritos hasta hoy poseen dominios consenso como LRR, NBS, TIR y LZ, lo cual sugiere que debe existir convergencia en los mecanismos de transducción de la señal de defensa. En el caso de los patógenos, existe gran variabilidad de secuencia en los genes avr y la función que cumplen es variable y depende del patógeno. En el caso de los virus, los factores AVR son la proteína de la cápside, proteína de movimiento o replicasa, proteínas esenciales para el proceso infectivo del virus. Debido a la rápida evolución de los patógenos, estos han generado nuevas variantes de AVR. Por ello, las plantas en pos de coevolucionar frente a las nuevas razas de patógenos, han generado nuevos genes R mediante procesos de recombinación entre genes que ocupan un mismo loci. Frente a la infección viral, las plantas han desarrollado mecanismos especializados de defensa como PTGS. Sin embargo, existen virus como PVX, capaces de suprimir el silenciamiento viral.

Uno de los modelos virus-planta más estudiados es el del virus del mosaico del tabaco (TMV) y el gen N en plantas de tabaco. El gen N codifica para una proteína de estructura TIR/NBS/LRR la cual reconoce a la región helicasa de la replicasa de TMV-U1 como activador (AVR). Producto de esta interacción se produce splicing alternativo en el gen N, lo que conlleva a la síntesis de una proteína N truncada N^{tr} que carece del dominio LRR. Ambas proteínas N y N^{tr} son esenciales para que las plantas de tabaco monten una respuesta de defensa completa. Muchos trabajos se han desarrollado con el fin de encontrar otros factores del hospedero que participen en la señalización de la respuesta de defensa. Se ha propuesto que los receptores estarían asociados con otras proteínas (por ej de tipo TIR o CC/NBS/LRR) previa a la infección viral. Como consecuencia del reconocimiento del virus la interacción se rompe y se desencadenan las señales de transducción para la defensa. El caso del receptor Rx sería diferente. Se ha comprobado que la PC del virus PVX, rompe uniones intramoleculares del receptor y que ello desencadena las señales necesarias para defensa. Los descubrimientos descritos convergen en que son muchos los factores necesarios para montar una respuesta de defensa y que algunos de ellos participan en la señalización de más de un receptor.

Preguntas y Problemas

- 1.- Defina resistencia pasiva y resistencia activa.
- 2.- ¿En que se diferencian y que características poseen las reacciones compatible e incompatible?
- 3.- ¿Qué son las proteínas AVR y los receptores R? ¿Cuál es su función en el contexto de la respuesta de defensa de plantas frente a patógenos?
- 4.- ¿Qué caracteriza una respuesta de hipersensibilidad (HR)?
- 5.- ¿A que se refiere una respuesta de resistencia extrema?
- 6.- La mayoría de los receptores de resistencia poseen la estructura TIR/NBS/LRR. Describa cada dominio y la función que poseen.
- 7.- ¿Cuáles son los factores del virus y del hospedero que facilitan la infección del virus en la planta?
- 8.- ¿Por qué las plantas poseen tantos genes de resistencia? Recuerde que el 1% del genoma de la planta de Arabidopsis codifica para receptores de resistencia y que la tasa de mutación de los virus es de 10^{-4} por cada ciclo replicativo.
- 9.- ¿Qué es el silenciamiento génico postranscripcional?, ¿Cómo y para qué existe en plantas?
- 10.- ¿Por qué cree usted que todavía no se ha logrado demostrar la interacción directa entre el activador y el receptor N durante la infección por TMV-U1?

Lecturas Generales

- BAULCOMBE, D. 2004. RNA silencing in plants. Nature 431: 356363
- BOEVINK, P. & K.J. OPARKA. 2005. Virus-Host Interactions during Movement Processes. Plant Physiol. 138: 18151821.
- BOL J.F., H.J.M. LINTHORST & B.J.C. CORNELISSEN. 1990. Plant pathogenesis-related proteins

- induced by virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28:113-138.
- BOYKO, V., J. FERRALLI, J. ASHBY, P. SCHELLENBAUM & M. HEINLEIN. 2000. Function of microtubules in intercellular transport of plant virus RNA. *Nat Cell Biol* 2: 826832
- DURRANT W.E. & X. DONG. 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:185-209.
- ELLIS, J., P. DODDS & T. PRYOR. 2000a. Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 3: 278-284.
- HAMMOND-KOSACK, K & J.D.G. JONES. 2000. Responses to plant pathogens. En: (B.B. Buchanan, W.Gruissem, R.L. Jones) *Biochemistry and Molecular Biology of plants*: 1102-1155. 3d Edition. Currier Companies, Inc.
- KOBE, B. & A.V. KAJAVA. 2001. The leucinerich repeat as a protein recognition motif. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 11: 725-732.
- LAZAROWITZ, S.G. 2002. Plant Viruses. En: (DM Knipe y PM Howley, eds) *Fundamental Virology*: 1107. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 4th ed. in the *N* gene-mediated resistance response to *Tobacco mosaic virus*. *Plant Cell* 14, 148396
- MARTIN, G.B., A.J. BOGDANOVA & G. SESSA. 2003. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 2361
- SHIRASU, K. & P. SCHULZE-LEFERT. 2003. Complex formation, promiscuity and multifunctionality: protein interactions in disease-resistance pathways. *TRENDS in Plant Sci.* 8: 1360-1385.
- WEI G., J.W. KLOPPER & S. TUZUN. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant-growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-1512.

Literatura Citada

- AFEK U. & SZTEJNBERG A. 1989. Effects of foseil-Al and phosphorous acid on scoparone, a phytoalexin associated with resistance of citrus to *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology* 79:736-739.
- AIST J.R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annu. Rev. Phytopathol.* 14:145-163.
- ALSCHER R.G., DONAHUE J.L., & CRAMER C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiologia Plantarum* 100:224-233.
- ALVAREZ M.E., PENNELL R.I., MEIJER P.-J., ISHIKAWA A., DIXON R.A., & LAMB C. 1998. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell* 92:773-784.
- BÉCOT S., PAJOT E., LE CORRE D., MONOT C., & SILUÉ D. 2000. Phytogard® (K₂HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. *Crop Protection* 19: 417-425.
- BENDAHMANE, A., FARNHAM, G., MOFFETT, P., & BAULCOMBE, D. (2002). Constitutive gain of-function mutants in a nucleotide binding site-leucine rich repeat protein encoded at the *Rx* locus of potato. *Plant J.* 32:195204
- BENDAHMANE, A., KANYUKA, K., & BAULCOMBE, D. (1999). The *Rx* gene from potato controls separates virus resistance and cell death responses. *The Plant Cell* 11:781-791.
- BENDAHMANE, A., KOHN, B.A., DEDI, C. & BAULCOMBE, D. (1995). The coat protein of potato virus X is a strain-specific activator of *Rx1*-mediated virus resistance in potato. *Plant J.* 8:93341
- BERTINI L., LEONARDI L., CAPORALE C., TUCCI M., CASCONI N., DI BERARDINO I., BUONOCORE V., & CARUSO C. 2003. Pathogen-responsive wheat PR4 genes are induced by activators of systemic acquired resistance and wounding. *Plant Science* 164:1067-1078.
- BIGGS A.R. & MILES N.W. 1988. Association of suberin formation in uninoculated wounds with susceptibility to *Leucostoma cincta* and *L. personii* in various peach cultivars. *Phytopathology* 78:1070-1074.
- BOL J.F., LINTHORST H.J.M., & CORNELISSEN B.J.C. 1990. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28:113-138.
- BOWLES D.J. 1990. Defence-related proteins in higher plants. *Annu. Rev. Biochem.* 59:873-907.
- CAMPBELL P.A. & LATORRE B.A. 2004. Suppression of grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) by acibenzolar-S-methyl. *Vitis* 43:209-210.
- CARRINGTON, J.C., KASSCHAU, K.D., MAHAJAN, S.K. & SCHAAD, M.C. 1996. Cell-to-cell and long-distance transport of viruses in plants. *Plant Cell* 8:16691681
- CHEN Z., SILVA H., & KESSIG D. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262:1883-1886.
- COHEN Y., GISI U., & NIDERMAN T. 1993. Local and systemic protection against *Phytophthora infestans* induced in potato and tomato plants by jasmonic acid and jasmonic methyl ester. *Phytopathology*

- 83:1054-1062.
- COLLMER A. & KEEN N.T. 1986. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis, *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:383-409.
- DANGL J.L. & JONES J.D.G. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826-833.
- DANGL J.L., DIETRICH R.A. & RICHBERG M.H. 1996. Death don't have no mercy: Cell death programs in plant-microbe interactions. *The Plant Cell* 8:1793-1807.
- DEISING H., NICHOLSON R.L., HAUG M., HOWARD R.J., & MENDGEN K. 1992. Adhesion pad formation & the involvement of cutinase and esterases in the attachment of uredospores to the host cuticle. *The Plant Cell* 4:1101-1111.
- DELANEY T. P., UKNES S., VERNOOJI B., FRIEDRICH L., WEYMANN K., NEGROTTO D., GAFFNEY T., GUT-RELLA M., KESSMANN H., WARD E. & RYALS J. 1994. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* 266:1247-1250.
- DI GASPERO, G. & CIPRIANI G. 2002. Resistance gene analogs are candidate markers for disease-resistance genes in grape (*Vitis* spp.). *Theor Appl Genet* 106:163-172
- DICKMAN M.B., PODILA G.K., & KOLATTUKUDY P.E. 1989. Insertion of a cutinase gene into a wound pathogen enables it to infect intact host. *Nature* 342:446-448.
- DINESH-KUMAR, S.P. & BAKER, B. (2000). Alternatively spliced N resistance gene transcripts: Their possible role in tobacco mosaic virus resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97:1908-1913.
- DU H. & KLESSIG D.F. 1997. Role of salicylic acid in the activation of defense responses in catalase-deficient transgenic tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10:922-925.
- DURRANT W.E. & DONG X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:185-209.
- EHRENFELD, N., CAÑÓN P, STANGE, C., MEDINA, C. & ARCE-JOHNSON, P. 2005. TMV-Cg coat protein induces HR-like in sensitive tobacco. *Molecules and Cells* 19:418-427.
- ELLIS, J., DODDS, P. & PRYOR, T. 2000b. The generation of plant disease resistance gene specificities. *Trends in Plant Sci.* 5:373-379.
- ENKERLI J., GISI U. & MÖSINGER E. 1993. Systemic acquired resistance to *Phytophthora infestans* in tomato and the role of pathogenesis related proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 43:161-171.
- FANTA N., ORTEGA X. & PEREZ L.M. 2003. The development of *Alternaria alternata* is prevented by chitinases and β -1,3- glucanases from *Citrus limon* seedlings. *Biol. Res.*36:411-420.
- FRANCIS S.A., DEWEY F.M., & GURR, S.J. 1996. The role of cutinase in germling development and infection by *Erysiphe graminis* f.sp. hordei. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49:201-211.
- FREEMAN J. & WARD E. 2004. Pathogen profile *Gaeumannomyces graminis*, the take-all fungus and its relatives. *Mol. Plant Pathol.* 5:235-252.
- GANESAN V. & THOMAS G. 2001. Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H₂O₂ accumulation and oxidative stress. *Plant Science* 160:1095-1106.
- GORLACH J., VOLRATH S. KNAUF-BEITER G., HENGY G. BECKHOVE U. KOGEL K.H. OOSTENDORP M., STAUB T., WARD E., KESSMANN H., & RYALS J. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell* 8:629-643.
- GOTTSTEIN H. & KUĆ J. 1989. Induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. *Phytopathology* 79:176-179.
- HAMMERSCHMIDT, R. 1999. Phytoalexins: What have we learned after 60 years. *Ann. Rev. Phytopathol.* 37:285-306.
- HAMMOND-KOSACK, KE. & PARKER, JE. 2003. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14:177-183
- HEATH M.C. 2002. Cellular interactions between biotrophic fungal pathogens and host or nonhost plants. *Can. J. Plant Pathol.* 24:259-264.
- HEATH M.C. 2000. Hypersensitive response-related death. *Plant Mol. Biol.* 44:321-334.
- Hulbert, SH., Webb, CA., Smith, SM. & Sun, Q. (2001) Resistance gene complexes: evolution and utilization. *Annu Rev Phytopathol* 39:285-312
- JORDAN. T., SCHORNACK, S. & LAHAYE, T. 2002. Alternative "splicing" of transcripts encoding Toll-like plant resistance proteins-what's the functional relevance to innate immunity?. *7:392-398*
- KANG, B-C., YEAM, I., & JAHN, M. 2005. Genetics of plant virus resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2005. 43:18.118.41
- KESSMANN H., STAUB T., HOFMANN C., MAETZKE T., & HERZOG, J. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 439-459.
- KLEMENT Z., FARKAS G., & LOVREKOVICH L. 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology* 54:474-477.
- KUĆ J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 33:275-297.
- LIU, J-Z., BLANCAFLOR, E.B. & NELSON, R.S. 2005. The tobacco mosaic virus 126- kilodalton protein, a constituent of the virus replication complex, alone or within the complex aligns with and traffics along microfilaments. *Plant Physiol* 138:1853-1865

- MALAMY J., CARR J., KLESSIN D. & RASKIN I. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* 250:1002-1004.
- MENDGEN K., HAHN M. & DEISING H. 1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34:367-386.
- MÉTRAUX J., SIGNER H., RYALS J., WARD E., WYSS-BENZ M., GAUDIN J., RASCCHDORF K., SCHMID E., BLUM W. & INVERARDI B. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250:1004-1006.
- MÉTRAUX J.P., NAWRATH C. & GENOUD T. 2002. Systemic acquired resistance. *Euphytica* 124: 237-243.
- MUZIO, M., POLENTAUTTI, N., BOSISIO, D., MANOJ KUMAR, P.P. Y MANTOVANI, A. 2000) Toll-like receptor family and signalling pathway. *Biochem. Society Trans.* 28, parte 5.
- NAKASHITA H., YOSHIOKA K., YOSUDA M., NITTA T., ARAI Y., YOSHIDA S. & YAMAGUCHI I. 2002. Probenazole induces systemic acquired resistance in tobacco through salicylic acid accumulation. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 61:197-203.
- NELSON, R.S. 2005. Movement of viruses to and through plasmodesmata. In K Oparka, ed, *Plasmodesmata*. Blackwell Publishing, Oxford, pp 188211
- NISHIMURA M.T., STEIN M., HOU B.-H., VOGEL J.P., EDWARDS H. & SOMERVILLE S.C. 2003. Loss of a callose synthase results in salicylic acid-dependent disease resistance. *Science* 301:969-972.
- PEART, J.R., COOK, G., FEYS, B.J., PARKER, J.E. & BAULCOMBE, D.C. 2002a. An *EDS1* orthologue is required for *N*-mediated resistance against *Tobacco mosaic virus*. *Plant J.* 29:569579
- PEART, JR., LU, R., SADANANDOM, A., MALCUIT, I., MOFFETT, P., y cols. 2002b. Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:1086569
- PÉREZ L., RODRÍGUEZ M., RODRÍGUEZ F. & ROSON C. 2003. Efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance against tobacco blue mould caused by *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina*. *Crop protection* 22:405-413.
- PÉREZ L.M., PAVANI M., QUAAS A. & ROCO, A.1994. Umbelliferone and scoparone are synthesised by lemon seedlings in the hypersensitive response against *Alternaria alternata*, *Trichoderma harzianum* and other elicitors. *Fitopatologia* 29:94-101.
- QUINT, M., MIHALJEVIC, R., DUSSLE, CM., XU, ML., MELCHINGER, AE. & LÜBBERSTEDT, T. 2002. Development of RGA-CAPS markers and genetic mapping of candidate genes for sugarcane mosaic virus resistance in maize. *Theor Appl Genet* 105:355363
- REICHEL, C. & BEACHY, RN. 1999. The role of the ER and cytoskeleton in plant viral trafficking. *Trends Plant Sci* 4:458462
- RYALS J.A., NEUENSCHWANDER U.H., WILLITS M.G., MOLINA A., STEINER H.Y. & HUNT M.D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8:1809-1819.
- SANTA CRUZ, S. 1999. Perspective: phloem transport of viruses and macromolecules What goes in must come out. *Trends Microbiol.* 7: 23741.
- SIEDOW J.N., RHOADS D.M., WARD G.C. & LEVINGS C.S. 1995. The relationship between the mitochondrial gene T-urf13 and fungal pathotoxin sensitivity in maize. *Biochim. Biophys. Acta* 1271:235-240.
- SMART M.G., AIST J.R., & ISRAEL H.W. 1986. Structure and function of wall appositions. 1. General histochemistry of papillae in barley (*Hordeum vulgare*) coleoptiles attacked by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *Can. J. Bot.* 64:793-801.
- SMITH-BECKER J., KEEN N.T., & BECKER, J.O. 2003. Acibenzolar-S-methyl induces resistance to *Colletotrichum lagenarium* and cucumber mosaic virus in cantaloupe. *Crop Protection* 22: 769-774.
- SOLOMON-BLACKBURN, RM. & BARKER, H. 2001. A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A & V in potato: genes, genetics and mapped locations. *Heredity* 86: 816
- SORIANO, JM., VILANOVA, S., ROMERO, EC., YACER, G. Y BADENES, M.L. 2005. Characterization and mapping of NBS-LRR resistance gene analogs in apricot (*Prunus armeniaca* L.)*Theor Appl Genet.* 110: 980989
- SOYLU S., BAYSAN Ó. & SOYLU E.M. 2003. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. *Plant Science* 165:1069-1075.
- STANGE, C., MATUS. J.T., ELORZA, A. & ARCE-JOHNSON P. 2004. Identification and characterization of a novel N gene homologue in tobacco plants. *Functional Plant Biology* 31: 149158.
- STICHER L., MAUCH-MANI B., & MÉTRAUX J.P. 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35:235-270.
- TAKAHASHI, H., KANAYAMA, Y., ZHENG, MS., KUSANO, T., HASE, S. y cols. (2004). Antagonistic interactions between the SA and A signalling pathways in Arabidopsis modulate expression of defense genes and gene-for-gene resistance to cucumber mosaic virus. *Plant Cell Physiol.* 45: 8039
- TON J., JAKAB G., TOQUIN V., FLORS V., IAVICOLI A., MAEDER M.N., METRAUX J.-P., & MAUCH-MANI B.. 2005. Dissecting the β -Aminobutyric Acid Induced Priming Phenomenon in Arabidopsis. *The Plant Cell* 17:987-999.
- VAN KAN J.A.L., COZIENSEN T., DANHASH N. & DE WIT P.J.G.M. 1995. Induction of tomato stress protein mRNA by ethephon, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylate. *Plant Mol. Biol.* 27:1205-1213.
- VAN LOON L., BAKKER, P., & PIETERSE, C. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Ann.*

- Rev. Phytopathol. 36:453-483.
- VAN LOON L.C. & VAN KAMMEN, A. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' and Samsun NN'. II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology* 40:199-211.
- WAIGMANN, E., UEKI, S., TRUTNYEVA, K., Y CITOVSKEY, V. 2004. The ins and outs of non-destructive cell-to-cell and systemic movement of plant viruses. *Crit Rev Plant Sci* 23:195250.
- WANG C., CHIN C.-K. & GIANFANGA T. 2000. Relationship between cutin monomers and tomato resistance to powdery mildew infection. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 57:55-61.
- WEI G., KLOPPER, J.W., & TUZUN S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant-growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81:1508-1512
- WHITHAM, S., DINESH-KUMAR, S.P., CHOI, D., HEHL, R., CORR, C. & BAKER, B. 1994. The product of the Tobacco Mosaic Virus resistance gene N: similarity to Toll and the interleukin-1 receptor. *Cell* 78: 1101-1115.
- WOLF, S., DEOM, CM., BEACHY, RN. & LUCAS, WJ. 1989. Movement protein of tobacco mosaic virus modifies plasmodesmatal size exclusion limit. *Science* 246:377379
- XU, Q., WEN, X. & DENG, X. 2005. Isolation of TIR and non TIR NBS-LRR resistance gene analogues and identification of molecular markers linked to a powdery mildew resistance locus in chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt). *Theor Appl Genet.* 2:1-12.
- XUE L., CHAREST P.M. & JABAJI-HARE S.H. 1998. Systemic induction of peroxidases, 1,3- β -glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology* 88:359-365.
- YAO K., DE LUCA V. & BRISSON N. 1995. Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The Plant Cell* 7:1787-1799.
- YOSHIOKA K., NAKASHITA H., KLESSIG, D.F., & YAMAGUCHI I. 2001. Probenazole induces systemic acquired resistance in *Arabidopsis* with a novel type of action. *The Plant Journal* 25:149-157.