

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS DE LA VIDA



**Catabolismo de poliaminas mediado por *AtPAO1*,
miRNAs e inmunidad vegetal en el patosistema
*Arabidopsis-Pseudomonas***

Tesis para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias de la Vida

Presenta:

Bióloga Araceli Rivera Rodríguez

Codirectores:

Dra. Margarita Rodríguez y Domínguez Kessler

Dr. Enrique González Pérez

Sinodales:

Dra. Catalina Arenas Huertero

Dr. Cesare Moisés Ovando Vázquez

Dr. Mauricio Comas García

Dra. Nadia Saderi

San Luis Potosí, S. L. P., 21 de septiembre de 2026



Catabolismo de poliaminas mediado por AtPAO1, miRNAs e inmunidad vegetal en el patosistema Arabidopsis-Pseudomonas, © 2026

by Araceli Rivera Rodríguez

is licensed under CC BY-NC-ND 4.0.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Proyecto de investigación realizado en:

Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo (TL-101) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Financiamiento:

El presente trabajo de tesis se realizó con el financiamiento del Proyecto Ciencia de Frontera “Metabolismo de poliaminas, especies reactivas de oxígeno y fitohormonas en la encrucijada de respuestas locales y sistémicas al estrés biótico en *Arabidopsis thaliana*: un enfoque fenotípico, funcional y metabolómico”, con número de convenio FORDECYT-PRONACES/1564453/2020 y con el apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (Secihti), mediante la beca No. 827002.

Agradecimientos

Contenido
Índice de figuras
Índice de tablas

Abreviaturas

ABA: Ácido abscísico.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

cDNA: DNA complementario.

AOs: Amina oxidasas.

ARF: Factores de respuesta a auxina.

RNA: Ácido ribonucleico.

mRNA: RNA mensajero.

AUX: Auxinas.

Cad: Cadaverina.

CAT: Catalasa.

CuAO: Diamina oxidasa dependiente de cobre.

DAMPs: Patrones moleculares asociados a daño.

DEGs: Genes diferencialmente expresados.

ETI: Inmunidad Mediada por Efectores.

ETS: Susceptibilidad Activada por Efectores.

FAD: Flavín Adenín Dinucleótido.

FDR: Tasa de Falsos Descubrimientos.

HR: Respuesta hipersensible.

JA: Ácido Jasmónico.

logFC: Cambio de expresión en escala logarítmica.

MAPKs: Proteína Quinasa Activada por Mitógenos.

miRNA: microRNA, moléculas pequeñas de RNA no codificantes.

NLR: Receptores de unión a nucleótidos ricos en repeticiones de leucina.

ODC: Ornitina descarboxilasa.

PAMPs: Patrones Moleculares Asociados a Patógenos.

PAOs: Poliamina Oxidasas.

PCD: Muerte Celular Programada.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

PR: Proteínas Relacionadas con Patogénesis.

PRRs: Receptores de reconocimiento de patrones.

PTI: Inmunidad Mediada por Patrones.

Put: Putrescina.

RNA-seq: Secuenciación de RNA.

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno.

RT-qPCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real con Transcripción Inversa.

SOD: Superóxido Dismutasa.

Spd: Espermidina.

Spm: Espermina.

tSpm: Termoespermina.

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

Resumen

Las plantas poseen mecanismos moleculares complejos de defensa frente a patógenos, regulados por cascadas de señalización en las que las poliaminas, moléculas policatiónicas esenciales, actúan como mediadores clave de la respuesta al estrés. Aunque el catabolismo de poliaminas es fundamental para la inmunidad vegetal, su relación con la regulación postranscripcional mediada por miRNAs sigue siendo poco conocida. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar miRNAs y genes blancos asociados a la defensa en la línea mutante *Atpao1-1* de *Arabidopsis thaliana*, que presenta una deficiencia en el catabolismo citoplásmico de la espermina (Spm). Se utilizaron plantas silvestres (WT) y la mutante *Atpao1-1*, de 15 días, inoculadas con *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*), suplementadas con Spm, o bien en cotratamientos de Spm + *Pst*. Los análisis de expresión relativa revelaron que la alteración del catabolismo en *Atpao1-1* se asocia a una reprogramación transcripcional que afecta principalmente la expresión de miRNAs y de genes que codifican proteínas implicadas en rutas hormonales, en el estado redox y en la respuesta de susceptibilidad. En particular, la menor expresión de genes como *CYP710A1*, *ATGRXS13*, *AAO1* y *AtNAC6* en *Atpao1-1* después de la infección, en contraste con su expresión en la WT, sugiere que la inhibición de estos factores, posiblemente de susceptibilidad, favorece la resistencia de la mutante *Atpao1-1* frente a *Pst*. De manera interesante, la suplementación con Spm indujo la expresión de los miRNAs ath-miR5658, ath-miR5631 y ath-miR159a en el fondo mutante *Atpao1-1*, pero no en la WT. Por otro lado, la Spm indujo la expresión de los genes *ATGRXS13*, *MYB33*, *RPS5* y *TIR1* únicamente en la WT. El análisis de correlación de Spearman mostró en la WT correlaciones negativas entre *RPS5*–ath-miR472, *TIR1*–ath-miR393 y *PARG2*–ath-miR408-5p; esas asociaciones se perdieron en la línea mutante *Atpao1-1*. Los pares *AAO1*–ath-miR5631 y *CYP710A1*–ath-miR159b-5p mostraron patrones inversos entre WT y la mutante *Atpao1-1*. En conjunto, este trabajo amplía la comprensión de cómo el

catabolismo de poliaminas afecta la inmunidad vegetal, revelando una interacción compleja entre la degradación de estas moléculas y la expresión de genes de defensa y de susceptibilidad.

Abstract

Plants possess complex molecular defense mechanisms against pathogens, regulated by signaling cascades in which polyamines, essential polycationic molecules, act as key mediators of the stress response. Although polyamine catabolism is fundamental to plant immunity, its relationship with miRNA-mediated post-transcriptional regulation remains poorly understood. This study aimed to characterize miRNAs and their target genes associated with defense in the *Atpao1-1* mutant line of *Arabidopsis thaliana*, which exhibits a deficiency in cytoplasmic spermine (Spm) catabolism. Wild-type (WT) and *Atpao1-1* 15-day-old plants were used, following inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*), supplementation with Spm, or Spm + *Pst* co-treatments. Relative expression analyses revealed that altered polyamine catabolism in *Atpao1-1* is associated with transcriptional reprogramming that primarily affected miRNA expression and genes encoding proteins involved in hormonal pathways, redox homeostasis, and susceptibility responses. In particular, the lower expression of genes such as *CYP710A1*, *ATGRXS13*, *AAO1*, and *AtNAC6* in *Atpao1-1* following infection, compared with their expression in the WT, suggests that the reduced expression of these genes, which may function as susceptibility factors, contributes to the enhanced resistance of the *Atpao1-1* mutant to *Pst*. Interestingly, Spm supplementation induced the expression of ath-miR5658, ath-miR5631, and ath-miR159a in the *Atpao1-1* mutant background, but not in the WT. Conversely, Spm induced the expression of *ATGRXS13*, *MYB33*, *RPS5*, and *TIR1* exclusively in the WT. Spearman correlation analysis identified negative correlations for the *RPS5*–ath-miR472, *TIR1*–ath-miR393, and *PARG2*–ath-miR408-5p pairs in the WT, whereas these associations were absent in the *Atpao1-1* mutant. In contrast, the *AAO1*–ath-miR5631 and *CYP710A1*–ath-miR159b-5p pairs displayed opposite correlation patterns between the WT and *Atpao1-1*. Taken together, this work expands

the understanding of how cytoplasmic polyamine catabolism impacts plant immunity, revealing a complex interaction between polyamine oxidation and the expression of defense and susceptibility genes.

Introducción

Inmunidad vegetal

En la naturaleza, las plantas se encuentran constantemente en interacción con una amplia variedad de patógenos, entre los que se incluyen virus, hongos, bacterias, oomicetos y plantas parásitas. La presión selectiva ejercida por estas interacciones ha favorecido la evolución de mecanismos complejos de defensa para adaptarse y sobrevivir en condiciones de estrés biótico (Li et al., 2023; Wang et al., 2020; Yu et al., 2024).

Las plantas responden a los patógenos mediante un sistema inmunitario innato, activado por los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) en la superficie celular que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y, a su vez, activan la inmunidad activada por patrones moleculares (PTI). Esta respuesta restringe la patogenicidad. Sin embargo, los patógenos han evolucionado para evadir o suprimir la PTI mediante efectores moleculares que desencadenan la susceptibilidad activada por efectores (ETS). Las plantas, en respuesta, han desarrollado receptores intracelulares con motivos repetidos ricos en leucina (NLR) que detectan efectores y activan la inmunidad mediada por efectores (ETI) (Ngou et al., 2022).

Actualmente, la PTI y la ETI se consideran componentes inmunitarios que han coevolucionado en diversas plantas y constituyen elementos interdependientes de un sistema unificado que convergen para proporcionar una respuesta inmunitaria (**Figura 1**). Estos procesos son complejos y están finamente regulados por cascadas de señalización que incluyen la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y el flujo de iones, como el calcio, que actúan como segundos mensajeros y desencadenan respuestas clave para la inmunidad vegetal. Además,

intervienen componentes moleculares, como los factores de transcripción y las vías de señalización hormonal, que, en conjunto, dirigen la defensa frente a diversos patógenos (Yu et al., 2024).

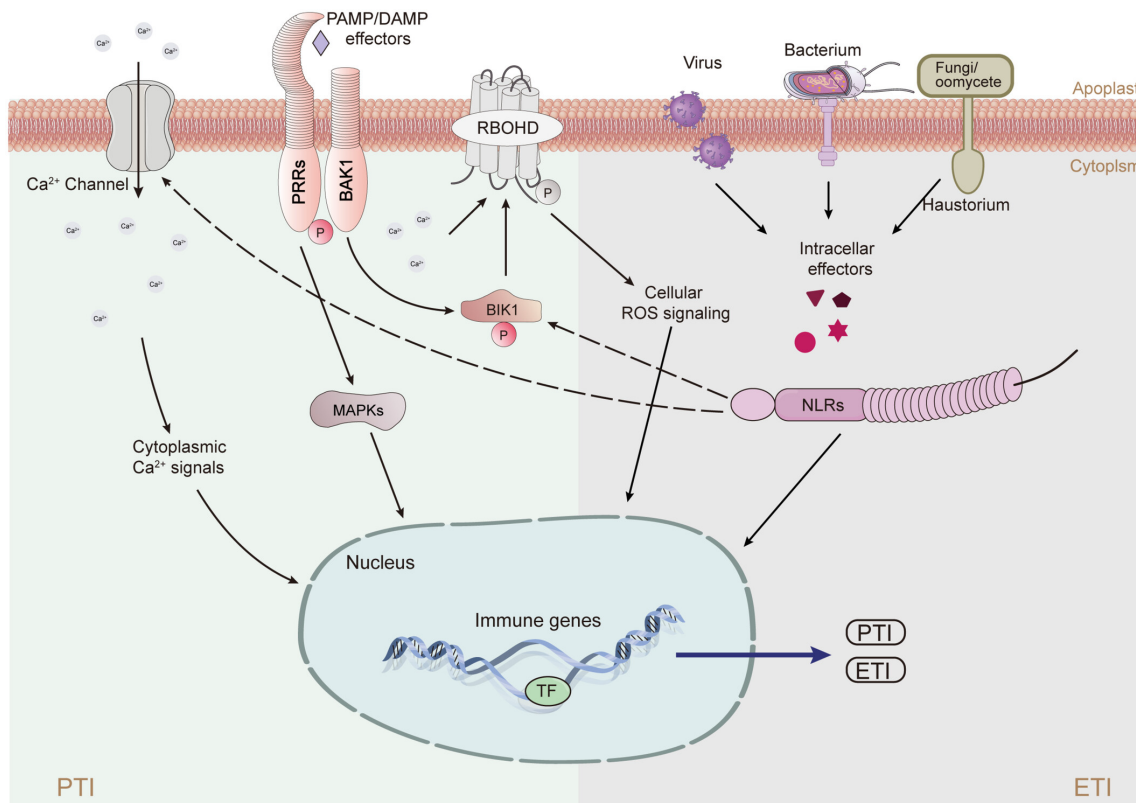


Figura 1. Descripción general de las redes de señalización inmune en las plantas. Los patrones asociados a patógenos (PAMPs) y los patrones moleculares asociados a daños (DAMPs) son reconocidos por los receptores de reconocimiento de patógenos (PRR) en la superficie celular, lo que desencadena la inmunidad mediada por PAMPs (PTI), activa las cascadas de señalización, aumenta la concentración de calcio (Ca^{2+}) y la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS). Los effectores producidos por los patógenos son reconocidos por los receptores intracelulares, lo que desencadena la inmunidad activada por effectores (ETI). Imagen tomada y modificada de Yu et al., 2024.

Interacción entre *Arabidopsis thaliana* - *Pseudomonas syringae*

Pseudomonas syringae es una bacteria fitopatógena Gram-negativa que presenta forma bacilar y flagelos polares. Las cepas de *P. syringae* infectan una amplia variedad de plantas; estas diferentes cepas se clasifican en patovares de acuerdo con el rango de hospederos que infectan. En contacto con la planta, *P. syringae* muestra inicialmente un crecimiento epífito y posteriormente, penetra a través de aperturas naturales como los estomas o por heridas de las plantas, y se multiplica en los espacios intercelulares, lo cual provoca lesiones acuosas, necrosis y clorosis en plantas susceptibles. Esta bacteria es ampliamente utilizada como organismo modelo para el estudio de las interacciones planta-patógeno, en particular, el patovar *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*) es muy estudiado por su virulencia y para comprender los mecanismos de infección bacteriana (Katagiri et al., 2002; Xin & He, 2013).

La virulencia de *Pst* se atribuye principalmente a la acción coordinada del sistema de secreción tipo III (Type III Secretion System, T3SS), mediante el cual transloca proteínas efectoras al interior de las células vegetales para suprimir las respuestas de defensa, así como la producción de la fitotoxina coronatina, que imita la acción del jasmonato y favorece la colonización del tejido vegetal. En conjunto, estas características han consolidado a esta cepa como referencia para investigar los mecanismos de virulencia bacteriana y la regulación de la inmunidad vegetal (Katagiri et al., 2002; Xin & He, 2013).

Poliaminas y su catabolismo

Las poliaminas son moléculas pequeñas policatiónicas con dos o más grupos amino en su estructura, las cuales están presentes en todos los organismos vivos y son esenciales para su crecimiento y desarrollo. En las plantas, las poliaminas están relacionadas con diversos procesos fisiológicos, los cuales incluyen la embriogénesis, la organogénesis, el desarrollo floral, el crecimiento del tubo polínico, el desarrollo y la maduración de frutos, la senescencia de las hojas y la respuesta al estrés biótico y abiótico. Con respecto al estrés biótico, participan en la generación de una molécula señal, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), como producto del catabolismo de las poliaminas, que puede inducir la expresión génica en respuesta al estrés o provocar la muerte celular programada (PCD) (Blázquez, 2025; Napieraj et al., 2023).

Las principales poliaminas son la diamina putrescina (Put), la triamina espermidina (Spd), la tetramina espermina (Spm), así como su isómero estructural, la termoespermina (tSpm) (Takahashi, 2016). En los tejidos vegetales, la abundancia relativa de estas poliaminas depende de la especie, la etapa de desarrollo, la distribución entre diferentes órganos y las condiciones de crecimiento, incluidas las situaciones de estrés biótico o abiótico (Jiménez-Bremont et al., 2014; Pál et al., 2021). La concentración de las poliaminas aumenta en tejidos vegetales infectados por patógenos de diferentes estilos de vida (biotróficos, hemibiotróficos y necrotróficos) y estos incrementos dependen de un fino control transcripcional, traduccional y postraduccional de los genes y proteínas implicados en su metabolismo. Se ha observado que estos cambios en los niveles de poliaminas forman parte de la respuesta defensiva de la planta ante la infección (Gonzalez et al., 2021; Jiménez-Bremont et al., 2014). Los niveles intracelulares de poliaminas dependen de su biosíntesis, catabolismo, transporte y conjugación con otras moléculas.

El catabolismo de poliaminas (**Figura 2**) está mediado por dos clases de enzimas: las amina oxidasas (AOs) dependientes de cobre y las poliamina oxidasas (PAOs) dependientes de flavina (FAD). Las AOs catalizan la oxidación de Put y de cadaverina (Cad), generando 4-aminobutanal, amoníaco (NH_3) y H_2O_2 . Las PAOs se clasifican según el tipo de catabolismo que presentan: terminal o de retroconversión. En el catabolismo terminal, la reacción convierte Spd o Spm en 4-aminobutanal o N-(3-aminopropil)-4-aminobutanal, respectivamente, y produce 1,3-diaminopropano y H_2O_2 . Por otro lado, el catabolismo de retroconversión convierte la Spm en Spd y la Spd en Put, con la producción de 3-aminopropanal y H_2O_2 (Takahashi, 2016; Yang et al., 2024).

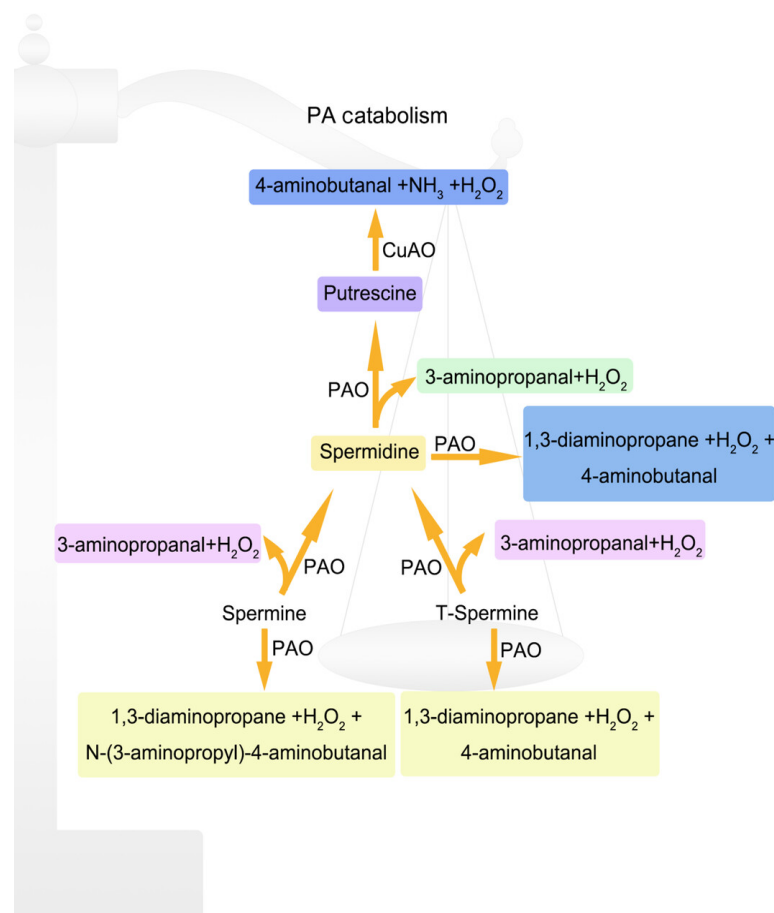


Figura 2. Catabolismo de PAs en plantas mediado por enzimas oxidasas. Abreviaturas: CuAO, diamino oxidasas dependiente de cobre; PAO, poliamina oxidasas. Imagen tomada y modificada de Yang et al., 2024.

En la planta modelo *A. thaliana* se han descrito cinco genes (*AtPAO1* a *AtPAO5*) que codifican poliamina oxidasas; las enzimas *AtPAO1* y *AtPAO5* se localizan en el citoplasma, mientras que *AtPAO2*, *AtPAO3* y *AtPAO4* son peroxisomales (Jasso-Robles et al., 2020; Takahashi et al., 2010). La expresión y la actividad de estos genes se modulan según su patrón espacial y temporal, el tipo de tejido y las condiciones ambientales, incluidas las situaciones de estrés.

MicroRNAs como reguladores postranscripcionales

Los microRNAs (miRNAs) son una clase de RNA pequeños no codificantes, generalmente de 20 a 22 nucleótidos (nt) de longitud; se encuentran presentes en animales y plantas. Regulan negativamente la expresión génica mediante la escisión de los RNA mensajeros (mRNAs) blancos o la represión de su traducción (Bajczyk et al., 2023; Ledda et al., 2020). La biogénesis de los miRNA (**Figura 3**) se inicia en el núcleo. Cada miRNA se origina a partir de un gen *MIR*, que es transcrito por la RNA polimerasa II (Pol II). El transcrito inicial, denominado miRNA primario (pri-miRNA) presenta una estructura secundaria estable de tallo-bucle. Posteriormente, el pri-miRNA es procesado por una RNasa tipo III, conocida como DICER-like-1 (DCL1), lo que da lugar al pre-miRNA, que conserva la estructura tallo-bucle. Este es procesado nuevamente por DCL1, lo que genera un dúplex miRNA/miRNA*. Para su estabilidad, estos productos son metilados en el extremo 3' por la metiltransferasa de RNA Hua Enhancer1 (HEN1). Posteriormente, el dúplex es exportado al citoplasma mediante la proteína Hasty (HST). En el citoplasma, el dúplex se separa y la cadena de miRNA se incorpora al complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC), donde se encuentran proteínas argonautas (Ago) que dirigen la escisión del RNA mensajero o reclutan proteínas para inhibir la traducción (Curaba et al., 2014; Z. Li et al., 2018). Los miRNAs desempeñan un papel fundamental en diversos procesos biológicos de las plantas, por ejemplo, en el desarrollo y crecimiento, en la morfogénesis de órganos, en la

señalización hormonal y en la transducción de señales, en respuesta a estímulos ambientales y a estrés biótico o abiótico. En el estrés biótico, se ha reportado que intervienen en la inmunidad innata y en la resistencia de las plantas frente a infecciones causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos. Los ataques de patógenos inducen o reprimen la expresión de miRNAs, que, a su vez, regulan la expresión de genes clave en la defensa de la planta (Luo et al., 2024; Yin et al., 2019; Zhang et al., 2011).

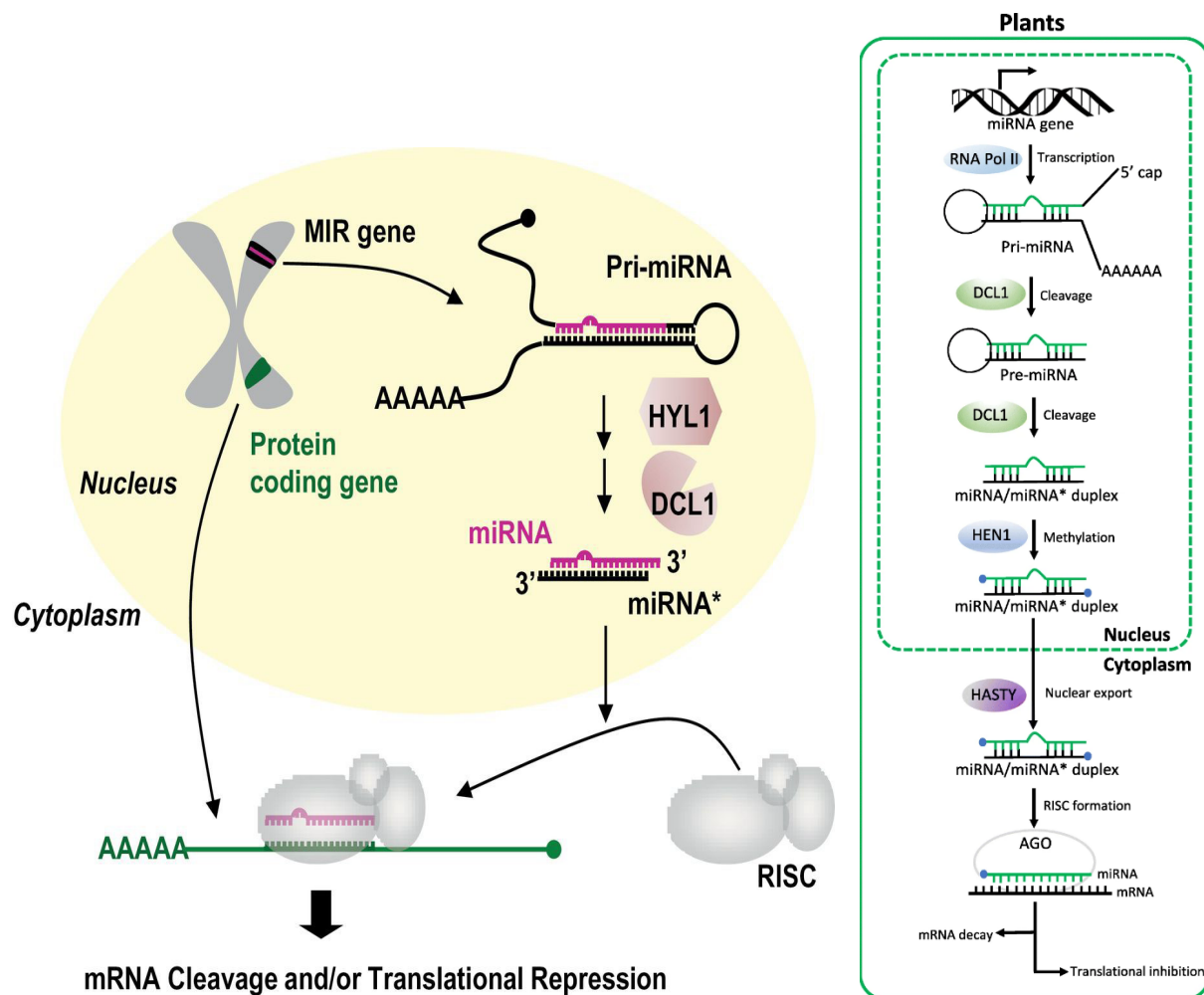


Figura 3. Un modelo simplificado de la biogénesis y la función de los miRNA en las plantas. Modelo simplificado de la biogénesis y de la función de los miRNA en las plantas. Los miRNA se sintetizan a partir de la transcripción del gen *MIR*, cuya estructura secundaria de tallo-bucle es reconocida y procesada por un complejo proteico que contiene HYPONASTIC LEAVES1 (HYL1) y DICER-LIKE1 (DCL1). Una vez exportado al exterior del núcleo, el miRNA

se incorpora al complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC) para activar la regulación postranscripcional de uno o varios genes diana mediante un mecanismo de apareamiento de bases. Imagen editada y tomada de Curaba et al., 2014; Li et al., 2018.

Además, los miRNAs están implicados, directa o indirectamente, en la biosíntesis y en las vías de señalización de las hormonas vegetales. Actúan regulando factores de transcripción u otros elementos que controlan genes de biosíntesis, o bien silenciando directamente genes de las rutas de señalización. Fitohormonas como las auxinas (AUX), el ácido abscísico (ABA) y el ácido jasmónico (JA) son moduladas por miRNAs; a su vez, estas hormonas coordinan la inmunidad de las plantas frente a patógenos mediante la activación de genes de defensa específicos (Luo et al., 2024; Yin et al., 2019).

La función de los miRNAs en la resistencia a enfermedades se describió por primera vez en la interacción entre *A. thaliana* y la bacteria *P. syringae* (Navarro et al., 2006). En este estudio se reportó que la expresión del miR393 se induce por la percepción de la flagelina bacteriana, lo que conduce a la regulación negativa de los receptores de auxina y a la resistencia bacteriana. En otro reporte usando el mismo modelo de interacción *A. thaliana* y *P. syringae* se identificó que se expresan diferencialmente los miR160, miR167, miR390 y miR393 los cuales se encuentran regulando genes implicados en la vía de señalización de auxinas, por ejemplo miR160 y miR167 se dirigen a los factores de respuesta a auxina (*ARF*), miR393 se induce por el elicitor bacteriano flg22 y se dirige a los receptores de auxina *TIR1*, *AFB2* y *AFB3*, dando como resultado una regulación a la baja de los receptores y posteriormente suprimiendo la señalización de auxina. Las auxinas promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que puede ocasionar un aumento de la virulencia o de la susceptibilidad al patógeno (Ding et al., 2024; Luo et al., 2024; Zhang et al., 2011). Existen otros reportes que demuestran que varios miRNAs desempeñan un papel

importante en la inmunidad innata de *A. thaliana*, como miR472, miR398b, miR863 y miR400 (Boccarda et al., 2014a; Li et al., 2010; Niu et al., 2016; Park et al., 2014).

Antecedentes

Espermina (Spm) y PAOs en respuesta a estrés biótico

Las poliaminas libres, como la Spm, actúan como moléculas de señalización que regulan la expresión de genes que codifican proteínas implicadas en la defensa vegetal, como peroxidasas, proteínas PR ácidas, MAPKs, entre otras (Walters, 2003). La acumulación de Spm, así como su oxidación en el patosistema *A. thaliana* – *P. viridiflava*, se ha asociado con cambios globales en la expresión génica. Muchos de los genes regulados participan en la percepción del patógeno y en la activación de respuestas de defensa, lo que contribuye a la resistencia de las plantas frente a *P. viridiflava* (Gonzalez et al., 2011).

Otra forma en que se encuentran las poliaminas es conjugada con ácidos hidroxicinámicos; la acumulación de estas formas conjugadas puede afectar el desarrollo de microorganismos al ejercer un efecto antimicrobiano. Otro punto interesante en respuesta al estrés biótico es la oxidación de Spm a través de las PAOs, ya que juegan un papel importante al mediar la señalización y defensa mediante la generación de H_2O_2 lo que lleva a una respuesta hipersensible (HR) en el sitio de infección, y esto hace que la planta evite la propagación del patógeno (Jiménez-Bremont et al., 2014; Walters, 2003).

Asimismo, se ha descrito una vía de señalización dependiente de Spm en *A. thaliana*, durante la interacción con el virus del mosaico del pepino (CMV), en la cual el H_2O_2 derivado de la oxidación de Spm puede inducir la expresión de genes de defensa y de diversos factores de transcripción (Mitsuya et al., 2009).

También se ha descrito que el catabolismo de poliaminas mediado por PAOs puede regular otras vías implicadas en la producción de ROS, en particular la derivada de la actividad de la

NADPH oxidasa, y esto, a su vez, repercute en la respuesta de defensa de la planta (Jasso-Robles et al., 2020).

En este contexto, se describió que en el patosistema *A. thaliana*–*P. syringae* pv. *tomato* DC3000, los genes *AtPAO1* y *AtPAO2* se inducen después de la infección. Asimismo, se reportó que la alteración de la expresión de estos genes en líneas mutantes simples y dobles modifica significativamente la homeostasis de ROS en la planta. Mutantes como *Atpao1-1* presentan alteraciones en los niveles de H₂O₂ y de superóxido (O^{2•−}), así como en la actividad de la NADPH oxidasa (RBOH) y de enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). Se reportó que estas mutaciones también afectan la expresión de genes relacionados con la producción de ROS como *AtRBOHD*, *AtRBOHF*, *AtPRX33* y *AtPRX34*, lo que indica que la actividad de las PAOs repercute en múltiples componentes del metabolismo redox durante la interacción con el patógeno. En términos de resistencia, la línea mutante *Atpao1-1* mostró títulos bacterianos menores que el ecotipo silvestre Col-0 a las 72 horas postinfección (hpi) (**Figura 4**), lo que sugiere que la alteración de la función de *AtPAO1* influye en la capacidad de la planta para limitar la proliferación de *Pst*.

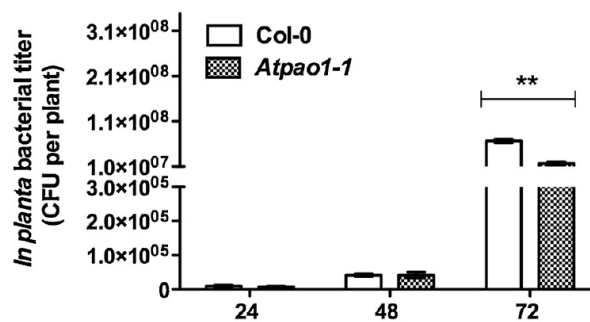


Figura 4. Títulos bacterianos en la línea mutante *Atpao1-1* inoculada con *Pst*. Se inocularon plántulas de 15 días con *Pst* y se estimó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) a las 24, 48 y 72 hpi en la línea mutante *Atpao1-1*. Como control se utilizó *A. thaliana* silvestre, ecotipo Col-0. Los valores son medias ± SE de tres réplicas. Los asteriscos indican valores que difieren a $p \leq 0.01$ (**) según el ANOVA de una vía seguido de la prueba de

Dunnett. Los experimentos se repitieron dos veces con resultados similares. Imagen tomada y editada de Jasso-Robles et al., 2020.

Justificación

A pesar de la importancia de las poliaminas en la defensa vegetal, existen pocos estudios que vinculen los miRNAs con la regulación de sus niveles homeostáticos o, inversamente, que analicen cómo las poliaminas modulan el perfil de los miRNAs. Se ha reportado una expresión diferencial de diversos miRNAs en el patosistema *A. thaliana*-*P. syringae*; sin embargo, el mecanismo mediante el cual el catabolismo de poliaminas influye en esta respuesta postranscripcional permanece inexplorado.

Por ello, resulta de gran interés identificar los miRNAs implicados en la inmunidad de la planta y en las vías de señalización hormonal mediadas por poliaminas. Bajo esta premisa, el estudio del fondo mutante *Atpao1-1* representa un modelo ideal, ya que esta línea, afectada en el catabolismo citoplásmico de la espermina (Spm), presenta un fenotipo de resistencia incrementada frente a *Pst*. Evaluar los miRNAs con expresión diferencial en esta mutante y sus posibles genes blancos permitirá identificar mecanismos potencialmente asociados con la reprogramación de la expresión génica y con el fenotipo de resistencia observado en la mutante *Atpao1-1*.

Hipótesis

Objetivos

Metodología

Resultados y discusión

Conclusiones

Referencias bibliográficas

- Aboobucker, S. I., & Suza, W. P. (2019). Why do plants convert sitosterol to stigmasterol? In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00354>
- Adams-Phillips, L., Briggs, A. G., & Bent, A. F. (2010). Disruption of poly(ADP-ribosylation) mechanisms alters responses of Arabidopsis to biotic stress. *Plant Physiology*, 152(1), 267–280. <https://doi.org/10.1104/pp.109.148049>
- Adams-Phillips, L., Wan, J., Tan, X., Dunning, F. M., Meyers, B. C., Michelmore, R. W., & Bent, A. F. (2008). Discovery of ADP-ribosylation and other plant defense pathway elements through expression profiling of four different Arabidopsis–Pseudomonas R-avr interactions. *Molecular plant-microbe interactions*, 21(5), 646-657.
- Bajczyk, M., Jarmolowski, A., Jozwiak, M., Pacak, A., Pietrykowska, H., Sierocka, I., Swida-Barteczka, A., Szewc, L., & Szweykowska-Kulinska, Z. (2023). Recent Insights into Plant miRNA Biogenesis: Multiple Layers of miRNA Level Regulation. In *Plants* (Vol. 12, Number 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12020342>
- Baldrich, P., Campo, S., Wu, M. T., Liu, T. T., Hsing, Y. I. C., & Segundo, B. S. (2015). MicroRNA-mediated regulation of gene expression in the response of rice plants to fungal elicitors. *RNA Biology*, 12(8), 847–863. <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1050577>
- Biniaz, Y., Tahmasebi, A., Afsharifar, A., Tahmasebi, A., & Pocza, P. (2022). Meta-Analysis of Common and Differential Transcriptomic Responses to Biotic and Abiotic Stresses in Arabidopsis thaliana. *Plants*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/plants11040502>
- Blázquez, M. A. (2025). *Annual Review of Plant Biology Polyamines: Their Role in Plant Development and Stress*. 15. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070623>
- Boccaro, M., Sarazin, A., Thiébeauld, O., Jay, F., Voinnet, O., Navarro, L., & Colot, V. (2014a). The Arabidopsis miR472-RDR6 Silencing Pathway Modulates PAMP- and Effector-Triggered Immunity through the Post-transcriptional Control of Disease Resistance Genes. *PLoS Pathogens*, 10(1). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003883>
- Boccaro, M., Sarazin, A., Thiébeauld, O., Jay, F., Voinnet, O., Navarro, L., & Colot, V. (2014b). The Arabidopsis miR472-RDR6 Silencing Pathway Modulates PAMP- and Effector-Triggered Immunity through the Post-transcriptional Control of Disease Resistance Genes. *PLoS Pathogens*, 10(1). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003883>
- Cabianca, A., Ruthes, A. C., Pawlowski, K., & Dahlin, P. (2022). Tomato Sterol 22-desaturase Gene CYP710A11: Its Roles in Meloidogyne incognita Infection and Plant Stigmasterol Alteration. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23). <https://doi.org/10.3390/ijms232315111>

- Contreras, M. P., Lüdke, D., Pai, H., Toghiani, A., & Kamoun, S. (2023). NLR receptors in plant immunity: making sense of the alphabet soup. *The EMBO Reports*, 24(10). <https://doi.org/10.15252/embr.202357495>
- Curaba, J., Singh, M. B., & Bhalla, P. L. (2014). MiRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 65, Number 6, pp. 1425–1438). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru002>
- Dai, X., Zhuang, Z., & Zhao, P. X. (2018). PsRNATarget: A plant small RNA target analysis server (2017 release). *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W49–W54. <https://doi.org/10.1093/nar/gky316>
- Dever, T. E., & Ivanov, I. P. (2018). Roles of polyamines in translation. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 293, Number 48, pp. 18719–18729). American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.003338>
- Ding, T., Li, W., Li, F., Ren, M., & Wang, W. (2024). microRNAs: Key Regulators in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stresses via Endogenous and Cross-Kingdom Mechanisms. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Number 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25021154>
- Gao, Y., Feng, B., Gao, C., Zhang, H., Wen, F., Tao, L., Fu, G., & Xiong, J. (2022). The Evolution and Functional Roles of miR408 and Its Targets in Plants. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Number 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23010530>
- Griebel, T., & Zeier, J. (2010). A role for β -sitosterol to stigmasterol conversion in plant–pathogen interactions. *The Plant Journal*, 63(2), 254–268.
- Gonzalez, M. E., Jasso-Robles, F. I., Flores-Hernández, E., Rodríguez-Kessler, M., & Pieckenstain, F. L. (2021). Current status and perspectives on the role of polyamines in plant immunity. In *Annals of Applied Biology* (Vol. 178, Number 2, pp. 244–255). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/aab.12670>
- Gonzalez, M. E., Marco, F., Minguet, E. G., Carrasco-Sorli, P., Blázquez, M. A., Carbonell, J., Ruiz, O. A., & Pieckenstain, F. L. (2011). Perturbation of spermine synthase gene expression and transcript profiling provide new insights on the role of the tetraamine spermine in Arabidopsis defense against pseudomonas viridiflava. *Plant Physiology*, 156(4), 2266–2277. <https://doi.org/10.1104/pp.110.171413>
- Gupta, A., Sarkar, A. K., & Senthil-Kumar, M. (2016). Global transcriptional analysis reveals unique and shared responses in arabidopsis thaliana exposed to combined drought and pathogen stress. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAY2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00686>
- Jasso-Robles, F. I., Gonzalez, M. E., Pieckenstain, F. L., Ramírez-García, J. M., Guerrero-González, M. de la L., Jiménez-Bremont, J. F., & Rodríguez-Kessler, M. (2020). Decrease of Arabidopsis PAO activity entails increased RBOH activity, ROS content and altered

- responses to *Pseudomonas*. *Plant Science*, 292. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110372>
- Jiang, C., Fan, Z., Li, Z., Niu, D., Li, Y., Zheng, M., Wang, Q., Jin, H., & Guo, J. (2020). *Bacillus cereus* AR156 triggers induced systemic resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 by suppressing miR472 and activating CNLs-mediated basal immunity in *Arabidopsis*. *Molecular Plant Pathology*, 21(6), 854–870. <https://doi.org/10.1111/mpp.12935>
- Jiang, C. H., Li, Z. J., Zheng, L. Y., Yu, Y. Y., & Niu, D. D. (2023). Small RNAs: Efficient and miraculous effectors that play key roles in plant–microbe interactions. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 24, Number 8, pp. 999–1013). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/mpp.13329>
- Jiménez-Bremont, J. F., Marina, M., Guerrero-González, M. de la L., Rossi, F. R., Sánchez-Rangel, D., Rodríguez-Kessler, M., Ruiz, O. A., & Gárriz, A. (2014). Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 5, Number MAR). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00095>
- Jones-Rhoades, M. W., Bartel, D. P., & Bartel, B. (2006). MicroRNAs and their regulatory roles in plants. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 57, pp. 19–53). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105218>
- Katagiri, F., Roger, T., & Sheng, Y. H. (2002). The *Arabidopsis*–*Thaliana*–*Pseudomonas*–*Syringae*–*Inte*. *The Arabidopsis Book*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1199/tab.0039>
- King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). *Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein*. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44(2), 301–307.
- Kim, J. H., Woo, H. R., Kim, J., Lim, P. O., Lee, I. C., Choi, S. H., ... & Nam, H. G. (2009). Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving miR164 in *Arabidopsis*. *Science*, 323(5917), 1053–1057.
- La Camera, S., L'Haridon, F., Astier, J., Zander, M., Abou-Mansour, E., Page, G., Thurow, C., Wendehenne, D., Gatz, C., Métraux, J. P., & Lamotte, O. (2011). The glutaredoxin ATGRXS13 is required to facilitate *Botrytis cinerea* infection of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Journal*, 68(3), 507–519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04706.x>
- Lee, M. H., Jeon, H. S., Kim, H. G., & Park, O. K. (2017). An *Arabidopsis* NAC transcription factor NAC4 promotes pathogen-induced cell death under negative regulation by microRNA164. *New Phytologist*, 214(1), 343–360.
- Ledda, B., Ottaggio, L., Izzotti, A., Sukkar, S. G., & Miele, M. (2020). Small RNAs in eucaryotes: new clues for amplifying microRNA benefits. In *Cell and Bioscience* (Vol. 10, Number 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0370-3>

- Li, S., Shi, T., Lyu, M., Wang, R., Xu, A., Chen, L., Luo, R., Sun, Y., Guo, X., Liu, J., Wang, H., & Gao, Y. (2023). Transcriptomic Analysis Revealed Key Defense Genes and Signaling Pathways Mediated by the *Arabidopsis thaliana* Gene SAD2 in Response to Infection with *Pseudomonas syringae* pv. Tomato DC3000. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24044229>
- Li, Y., Zhang, Q. Q., Zhang, J., Wu, L., Qi, Y., & Zhou, J. M. (2010). Identification of microRNAs involved in pathogen-associated molecular pattern-triggered plant innate immunity. *Plant Physiology*, 152(4), 2222–2231. <https://doi.org/10.1104/pp.109.151803>
- Li, Z., Xu, R., & Li, N. (2018). MicroRNAs from plants to animals, do they define a new messenger for communication? 06 Biological Sciences 0604 Genetics. In *Nutrition and Metabolism* (Vol. 15, Number 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0305-8>
- Liu, X., Liu, S., Chen, X., Prasanna, B. M., Ni, Z., Li, X., He, Y., Fan, Z., & Zhou, T. (2022). Maize miR167-ARF3/30-polyamine oxidase 1 module-regulated H₂O₂ production confers resistance to maize chlorotic mottle virus. *Plant Physiology*, 189(2), 1065–1082. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac099>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{-C_T} Method. *METHODS*, 2(5), 402–408. <https://doi.org/10.1006/m>
- Luo, C., Bashir, N. H., Li, Z., Liu, C., Shi, Y., & Chu, H. (2024). Plant microRNAs regulate the defense response against pathogens. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1434798>
- McClerklin, S. A., Lee, S. G., Harper, C. P., Nwumeh, R., Jez, J. M., & Kunkel, B. N. (2018). Indole-3-acetaldehyde dehydrogenase-dependent auxin synthesis contributes to virulence of *Pseudomonas syringae* strain DC3000. *PLoS Pathogens*, 14(1). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006811>
- Millar, A. A., & Gubler, F. (2005). The *Arabidopsis* GAMYB-like Genes, MYB33 and MYB65, are microRNA-regulated genes that redundantly facilitate anther development. *Plant Cell*, 17(3), 705–721. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.027920>
- Millar, A. A., Lohe, A., & Wong, G. (2019). Biology and function of miR159 in plants. In *Plants* (Vol. 8, Number 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants8080255>
- Mitsuda, N., & Ohme-Takagi, M. (2009). Functional analysis of transcription factors in *Arabidopsis*. In *Plant and Cell Physiology* (Vol. 50, Number 7, pp. 1232–1248). <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp075>
- Mitsuya, Y., Takahashi, Y., Berberich, T., Miyazaki, A., Matsumura, H., Takahashi, H., Terauchi, R., & Kusano, T. (2009). Spermine signaling plays a significant role in the defense response of *Arabidopsis thaliana* to cucumber mosaic virus. *Journal of Plant Physiology*, 166(6), 626–643. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.08.006>

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473.
- Napieraj, N., Janicka, M., & Reda, M. (2023). Interactions of Polyamines and Phytohormones in Plant Response to Abiotic Stress. In *Plants* (Vol. 12, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12051159>
- Narusaka, Y., Narusaka, M., Seki, M., Umezawa, T., Ishida, J., Nakajima, M., Enju, A., & Shinozaki, K. (2004). *Crosstalk in the responses to abiotic and biotic stresses in Arabidopsis: Analysis of gene expression in cytochrome P450 gene superfamily by cDNA microarray*. www.gsc.riken.go.jp/Plant/index.html
- Navarro, L., Dunoyer, P., Jay, F., Arnold, B., Dharmasiri, N., Estelle, M., Voinnet, O., & Jones, J. D. G. (2006). A Plant miRNA Contributes to Antibacterial Resistance by Repressing Auxin Signaling. *Science*, 312(5772), 434–436. <https://doi.org/10.1126/science.1125317>
- Ngou, B. P. M., Ding, P., & Jones, J. D. G. (2022). Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. In *Plant Cell* (Vol. 34, Number 5, pp. 1447–1478). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac041>
- Niu, D., Lii, Y. E., Chellappan, P., Lei, L., Peralta, K., Jiang, C., Guo, J., Coaker, G., & Jin, H. (2016). MiRNA863-3p sequentially targets negative immune regulator ARLPKs and positive regulator SERRATE upon bacterial infection. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms11324>
- Nuruzzaman, M., Sharoni, A. M., & Kikuchi, S. (2013). Roles of NAC transcription factors in the regulation of biotic and abiotic stress responses in plants. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 4, Number SEP). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00248>
- Pál, M., Szalai, G., Gondor, O. K., & Janda, T. (2021). Unfinished story of polyamines: Role of conjugation, transport and light-related regulation in the polyamine metabolism in plants. In *Plant Science* (Vol. 308). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110923>
- Pan, J., Huang, D., Guo, Z., Kuang, Z., Zhang, H., Xie, X., Ma, Z., Gao, S., Lerda, M. T., Chu, C., & Li, L. (2018). Overexpression of microRNA408 enhances photosynthesis, growth, and seed yield in diverse plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(4), 323–340. <https://doi.org/10.1111/jipb.12634>
- Park, Y. J., Lee, H. J., Kwak, K. J., Lee, K., Hong, S. W., & Kang, H. (2014). MicroRNA400-guided cleavage of pentatricopeptide repeat protein mRNAs renders *Arabidopsis thaliana* more susceptible to pathogenic bacteria and fungi. *Plant and Cell Physiology*, 55(9), 1660–1668. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu096>
- Poidevin, L., Unal, D., Belda-Palazón, B., & Ferrando, A. (2019). Polyamines as quality control metabolites operating at the post-transcriptional level. *Plants*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/plants8040109>

- Reiser, L., Bakker, E., Subramaniam, S., Chen, X., Sawant, S., Khosa, K., Prithvi, T., & Berardini, T. Z. (2024). The Arabidopsis Information Resource in 2024. *Genetics*, 227(1). <https://doi.org/10.1093/genetics/iyae027>
- Reyes, J. L., & Chua, N. H. (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination. *Plant Journal*, 49(4), 592–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02980.x>
- Tahmasebi, A., Khahani, B., Tavakol, • Elahe, Afsharifar, A., Muhammad, •, & Shahid, S. (2021). *Microarray analysis of Arabidopsis thaliana exposed to single and mixed infections with Cucumber mosaic virus and turnip viruses*. <https://doi.org/10.1007/s12298>
- Takahashi, Y. (2016). The role of polyamines in plant disease resistance. *Environmental Control in Biology*, 54(1), 17–21. <https://doi.org/10.2525/ecb.54.17>
- Takahashi, Y., Cong, R., Sagor, G. H. M., Niitsu, M., Berberich, T., & Kusano, T. (2010). Characterization of five polyamine oxidase isoforms in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Reports*, 29(9), 955–965. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0881-1>
- Tanwar, U. K., Stolarska, E., Paluch-Lubawa, E., Mattoo, A. K., Arasimowicz-Jelonek, M., & Sobieszczuk-Nowicka, E. (2022). Unraveling the genetics of polyamine metabolism in barley for senescence-related crop improvement. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 585–603. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.006>
- Valitova, J., Renkova, A., Beckett, R., & Minibayeva, F. (2024). Stigmasterol: An Enigmatic Plant Stress Sterol with Versatile Functions. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Number 15). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25158122>
- Walters, D. (2003). Resistance to plant pathogens: Possible roles for free polyamines and polyamine catabolism. In *New Phytologist* (Vol. 159, Number 1, pp. 109–115). <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00802.x>
- Wang, K., Senthil-Kumar, M., Ryu, C. M., Kang, L., & Mysore, K. S. (2012). Phytosterols play a key role in plant innate immunity against bacterial pathogens by regulating nutrient efflux into the apoplast. *Plant Physiology*, 158(4), 1789–1802. <https://doi.org/10.1104/pp.111.189217>
- Wang, W., Feng, B., Zhou, J. M., & Tang, D. (2020). Plant immune signaling: Advancing on two frontiers. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Vol. 62, Number 1, pp. 2–24). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jipb.12898>
- Xin, X. F., & He, S. Y. (2013). Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000: A model pathogen for probing disease susceptibility and hormone signaling in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 473–498. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102321>
- Yang, H., Fang, Y., Liang, Z., Qin, T., Liu, J. H., & Liu, T. (2024). Polyamines: pleiotropic molecules regulating plant development and enhancing crop yield and quality. In *Plant*

- Biotechnology Journal* (Vol. 22, Number 11, pp. 3194–3201). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/pbi.14440>
- Yin, H., Hong, G., Li, L., Zhang, X., Kong, Y., Sun, Z., Li, J., Chen, J., & He, Y. (2019). MiR156/SPL9 regulates reactive oxygen species accumulation and immune response in *arabidopsis thaliana*. *Phytopathology*, 109(4), 632–642. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0306-R>
- Yu, X. Q., Niu, H. Q., Liu, C., Wang, H. L., Yin, W., & Xia, X. (2024). PTI-ETI synergistic signal mechanisms in plant immunity. In *Plant Biotechnology Journal* (Vol. 22, Number 8, pp. 2113–2128). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/pbi.14332>
- Zhang, W., Gao, S., Zhou, X., Chellappan, P., Chen, Z., Zhou, X., Zhang, X., Fromuth, N., Coutino, G., Coffey, M., & Jin, H. (2011). Bacteria-responsive microRNAs regulate plant innate immunity by modulating plant hormone networks. *Plant Molecular Biology*, 75(1), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9710-8>
- Zhang, X., Wang, W., Wang, M., Zhang, H. Y., & Liu, J. H. (2016). The miR396b of *poncirus trifoliata* functions in cold tolerance by regulating ACC oxidase gene expression and modulating ethylene-polyamine homeostasis. *Plant and Cell Physiology*, 57(9), 1865–1878. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw108>

Anexos

Material suplementario