

# **S**eñalización del ácido jasmónico y el óxido nítrico durante el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*

*Amira Garnica Vergara, Javier Raya González, José López Bucio y Elda Beltrán Peña.*

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH.

## Resumen

Los jasmonatos son compuestos lipídicos de las plantas que median respuestas de defensa y también participan en el desarrollo, la reproducción y el metabolismo. Recientemente, se ha involucrado al ácido jasmónico (AJ) en la modulación de la arquitectura de la raíz. Sin embargo, su mecanismo de acción aún se desconoce. En las hojas en respuesta a una herida se induce la acumulación de óxido nítrico (ON), lo que sugiere que la producción de dicha molécula podría estar conectada con la señalización del AJ. El ON se encuentra presente en las plantas participando como mensajero en diferentes procesos fisiológicos y del desarrollo que incluye la muerte celular programada, la inducción de genes de defensa y la regulación de la arquitectura radicular. Nuestras investigaciones han demostrado que el ON participa en la regulación del sistema radicular en *Arabidopsis thaliana*. En esta revisión se discute el uso de *A. thaliana* como modelo y el potencial que presenta para el aislamiento y caracterización de mutantes involucradas en la señalización por AJ y ON para entender los mecanismos de acción de estas moléculas y la interacción entre ellas en las plantas.

**Palabras clave:** ácido jasmónico (AJ), óxido nítrico (ON), *Arabidopsis thaliana*.

## Abstract

### ***Jasmonic acid and nitric oxide signaling during development of Arabidopsis thaliana***

Jasmonates are lipid compounds of plants that mediate defense responses, development, reproduction, and metabolism. Recently, jasmonic acid (JA) has been involved to act in the modulation of root architecture. However, its mechanism of action remains unknown. In leaves, leaf damage by herbivory or injury causes accumulation of nitric oxide (NO), indicating that NO participate in defense responses associated with JA. ON is present in plants acting as a second messenger in various physiological and developmental processes including programmed cell death, induction of defense genes and root growth. Our research has shown that NO participates in the regulation of root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. In this review, we discuss the importance of using *A. thaliana* as a model research and the identification of mutants defective in the processes regulated by JA and NO towards a better understanding of the mechanisms of action of these molecules and their interaction in plants.

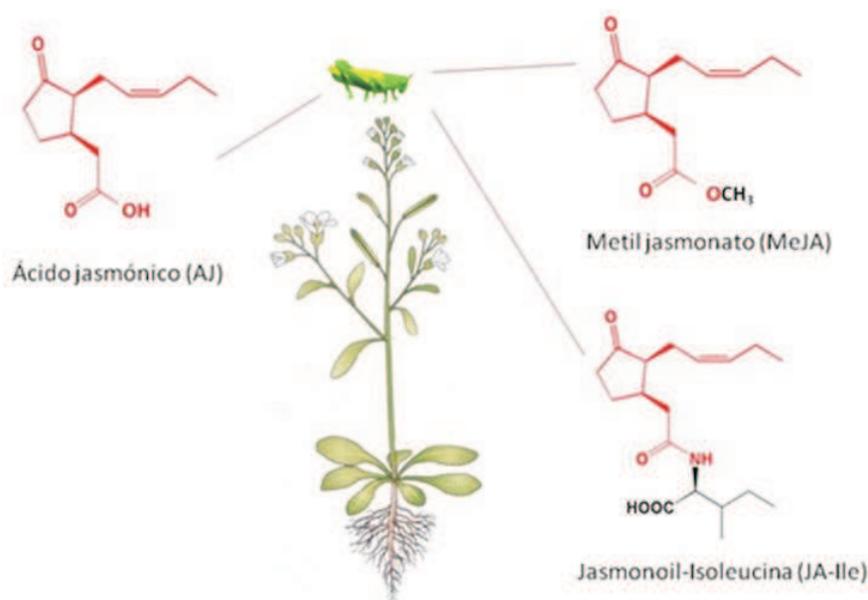
**Key words:** Jasmonic acid (JA), nitric oxide (NO), *Arabidopsis thaliana*.

## Introducción

Las plantas son organismos sésiles que se adaptan y responden a los cambios ambientales mediante la producción de un gran número de compuestos químicos tanto difusibles como volátiles. Entre dichos metabolitos, las hormonas vegetales juegan un papel importante en la fisiología de la planta (Avanci et al., 2010). Los jasmonatos son fitorreguladores que modulan respuestas de estrés y del desarrollo (Li et al., 2004; Buchanan-Wollaston et al., 2005; Glazebrook 2005; Howe y Jander, 2008; Browse 2009) Esto ocurre mediante una reprogramación de la expresión génica a gran escala (Mandaokar et al., 2006). Sin embargo, no se han determinado los mecanismos fisiológicos y celulares por los cuales los jasmonatos controlan dichos procesos. Recientemente, se determinó la participación del óxido nítrico (ON) en la respuesta del AJ al estrés por heridas (Wünsche et al., 2011). El ON es un segundo mensajero involucrado en diferentes procesos celulares y fisiológicos en las plantas, incluyendo el cierre de estomas (Neill et al., 2002), la floración (He et al., 2004) y la germinación (Beligni y Lamattina, 2000). Además, el ON modula la expresión de genes involucrados en las vías de señalización de otras hormonas. En *A. thaliana* se ha observado que el ON regula la expresión de genes que participan en la síntesis y respuesta a jasmonatos (Orozco-Cardenas y Ryan, 2002). Sin embargo se desconocen las posibles interacciones entre los jasmonatos y el ON en otros programas de desarrollo, por ejemplo, durante el desarrollo de la raíz.

## Jasmonatos

El ácido jasmónico y sus metabolitos se conocen colectivamente como jasmonatos. Estas son moléculas importantes en la señalización por efecto del estrés biótico y abiótico. Los jasmonatos pertenecen a una familia de oxilipinas, ácidos grasos con uno o más átomos de oxígeno derivados de la oxigenación enzimática de ácidos grasos tri-insaturados de 16 y 18 carbonos. El jasmonato mejor caracterizado es el ácido jasmónico (AJ) el cual puede ser modificado por conjugación y metilación y se ha reportado que juega un papel crucial en la reproducción (Avanci et al., 2010). El metil jasmonato (MeJA) es un compuesto volátil que media la comunicación intracelular y entre diferentes plantas, modulando respuestas de defensa. Por otra parte, el jasmonoil-isoleucina (JA-Ile) es la forma activa de la molécula implicada en la señalización de los jasmonatos en hojas y posiblemente en las flores de *Arabidopsis* (Acosta y Farmer, 2010) (Fig. 1).



**Figura 1.** Estructura de los jasmonatos y su función en las plantas. El metil jasmonato es un compuesto volátil que participa en señales entre plantas en respuesta a herbivoría, mientras que el jasmonoil-Isoleucina y el ácido jasmónico son los compuestos que activan la inmunidad vegetal contra insectos y regulan el desarrollo.

## Biosíntesis de los jasmonatos

La síntesis de jasmonatos ocurre principalmente en las hojas, donde los ácidos grasos son liberados de la membrana plasmática de los plástidos por acción de enzimas fosfolipasas y desaturasas. El ácido graso sufre reacciones de oxigenación, oxidación y ciclación

por medio de una lipoxigenasa (LOX2), la aleno óxido sintasa (AOS) y la aleno óxido ciclasa (AOC), respectivamente. Así se forma el ácido 12-oxo-fitodienoico (OPDA), principal precursor de los jasmonatos, el cual se exporta hacia el peroxisoma, único orgánulo donde ocurre la  $\beta$ -oxidación, reduciéndose por la enzima ácido oxo-fitodienoico reductasa 3 (OPR3). Posteriormente, este compuesto es sometido a tres ciclos de  $\beta$ -oxidación para producir el ácido jasmónico (AJ). El AJ es exportado al citosol por un mecanismo desconocido donde ocurren las diferentes reacciones metabólicas que darán origen a los distintos jasmonatos (Wasternack 2007) (Fig. 2). Entre las principales transformaciones del AJ se encuentra la metilación en el carbono 1 (C1), para producir el compuesto volátil metil-jasmonato (MeJA), el cual está involucrado en la señalización entre plantas. Otra modificación relevante es la conjugación del grupo carboxilo al aminoácido isoleucina para formar el jasmonoil-isoleucina (JA-Ile). En *A. thaliana*, el JA-Ile se sintetiza por una enzima codificada por el gen *JAR1*. Las mutantes en el locus *jar1* se caracterizan por una respuesta disminuida al AJ (Zhang y Turner, 2008). Estos resultados indican que el JA-Ile es una señal primaria importante para las respuestas de defensa y desarrollo.

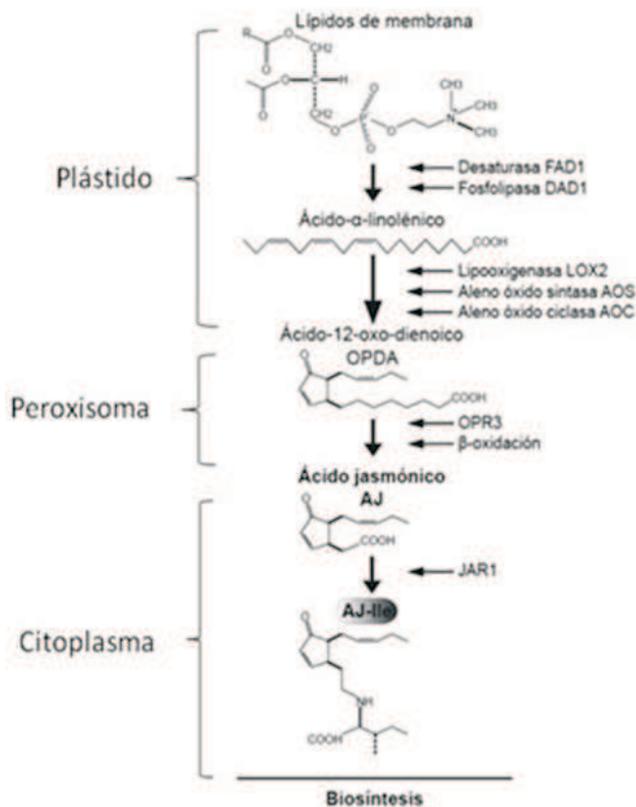
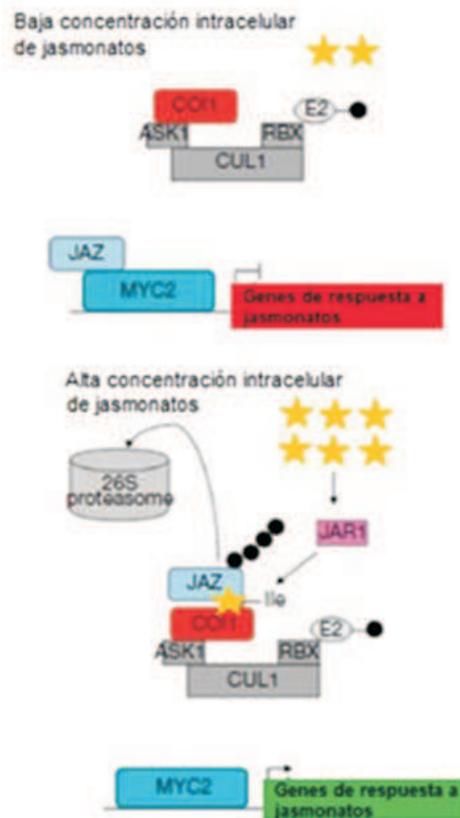


Figura 2.- Vía de síntesis de los jasmonatos. La síntesis de los jasmonatos ocurre a partir del ácido  $\alpha$ -linolénico. Se muestran las principales enzimas de la vía (Modificada de Browse 2009).

**Figura 3.-** El complejo SCF<sup>COI1</sup> es requerido para la señalización de jasmonatos. El complejo SCF<sup>COI1</sup> está formado por la proteína de la familia SKP1 ASK1, la proteína de la familia de las CULINAS CUL1 y la de la caja E COI1. La unión de jasmonoil-Isoleucina (JA-Ile) al receptor CORONATINE-INSENSITIVE1 (COI1) promueve la unión de los represores de jasmonatos ZIM-Domain (JAZ) y su ubiquitinación, resultando así en la liberación del factor de transcripción MYC2 y la transcripción de genes de respuesta a jasmonatos (Modificado de Santner y Estelle, 2009).



### Señalización de los jasmonatos

Los jasmonatos y las auxinas, a pesar de ser compuestos químicamente diferentes, comparten algunos elementos en las vías de señalización para su percepción y respuesta en las células (Santner y Estelle, 2009). TIR1 es una proteína tipo F-box que funciona como uno de los receptores en la señalización de auxinas. Existen cerca de 700 genes que codifican para proteínas tipo F-box en *A. thaliana*. La mutante de *A. thaliana* denominada *coronatine-insensitive1* (*coi1*) permitió definir el papel de los jasmonatos en el crecimiento de la planta (Feys et al., 1994). La coronatina es una fitotoxina relacionada estructural y biológicamente con el Ja-Ile. La mutante *coi1* antes mencionada es resistente tanto a la coronatina como al MeJA y su principal característica es la esterilidad masculina. COI1 codifica para una proteína tipo F-box estrechamente relacionada con TIR1, lo que sugiere que al igual que los represores auxínicos ampliamente estudiados, la respuesta a los jasmonatos implicaría la degradación de un grupo de represores de los jasmonatos conocidos como JAZ que poseen el dominio ZIM dependiente de SCF<sup>COI1</sup> (Santner y Estelle, 2009). El complejo multi-

proteico SCF pertenece al tipo *E3 ubiquitina ligasa* que media la ubiquitinación de proteínas para su degradación por el proteosoma 26S. Dicho complejo contiene varias proteínas F-box que se unen directamente con el blanco de la ubiquitinación. COI1 se une a las proteínas JAZ, que actúan como reguladores negativos de la transcripción de genes de respuesta a jasmonatos, las cuales interactúan con el factor de transcripción tipo bHLH (hélice-vuelta-hélice básica) MYC2 interfiriendo con la función de este activador transcripcional (Chini et al., 2007). Una gran cantidad de genes JAZ son auto regulados en respuesta a jasmonatos, indicando un mecanismo de retroalimentación negativa. Análisis bioquímicos han mostrado que la coronatina se une al complejo COI1-JAZ con alta afinidad, donde el jasmonato conjugado a isoleucina (JA-Ile) es la molécula activa (Fonseca et al., 2009). Por lo tanto, el complejo SCF<sup>COI1</sup> sirve como receptor para el JA-Ile para estabilizar la interacción entre la proteína tipo F-box y su sustrato, lo cual permite la degradación del represor JAZ y la liberación del factor de transcripción MYC2, ocurriendo entonces la activación de los genes de respuesta a jasmonatos (Fig. 3) (Katsir et al., 2008).

## Funciones de los jasmonatos

### Inmunidad vegetal

La señalización por jasmonatos es esencial para la activación de las respuestas de defensa en plantas en contra de insectos y herbívoros (Browse 2005). La síntesis de jasmonatos se activa por herbivoría, que comúnmente daña a las hojas y otros tejidos, así como por heridas causadas por un daño mecánico. Esto ocurre mediante la inducción de cientos de genes que codifican para proteínas para la síntesis y percepción de los jasmonatos, así como proteínas implicadas en el flujo de iones y en la adaptación al estrés en general (Reymond et al., 2000). La producción de jasmonatos induce la formación de tricomas en hojas, los cuales confieren protección a la lamina foliar (Yan et al., 2007; Yoshida et al., 2009). Otra función esencial de los jasmonatos es en la activación de la inmunidad en contra de patógenos que se alimentan de tejidos muertos como es el caso de algunos hongos necrotróficos (Browse 2009), o de ciertas bacterias que causan enfermedades a la planta (Gutjahr y Paszkowski, 2009).

### Regulación del desarrollo

Los jasmonatos AJ y MeJA son esenciales para la maduración del polen, la elongación de los filamentos de los estambres y la apertura de los estambres que permite la liberación del polen (Delker et al., 2006). Existe una evidencia clara de lo anterior, sustentada en el fenotipo de las flores en las mutantes de *Arabidopsis* afectadas en la síntesis de AJ y en el receptor de jasmonatos COI1, que muestran esterilidad masculina. La mutante *coi1* es incapaz de producir polen viable (von Malek et al., 2002). Otro proceso importante del desarrollo en la que participan los jasmonatos es la regulación de la arquitectura de la raíz. El tratamiento de plantas de *A. thaliana* con AJ causa el acortamiento de la raíz primaria y promueve

la formación de raíces laterales. Adicionalmente, se ha observado que las mutantes afectadas en los componentes de la síntesis y de la transducción de señales dependientes de COI1 presentan una reducción en el crecimiento de la raíz primaria (Wasternack 2007). La participación del MeJA en la formación de raíces laterales, está relacionada con la biosíntesis de auxinas dependiente del gen *ANTHRANILATE SYNTHASE  $\alpha$ 1 (ASA1)* y la atenuación en el transporte de auxinas al disminuir los niveles de expresión de los transportadores de eflujo de auxinas PIN1 y PIN2 (Sun et al., 2009). Otra actividad biológica de los jasmonatos es la inducción de la senescencia (Schommer et al., 2008), la cual se atribuye a la regulación de genes que codifican para proteínas de mantenimiento de los cloroplastos y de síntesis de carbohidratos (Wasternack 2007).

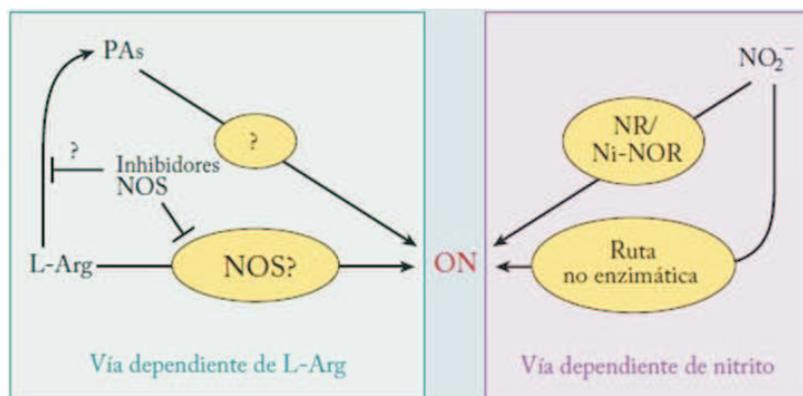
## Óxido nítrico

El óxido nítrico (ON) es un radical libre debido a que contiene un electrón desapareado que se sintetiza en los animales por una familia de enzimas denominadas óxido nítrico sintasas (NOS) a partir de L-arginina. El ON tiene una gran importancia biológica en animales en la neurotransmisión, la vasodilatación, la respuesta inmune y en la regulación del consumo de oxígeno en la mitocondria (Stuehr et al., 2004). En años recientes, el ON se ha implicado en la señalización en plantas durante la xilogénesis, la apoptosis, la defensa contra patógenos, la floración, el cierre de los estomas y el gravitropismo (Neill et al., 2003). También se ha reportado que el ON participa en la modulación de la expresión de genes que codifican proteínas para la biosíntesis de AJ y para la interacción con otras rutas hormonales incluyendo las del ácido abscísico, citocininas y etileno (Orozco-Cardenas y Ryan, 2002; Correa-Aragunde et al., 2006), para la fotosíntesis y la apoptosis (Polverari et al., 2003).

## Síntesis de óxido nítrico

Las vías de síntesis del óxido nítrico pueden ser clasificadas como oxidativas o reductoras. La producción de ON por la nitrato reductasa es una reacción reductora; mientras que las que ocurren a partir de L-arginina o poliaminas son rutas oxidativas (Kapuganti et al., 2010). La vía reductora conduce a la producción de ON dependiente de nitrito ( $\text{NO}_2$ ) como sustrato primario, el cual es producido a partir del nitrato ( $\text{NO}_3$ ) por la nitrato reductasa (NR). La NR se encuentra en el citosol. El fenotipo de la doble mutante *nia1 nia2* de *Arabidopsis* muestra que la NR está involucrada en la apertura estomática, la activación de enzimas antioxidantes, la señalización por patógenos, el desarrollo floral, el estrés osmótico, así como la formación de raíces laterales inducida por auxinas (Benamar et al., 2008; Kolbert et al., 2008). También se ha documentado la producción de ON por una proteína membranal (NiNOR) y por la reducción del nitrito en la membrana interna de la mitocondria probablemente vía la citocromo c oxidasa y/o reductasa (Kapuganti et al., 2010). Las vías oxidativas de producción del ON comprenden una actividad parecida a la de la óxido nítrico sintasa (NOS), la cual podría utilizar como sustrato poliaminas e hidroxilaminas. Esta actividad se ha descrito en cloroplastos y peroxisomas y es importante para el desarrollo de la raíz y la

embriogénesis, toxicidad por cadmio y estrés por drogas (Jasid et al., 2006; Tun et al., 2006; Corpas et al., 2009) (Fig. 4).



**Figura 4.** Biosíntesis de ON en plantas. El ON puede ser sintetizado por dos vías, la vía dependiente de nitrito que involucra una ruta enzimática en la que las nitrato reductasa (NR) y la reductasa de nitrito a ON (NiNOR) catalizan la síntesis del ON y otra ruta no enzimática que comprende reacciones químicas de reducción. La vía aún no caracterizada dependiente de L-arginina implica la participación de una enzima similar a la óxido nítrico sintasa (NOS) y otra ruta no descrita que utiliza poliaminas (PAs) como sustrato (Modificada de Besson-Bard et al., 2008).

### Percepción del ON y transducción de la señal en plantas

Aunque hasta la fecha no se ha identificado ningún receptor de ON, por su naturaleza, este radical es muy reactivo y puede interactuar con numerosas proteínas. En células animales, la guanilil ciclasa soluble (sGC) tiene un papel fundamental en la señalización de ON, donde este último se une al dominio hemo de la sGC estimulando la liberación del monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) que a su vez activa distintos blancos celulares. En las plantas, estudios farmacológicos usando inhibidores del ON como el 2-fenil-4,4,5,5-tetrametilimidazol-1-oxi-3-óxido (PTIO) o el 2-(4-carboxifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazol-1-oxi-3-óxido (cPTIO) han implicado al cGMP y a la señalización por ácido abscísico (ABA) río abajo del ON en células guardia de los estomas (Neill et al., 2003). El ON induce un incremento de cGMP y activa cascadas de señalización que modulan la expresión génica (Grün et al., 2006). Una molécula esencial río abajo del cGMP es la ADP ribosa cíclico (cADPR). En células animales, la cADPR estimula la liberación de Ca<sup>2+</sup> intracelular, activando al receptor rianodina (RYR) de los canales de calcio y es posible que un mecanismo de señalización similar ocurra en plantas. En tabaco, el cADPR eleva la expresión genética de la fenilalanina amonio liasa (PAL) y la proteína 1 relacionada con patogénesis (PR-1), que es sensible a los inhibidores del RYR. Los dos genes antes mencionados también son regulados por el ON y los antagonistas de cADPR reducen la expresión de PR-1. El ON causa un incremento en los niveles de Ca<sup>2+</sup> libre, por lo tanto podría actuar a través del cGMP, cADPR y Ca<sup>2+</sup> para promover el cierre de estomas inducido por ABA. La inhibición por cPTIO durante este pro-

ceso inducido por ABA lleva a la inactivación de los canales de  $K^+$  dependientes de  $Ca^{2+}$  y a la activación de los canales de  $Cl^-$ , lo que implicaría fuertemente al ON y el  $Ca^{2+}$  en la cascada de señalización por ABA (Neill et al., 2008). En animales, la S-nitrosilación es un mecanismo de modificación post-traducciona que regula numerosos procesos de señalización y vías metabólicas. En plantas, se ha reportado que la S-nitrosilación de proteínas juega un papel importante en la señalización del ON. En extractos de cultivos de células de *Arabidopsis* tratados con glutatión S-nitrosilado (GSNO), se han aislado proteínas que contienen grupos S-nitrosilados (S-ON) que están involucradas con el estrés oxidativo, señalización, estructura celular y metabolismo (Lindermayr et al., 2005). También es posible que el ON interactúe nitrando residuos de tirosina a través de especies reactivas de nitrógeno como el anión peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) y el dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) que se forman durante el metabolismo del ON en presencia de especies reactivas de oxígeno y centros de metales de transición. La nitración de tirosina de proteínas endógenas ha sido demostrada en líneas antisentido de tabaco para la nitrato reductasa (NiR) donde se observaron cantidades incrementadas de ON (Morot-Gaudry-Talarmain et al., 2002). Estudios recientes mostraron la participación de la proteína cinasa 6 activada por mitógenos (MAPK6) en la señalización por ON, donde se encontró que la MAPK6 y la nitrato reductasa (NIA2), interactúan *in vitro* e *in vivo*. En dicha interacción MAPK6 fosforila a NIA2, aumentando la producción de ON, lo que finalmente condujo a cambios morfológicos en el sistema radicular de *Arabidopsis* (Wang et al., 2010).

## Interacción de los jasmonatos con el ON

Diferentes evidencias han implicado al ON como un modulador en respuestas a heridas y/o estrés mecánico (Garces et al., 2001). En jitomate, la generación de  $H_2O_2$  inducido por herida inhibió la producción de ON y la expresión de genes para la síntesis de ácido jasmónico. Por otra parte, se ha reportado que el ON tiene un papel fundamental en la regulación de la expresión de genes de defensa inducidos por herida durante la patogénesis (Orozco-Cardenas y Ryan, 2002). Estudios realizados en hojas de *Arabidopsis* mostraron que en respuesta a heridas y a tratamientos con AJ, se incrementó la concentración de ON, lo que proporcionó una evidencia del posible entrecruzamiento entre el AJ y el ON (Huang et al., 2004). Actualmente se sabe que tanto el AJ como el ON están involucrados en el desarrollo de la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana* acortando la longitud de la raíz primaria e incrementando el número de raíces laterales (Campos-Cuevas et al., 2007; Sun et al., 2009; Méndez-Bravo et al., 2010). Sin embargo, se desconoce la interacción entre estas moléculas de señalización en la regulación de la arquitectura radicular de *Arabidopsis*, por lo cual sería de gran interés obtener información al respecto debido a que ambas moléculas regulan procesos similares en el desarrollo de la raíz.

## Conclusiones

Los jasmonatos son hormonas ampliamente estudiadas principalmente por su participación en la inmunidad vegetal, en la adaptación al estrés biótico y abiótico y como reguladores de diversos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas (Santner y Estelle, 2009). Como se ha evidenciado, el ON interactúa con el AJ en las respuestas de defensa y por heridas. Con las mutantes de *A. thaliana* como herramienta nuestro grupo reportó la participación de los genes *NIA1* y *NIA2* durante la formación de raíces laterales inducida por alcalmidas (Méndez-Bravo et al., 2010). El aislamiento y caracterización de la mutante *decanamide resistant root1 (drr1)*, reveló posteriormente que el AJ interactúa con las alcalmidas en los procesos de senescencia y desarrollo de la raíz y que esta mutante es resistente a la inhibición del crecimiento de la raíz primaria por el ON (Méndez-Bravo et al., 2010). Estos resultados muestran el enorme potencial que tiene *A. thaliana* para investigaciones en las vías de señalización donde se cuenta con información escasa. Actualmente estamos investigando las posibles interacciones entre el ON y el AJ sobre la arquitectura radicular de *Arabidopsis thaliana*, evaluando la participación del óxido nítrico en la vía de señalización de jasmonatos mediante herramientas genéticas y farmacológicas que nos permitirán esclarecer los mecanismos celulares y moleculares implicados en la interacción del AJ y el ON.

## Bibliografía

- Acosta I.F. y E.E. Farmer. 2010. Jasmonates. The Arabidopsis Book 10.1199/tab. 0129.
- Avanci N.C., D.D. Luche, G.H. Goldaman y M.H.S Goldman. 2010. Jasmonates are phytohormones with multiple functions, including plant defense and reproduction. *Genetics and Molecular Research* 9:484-505.
- Beligni M.V. y L. Lamattina. 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyls elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta* 210:215-221.
- Benamar A., H. Rolletschek, L. Borisjuk, M.H. Avelange-Macherel, G. Curien, M.A. Mostefai, R. Andriantsitohaina y D. Macherel. 2008. Nitrite-nitric oxide control of mitochondrial respiration at the frontier of anoxia. *Biochimica et Biophysica Acta* 1777:1268–1275.
- Besson-Bard A., A. Pugin y D. Wendehenne. 2008. New Insights into Nitric Oxide Signaling in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. 59:21-39.
- Browse J. 2005. Jasmonate: an oxylipin signal with many roles in plants. *Vitamins and Hormones*. 72:431-56.
- Browse J. 2009. Jasmonate passes muster: A receptor and targets for the defense hormone. *Annual Review of Plant Biology* 60:183-205.
- Buchanan-Wollaston V., T. Page, E. Harrison, E. Breeze y P.O. Lim. 2005. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signa-

- ling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 42:567–585.
- Campos-Cuevas J.C., R. Pelagio-Flores, J. Raya-González, A. Méndez-Bravo, R. Ortiz-Castro y J. López-Bucio. 2007. Tissue culture of *Arabidopsis thaliana* explants reveals a stimulatory effect of alkamides on adventitious root formation and nitric oxide accumulation. *Plant Science* 174: 165-173.
- Chini A., S. Fonseca, G. Fernández, B. Adie, J.M. Chico, O. Lorenzo, G. García-Casado, I. López-Vidrier, F.M. Lozano, M.R. Ponce, J.L. Micol y R. Solano. 2007. The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signaling. *Nature* 448:666-671.
- Corpas F.J., J.M Palma, L.A. del Río y J.B. Barroso. 2009. Evidence supporting the existence of L-arginine-dependent nitric oxide synthase activity in plants. *New Phytologist* 184:9–14.
- Correa-Aragunde N., M. Graziano, C. Chevalier y L. Lamattina. 2006. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato. *Journal of Experimental Botany* 57:581-588.
- Delker C., I. Stenzel, B. Hause, O. Miersch, I. Feussne y C. Wasternack. 2006. Jasmonate Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*- Enzymes, Products, Regulation. *Plant Biology* 8:297-306.
- Feys B., C.E. Benedetti, C.N. Penfold y J.C. Turner. 1994. *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. *Plant Cell* 6:751–759.
- Fonseca S., A. Chini, M. Hamberg, B. Adie, A. Porzel, R. Kramell, O. Miersch, C. Wasternack y R. Solano. 2009. (+)-7-*iso*-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate. *Nature Chemical Biology* 5:344-350.
- Garces H., D. Durzan y M.C. Pedroso. 2001. Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany* 87:553–707.
- Glazebrook J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43:205-227.
- Grün S., C. Lindermayr, S. Sell y J. Durner. 2006. Nitric oxide and gene regulation in plants. *Journal of Experimental Botany* 57:507-516.
- Gutjahr C. y U. Paszkowski. 2009. Weights in the Balance: Jasmonic Acid and Salicylic Acid Signaling in Root-Biotroph Interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22:763–772.
- He Y., R.H. Tang, Y. Hao, R.D. Stevens y C.W. Cook. 2004. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition. *Science* 305:1968–1971.
- Howe G.A. y G. Jander. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology* 59:41–66.

- Huang X., K. Stettmaier, C. Michel, P. Hutzler, M.J. Mueller y J. Durner. 2004. Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 218: 938–946.
- Jasid S., M. Simontacchi, C.G. Bartoli y S. Puntarulo. 2006. Chloroplasts as a nitric oxide cellular source. Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins. *Plant Physiology* 142:1246–1255.
- Kapuganti J.G., R.F. Alisadar, M.K. Werner y T.V. Joost. 2010. On the origins of nitric oxide. *Trends in Plant Science* 12:1-9.
- Katsir L., A.L. Schillmiller, P.E. Staswick, S.Y. He y G.A. Howe. 2008. CO11 is a critical component of a receptor for jasmonate and the bacterial virulence factor coronatine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:7100-7105.
- Kolbert Z., B. Bartha y L. Erdei. 2008. Exogenous auxin-induced NO synthesis is nitrate reductase-associated in *Arabidopsis thaliana* root primordia. *Journal of Plant Physiology* 165:967–975.
- Li L., Y. Zhao, B.C. McCaig, B.A. Wingerd, J. Wang, M.E. Whalon, E. Pichersky y G.A. Howe. 2004. The tomato homolog of *Coronatine-Insensitive 1* is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. *Plant Cell* 16:126–143.
- Lindermayr C., G. Saalbach y J. Durner. 2005. Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 137:921–930.
- Mandaokar A., B. Thines, B. Shin, B.M. Lange, G. Choi, Y.J. Koo, Y.J. Yoo, Y.D. Choi, G. Choi y J. Browse. 2006. Transcriptional regulators of stamen development in *Arabidopsis* identified by transcriptional profiling. *Plant Journal* 46:984–1008.
- Méndez-Bravo A., J. Raya-González, L. Herrera-Estrella y J. López-Bucio. 2010. Nitric oxide is involved in alkamide-induced lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* 51:1612-1626.
- Morot - Gaudry - Talarmin Y., P. Rockel, T. Moureaux, I. Quilleré, M. Leydecker, W. Kaiser y J. Morot - Gaudry. 2002. Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco. 21:708-715.
- Neill S.J., R. Desikan, A. Clarke y J.T. Hancock. 2002. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* 128:13-16.
- Neill S.J., R. Desikan y T.T. Hancock. 2003. Nitric oxide signalling in plants. *New Phytologist* 159:11–35.
- Neill S., J. Bright, R. Desikan, J. Hancock, J. Harrison y I. Wilson. 2008. Nitric oxide evolution and perception. *Journal of Experimental Botany* 59:25-35.
- Orozco-Cardenas M.L. y C.A. Ryan. 2002. Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants. *Plant Physiology* 130:487-493.

- Polverari A., B. Molesini, M. Pezzotti, R. Buonauro, M. Marte y M. Delledonne. 2003. Nitric oxide-mediated transcriptional changes in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular- Plant Microbe Interactions* 16:1094-1105.
- Reymond P., H. Weber, M. Damond y E.E Farmer. 2000. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12:707-19.
- Santner A. y M. Estelle. 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling. *Nature* 459:1071-1078.
- Schommer C., J. F. Palatnik, P. Aggarwal, A. Chételat, P. Cubas P. y E.E. Farmer. 2008. Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 Targets. *Plos Biology* 6:1991-2001.
- Stuehr D.J, J. Santolini, Z.Q. Wang, C.C. Wei y S. Adak. 2004. Update on mechanism and catalytic regulation in the NO synthases. *Journal of Biological Chemistry* 279: 36167–36170.
- Sun J., Y. Xu, S. Ye, H. Jiang, Q. Chen, F. Liu, W. Zhou, R. Chen, X. Li, O. Tietz, X. Wu, J.D. Chen, K. Palme y C. Lia. 2009. *Arabidopsis* ASA1 is important for jasmonate-mediated regulation of auxins biosynthesis and transport during lateral root formation. *Plant Cell* 21:1495–1511.
- Tun N.N., C. Santa - Catarina, T. Begum, V. Silveira, W. Handro, E.I. Floh y G.F. Scherer. 2006. Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant and Cell Physiology* 47:346–354.
- von Malek B., E. van der Graaff, K. Schneitz y B. Keller. 2002. The *Arabidopsis* male-sterile mutant *dde2-2* is defective in the ALLENEOXIDE SYNTHASE gene encoding one of the key enzymes of the jasmonic acid biosynthesis pathway. *Planta* 216:187-192.
- Wang P., Y. Du, Y. Li, D. Ren y C. Song. 2010. Hydrogen peroxide-mediated activation of MAP Kinase 6 modulates nitric oxide biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22:2981-2998.
- Wasternack C. 2007. Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany* 100:681-697.
- Wünsche H., I.T. Baldwin y J. Wu. 2011. Silencing NOA1 elevates herbivory-induced jasmonic acid accumulation and compromises most of the carbon-based defense metabolites in *Nicotiana attenuata*. *Journal of Integrative Plant Biology* 53:619-631.
- Yan Y., S. Stolz, A. Chetelat, P. Reymond, M. Pagni, L. Dubugnon y E.E. Farmer. 2007. A downstream mediator in the growth repression limb of the jasmonate pathway. *Plant Cell* 19:2470-2483.
- Yoshida Y., R., Sano, T. Wada, J. Takabayashi y K. Okada. 2009. Jasmonic acid control of GLABRA3 links inducible defense and trichome patterning in *Arabidopsis*. *Development* 136:1039-1048.

Zhang Y. y J.G. Turner. 2008. Wound-Induced endogenous jasmonates stunt plant growth by inhibiting mitosis. Plos One 3:e3699.