



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Pyrrolizidine alkaloid variation in *Jacobaea* hybrids : influence on resistance against generalist and specialist insect herbivores

Cheng, D.

Citation

Cheng, D. (2012, April 18). *Pyrrolizidine alkaloid variation in *Jacobaea* hybrids : influence on resistance against generalist and specialist insect herbivores*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/18695>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/18695>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/18695> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Cheng, Dandan

Title: Pyrrolizidine alkaloid variation in *Jacobaea* hybrids : influence on resistance against generalist and specialist insect herbivores

Date: 2012-04-18

Planten produceren een breed scala van secundaire metabolieten (SMs), zoals glucosiden, saponinen, looistoffen, alkaloiden, etherische oliën en organische zuren (Fraenkel, 1959). Maar veel meer SMs zijn nog niet ontdekt, ramingen van het totale aantal SMS bij planten zijn hoger dan 500.000 (Hadacek, 2002). Er zijn een aantal hypothesen die proberen de SM diversiteit te verklaren en die elkaar niet altijd uitsluiten (zie Hadacek, 2002; Hadacek et al., 2011 en de verwijzingen daar in). Verschillende van deze hypothesen werden naar voren gebracht om de diversiteit van structureel verwante SMs te verklaren in relatie met de verdediging van planten tegen herbivoren. De volgende hypothesen zijn geformuleerd:

1) SMs zijn selectief neutraal. Firn en Jones (2003) ontwikkelden de "Screening Hypothese" die ervan uitgaat dat de meeste SMs geen functie hebben voor planten en dat deze noch kosten of baten hebben voor de plant fitness. Toch wordt de SM diversiteit behouden, omdat het de kans vergroot op de productie van nieuwe actievere verbindingen.

2) SM diversiteit is een gevolg van de 'wapenwedloop' tussen planten en herbivoren. Nieuw ontwikkelde SMs hebben een sterkere afwerende of toxische effecten op herbivoren. Op hun beurt kunnen deze herbivorenmechanismen evolueren om zich aan te passen aan de nieuwe SMs. Deze continue cyclus heeft geresulteerd in de grote diversiteit van SMs die gevonden kunnen worden in planten (Ehrlich en Raven, 1964). Volgens deze theorie kunnen ook structureel verwante SMS verschillen in hun effecten op de insect herbivoren en de SMs die het meest recent ontwikkeld zijn, zouden effectiever moeten zijn dan de oudere SMs (Berenbaum en Feeny, 1981; Miller en Feeny, 1983). Het is echter mogelijk dat deze trend niet te zien is in gespecialiseerde herbivoren, die zich sneller kunnen aanpassen aan nieuwe, meer giftige analogen in hun specifieke waardplanten (Cornell en Hawkins, 2003).

3) Planten profiteren van de SM diversiteit vanwege de synergistische effecten tussen de SMs. Mengsels van SMs zouden meer giftig of afstotend zijn dan enkele SMs (Berenbaum et al., 1991; Dyer et al., 2003; Macel et al., 2005).

4) De SM diversiteit wordt in stand gehouden door een selectie van meerdere herbivoren soorten. Iedere herbivore is gevoelig voor een anders SM en dus zorgt een mengsel van SMs voor een betere verdediging tegen verschillende soorten herbivoren (Mithen et al., 1995; Juenger en Bergelson, 1998; Juenger en Bergelson, 2000; Macel et al., 2005).

Pyrolizidine alkaloiden (PAs) zijn een klasse van SMs, die constitutief worden gevormd in de planten die ze bevatten en een rol spelen in plant-herbivore interacties (Hartmann, 1999). Meer dan 400 PAs zijn geïdentificeerd van ca. 6000 soorten angiospermen (Chou and Fu, 2006). Eerdere studies met behulp van in vitro experimenten met gezuiverde verbindingen hebben aangetoond dat de effecten op de plantenetende insecten kunnen verschillen voor structureel verschillende PAs. Ook werden synergistische effecten van PAs gevonden (Macel et al., 2005). In dit proefschrift werden de PAs in *Jacobaea* (syn. *Senecio*) soorten gekozen als modelsysteem om de selectieve krachten van insect herbivoren op de PA evolutie te bestuderen. Ik heb in vivo experimenten met een *Jacobaea* kruising gebruikt in plaats van willekeurig gekozen genotypen van natuurlijke populaties, omdat F2 hybriden

een grote en onafhankelijke variaties in SM expressie en herbivoren resistentie laten zien. De F2 kruising is afkomstig van een kunstmatige kruising tussen *Jacobaea aquatica* (syn. *Senecio aquaticus*) en *Jacobaea vulgaris* (syn. *Senecio jacobaea*). De kruising omvat ca.100 F₂ hybride genotypen, naast de oudergenotypen van *J. aquatica*, *J. vulgaris* en de twee F₁-hybride genotypen.

De experimentele hoofdstukken van dit proefschrift bestaat uit twee delen: In het eerste deel (hoofdstukken 2 en3) ligt de focus op de PA variatie in de *Jacobaea* hybriden en in het tweede deel (hoofdstukken 4 t/m 6) ligt de nadruk op resistentietegen insectherbivoren en de invloed van PAs op de herbivoren resistentie.

In hoofdstuk 2 heb ik laten zien dat er37 individuele PAs uit de hybride planten geïdentificeerd kunnen worden verdeeld over vier structurele groepen: senecionine-, jacobine-, erucifoline-en otosenine-actige PAs. In de F2 kruising werden transgressie gevonden voor de concentraties van individuele PAs. Ik vond ook dat binnen elk van de vier groepen de individuele PAs covarieerden met betrekking tot de concentratie, maar tussen de verschillende structurele groepen vertoonden de PAs een onafhankelijke segregatie.

In hoofdstuk 3 wordt gevonden dat de planten jacobine-achtige PA aanwezig voor een groter deel als tertiaire aminen aanwezig kunnen zijn dan als N-oxiden. Dit geldt niet voor de andere soorten van PAs. Bovendien, is in individuele planten het aantal tertiaire aminen afhankelijk van het plant genotype. De invloed van genetische variatie op het aandeel van de tertiaire aminen geeft aan dat in de ecologische en evolutionaire studies over PAs (in het bijzonder van Jacobine-achtige PAs in *Jacobaea* en andere soorten) het belangrijk kan zijn om onderscheid te maken tussen de twee PA vormen. In hoofdstuk 4 wordt aangetoond dat *Tyria jacobaeae* (Jacobsvlinder, een specialistische insect herbivoor) eieren legt op planten op alle F₂-hybride genotypen en er geen PA-afstotende effecten op de ovipositie door *T. jacobaeae* worden waargenomen. Daarmee wordt duidelijk aangegeven dat *T. jacobaeae* goed is aangepast aan de beschikbare PAs. Er werd echter gevonden dat de hybriden met lagere concentraties van tertiaire jacobine-achtige PAs minder belegd werden. In Hoofdstuk 5 wordt gemeld dat schade als gevolg van *Frankliniella occidentalis* (Californische trips, een generalistische herbivoor) afnam met toenemende jacobine-achtige (tertiar amine en N-oxiden) PA-concentratie in de planten. De resultaten van een bioassay met *Liriomyza trifolii* (Amerikaanse serpentijn mineervlietenschade, een generalistische insect herbivoor) met planten van de F2 kruising dat het aantal poppen per plant (gecorrigeerd voor omvang van de plant) daalde met toenemende concentratie van otosenine-achtige PAs. De *Jacobaea* hybride familie bleek een goed hulpmiddel om de relatie tussen de PA variatie en herbivoor resistentie te bestuderen, omdat de hybriden grote variatie vertoonden in beide kenmerken. Door middel van drie bioassays, een met een specialist en twee met generalistische insect herbivoren, kon ik zien dat *Jacobaea* hybride genotypen verschilden in de resistentie tegen deze herbivoren en dat deze verschillen gerelateerd waren aan PA variatie in de planten. Niet alle PAs hebben een gelijk effect op de weerstand tegen planten-etende insecten, en het effect van de PAs is sterk afhankelijk van de geteste herbivoor. In alle drie de bioassays zijn meerdere PAs (ten minste 10 op 37 PAs), betrokken bij de weerstand tegen insecten herbivoren. Deze resultaten voldoen niet aan de voorspellingen die gemaakt kunnen worden op basis van de selectief neutrale theorie, maar ze zijn een ondersteuning van de andere drie hypothesen. De resultaten van de drie bioassays van dit onderzoek en hun belang met betrekking tot de vier hypothesen worden samengevat in Tabel 1. De waarnemingen beschreven in dit proefschrift zijn ondersteunend voor het Generalist-Specialist Dilemma, waarin staat dat de verdediging van kwalitatieve verbindingen in planten generalistische herbivoren zal af te schrikken, maar

gespecialiseerde herbivoren zal aan trekken met het gevolg dat deze verschillende selectieve kraschten leiden to een intermediair gehalte aan SM-concentraties (van der Meijden, 1996)

Tabel 1 Overzicht van de relaties tussen pyrrolizidine alkaloiden (PA) concentraties en het gedrag van insecten herbivoren in drie bioassays uitgevoerd met F2 hybriden van een kruising tussen twee *Jacobaea* soorten. De geselecteerde insecten zijn: De Jacobsvlinder (*Tyria jacobaeae*), Californische trips (*Frankliniella occidentalis*), en de Amerikaanse serpentijn mineervlieg (*Liriomyza trifolii*). Voor de analyse zijn de gemiddelde waarden van de genotypegebruikt. Getallen in de cellen zijn de r-waarden van Pearson correlatie tests.

Insect herbivore		Cinnabar moth (Egg batch, N=40)	Thrips (feeding damage, N=98)	Leafminer (pupae/plant size, N=90)
PA concentration	Total PA (tertiary amines)	0.47 **	-0.32 **	-0.08 ns
	Total PA (N-oxides)	0.13 ns	-0.28 **	-0.05 ns
	Senecionine-like PAs	-0.06 ns	-0.18 ns	-0.16 ns
	Jacobine-like PAs (tertiary amines)	0.47 **	-0.30 **	0.09 ns
	Jacobine-like PAs (N-oxides)	0.13 ns	-0.34 ***	0.08 ns
	Erucifoline-like PAs	-0.06 ns	-0.16 ns	0.24 *
Hypotheses	Otosenine-like PAs	0.19 ns	0.03 ns	-0.33 ***
	Selectively neutral theory	-	-	-
	Arms race theory	+	+	+
	Synergistic effects among PAs	+	-	?
PAs' effects different among herbivores		+	+	+

Significance codes: ns; * P: 0.01-0.05; ** P: 0.001-0.01; *** P: < 0.001.

+/-: Test geeft/ geeft geen steun voor de hypothese. ?: The test geeft geen uitsluitel ovr de desbetreffende hypothese

