



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Control of Western flower thrips through jasmonate-triggered plant immunity

Chen, G.

Citation

Chen, G. (2019, June 25). *Control of Western flower thrips through jasmonate-triggered plant immunity*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/74367>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/74367>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/74367> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Chen, G.

Title: Control of Western flower thrips through jasmonate-triggered plant immunity

Issue Date: 2019-06-25

Samenvatting en discussie

Oogsten staan sterk onder druk door aantasting van pathogenen en herbivore insecten. De huidige manier van ongediertebestrijding is voornamelijk afhankelijk van synthetische pesticiden. Deze brengen een groot risico met zich mee voor de gezondheid van mens en milieu. Een alternatieve strategie om om te gaan met pathogenen en herbivoren is het verhogen van de natuurlijke resistentie van de waardplant. Dit is mogelijk door gebruik te maken van metabolieten die de expressie van afweer gerelateerde eigenschappen vergroten (Benhamou, 1996; Stout *et al.*, 2002). Een van zulke elicitors om de afweer tegen insect herbivoren te verhogen is het phytohormoon Jasmonzuur (JA) (Campos *et al.*, 2014). JA reguleert zowel de constitutieve als de induceerbare afweer (Li *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004). Toediening van JA activeert een grote variatie aan chemische en morfologische reacties in de plant die de afweer tegen insect herbivoren vergroten (Thaler *et al.*, 1996; Abe *et al.*, 2009; Maes & Goossens, 2010). Het niveau van zowel constitutieve als induceerbare afweer varieert sterk tussen en binnen planten soorten. Ook kunnen deze afweer mechanismes verschillen in hun aard en omvang tussen bladeren van de plant, hetgeen de voorkeur en prestaties van de herbivoor sterk kan bepalen (Lee *et al.*, 2017). In mijn proefschrift heb ik de mechanismen onderzocht die de variatie in gevoeligheid voor Western flower thrips (WFT) *Frankliniella occidentalis* in gecultiveerde tomaat (*Solanum lycopersicum*) en commerciële chrysanten (*Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat) kunnen verklaren.

Het afweer systeem van planten kan gekaapt worden door pathogene bacteriën, die elicitors van de JA signaal transductie kunnen produceren en zo de plant aanzetten tot het verhogen van hun afweer tegen herbivoren. Daarbij verlaagt de plant door interactie met de SA signaal transductie die de afweer tegen pathogenen ingang zet zijn afweer niveau tegen de pathogeen die deze elicitors produceert. Naast de effecten van JA op de afweer tegen trips heb ik het effect onderzocht van door bacteriën geproduceerde elicitors van de JA signaal transductie op resistentie tegen trips.

In Hoofdstuk 2 heb ik onderzocht of het effect van JA-toediening aan bladeren van tomaat afhangt van de ouderdom en de positie van het blad. ik vond dat toediening van JA de afweer tegen WFT verhoogde. De mate van inductie van deze afweer was sterk afhankelijk van het ontwikkelingsstadium van het blad. In bladeren die zich nog aan het ontwikkelen waren vonden we een veel sterkere inductie dan in bladeren die al volledig gevormd waren op het moment van de JA toediening. De activiteit van het aan afweer gerelateerde eiwit polyphenol oxidase (PPO), de dichtheid van type-VI trichomen en de concentratie van door deze trichomen geproduceerde vluchtige stoffen werden veel sterker geïnduceerd als de bladeren nog niet volledig gevormd waren. Trichomen en de vluchtige stoffen die ze produceren spelen een belangrijke rol in resistentie tegen WFT (Escobar-Bravo *et al.*, 2018).. We veronderstellen daarom dat de sterke inductie hiervan in jonge bladeren mede kan verklaren waarom deze minder aantrekkelijk waren voor WFT. Vanuit evolutionair perspectief is het te begrijpen dat jonge bladeren beter door de plant verdedigd worden. Op de eerste plaats dragen ze meer bij aan de fitness van een plant dan oudere bladeren die minder fotosynthetisch actief zijn en een kortere levensduur hebben en op de tweede plaats hebben jonge bladeren hogere stikstof concentraties waardoor ze veelal aantrekkelijker zijn voor insect herbivoren (Constabel *et al.*, 2000). Hoe planten de sterkte van de JA- gebonden afweer reguleren is niet duidelijk. Er zijn verschillende hypothesen die dit fenomeen mogelijk kunnen verklaren. De eerste is dat de zich nog ontwikkelende bladeren als sink functioneren voor koolhydraten die gebruikt worden voor de productie van afweer stoffen (Arnold & Schultz, 2002; Arnold *et al.*, 2004). De tweede hypothese is dat de apicale bladeren, die zich

nog ontwikkelen, meer licht opvangen en daardoor een grotere gevoeligheid voor JA hebben (Constabel *et al.*, 2000; Ballaré, 2011). Een interessant resultaat was dat, ondanks de verminderde capaciteit van de oudere bladeren om trichomen te produceren, de productie van terpenen per trichoom wel hoger was dan dat van zich nog ontwikkelende bladeren. Besser *et al.* (2009) hebben laten zien dat de terpeen synthese verschilt afhankelijk van de positie van het blad. Onze resultaten laten zien dat reacties als gevolg van toediening van JA met betrekking tot de productie van door trichomen terpenen ook afhankelijk zijn van de positie van het blad. Het zou interessant zijn dit onderzoek uit te breiden naar genexpressie in de verschillende organen en weefsels. In Hoofdstuk 3 hebben we het effect van andere elicitors van afweer tegen WFT in tomaat bekeken. We het effect van *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000 (*Pst*) infectie en het phytotoxine dat deze bacterie produceert (coronatine, COR) onderzocht. Daarnaast hebben we onderzocht of andere *Pst*-gebonden elicitors van de afweer de weerbaarheid van tomaat tegen WFT kon verhogen. Onze resultaten lieten zien dat zowel infectie met *Pst* en COR de schade door WFT verminderden, door activatie van JA-geassocieerde reacties. Verrassenderwijs activeerde COR ook de signaal transductie van salicylzuur (SA) in bladeren terwijl infectie met *Pst* dat niet deed. Ook vond ik verschillen in de metabolome profielen van de met *Pst* geïnfecteerde bladeren en bladeren die met COR behandeld waren. In tegenstelling tot onze verwachting leidde de elicitering van de JA signaal transductie door beide behandelingen niet tot verhoogde productie van trichomen in nieuwe bladeren. Verschillen tussen de effecten van toediening van COR en jasmonaten op de fysiologie van de plant zijn eerder beschreven door Uppalapati & Bender (2005) en Tsai *et al.*, (2011). Naast COR bleken er andere elicitors van de afweer tegen WTF aanwezig in medium waarin *Pst* gekweekt was en waaruit de bacteriën gefilterd waren. Welke elicitors dit betreft is nog onbekend en vraagt om verder onderzoek. Wel toonde ik aan dat ook deze inductie via activatie van de JA signaal transductieverloop. Of hier ook nog andere regulatoren van de plant bij betrokken waren is niet duidelijk. Het zou interessant zijn om te onderzoeken of inoculatie met medium waarin *Pst* gekweekt is ook de resistentie tegen andere schadelijke insecten en pathogenen van tomaat kan vergroten. Alles bij elkaar laten onze bevindingen de mogelijkheden zien van toepassing van door *Pst* DC3000 geproduceerde elicitors van de afweer tegen WFT. Er is echter wel meer onderzoek nodig naar de langere termijn effecten met name wat betreft de oogst.

Van verschillende planten soorten is bekend dat de afweer tegen insect herbivoren gecorreleerd is met trichoom dichtheid en de PPO activiteit (Levin, 1973; Dalin *et al.*, 2008; Mahanil *et al.*, 2008; Bhonwong *et al.*, 2009). In Hoofdstuk 4 heb ik onderzocht of er variatie was in constitutieve en induceerbare niveaus van beide tussen chrysanten cultivars en of deze variatie gecorreleerd was met de resistentie tegen WFT. Onze resultaten lieten verschillen tussen cultivars zien in de dichtheid van zowel non-glandulaire als glandulaire trichomen. Deze verschillen in trichoom dichtheid waren niet gerelateerd aan verschillen in gevoeligheid voor WFT. Opgemerkt moet worden dat verschillen in de productie door trichomen van metabolieten die betrokken kunnen zijn bij deze afweer niet onderzocht zijn. Constitutieve niveaus van PPO activiteit correleerde evenmin met de afweer van chrysanten tegen WFT. Eerder werk in ons laboratorium liet zien dat de resistentie van chrysant tegen WFT positief gecorreleerd was met de concentraties van chlorogeen zuur en o.a. 3 5-dicaffeoylquinic acid (Leiss *et al.*, 2009). Deze fenolische verbindingen kunnen geoxideerd worden door PPO en peroxidases, de verbindingen die hierdoor ontstaan, veranderen de voedingswaarde van de plant voor herbivore insecten (Felton & Duffey, 1991). Het lijkt veelbelovend om verder onderzoek te doen naar de relaties tussen PPO niveaus, concentraties van fenolische zuren en de resistentie tegen WFT. Als laatste hebben ik aangetoond dat exogene toediening van JA de afweer tegen WFT bij Chrysant significant verhoogde. Interessant was dat de mate van

inductie van de afweer per cultivar verschilde. Deze verschillen waren niet gerelateerd aan verhoogde productie van trichomen of aan verhoogde PPO activiteit. Blijkbaar spelen andere mechanismes een rol. Nadat ik had aangetoond dat toediening van JA de afweer van chrysanten tegen WFT kon verhogen (Hoofdstuk 4) hebben ik in meer detail onderzocht (Hoofdstuk 5) of de lokale en systemische inductie van afweer door toediening van JA afhing van de ouderdom (en dus positie) van de behandelde bladeren. Verrassenderwijs vonden we dat apicale bladeren (blad 9-10 van beneden geteld) van chrysanten gevoeliger waren voor WFT dan basale bladeren (blad 4-5 van beneden geteld). Basale bladeren bevatten meer fenolische verbindingen en minder aminozuren in vergelijking met apicale bladeren. Dit kan verklaren waarom basale bladeren minder aantrekkelijk waren voor WFT, waarschijnlijk zijn ze minder voedzaam voor herbivore insecten (Behmer *et al.*, 2002) en leidt de aanwezigheid van hogere concentraties aan fenolische verbindingen tot verhoogde weerstand tegen WFT (Leiss *et al.*, 2009; Demkura *et al.*, 2010; Leiss *et al.*, 2013). Positie-afhankelijke verschillen tussen bladeren in WFT resistentie waren niet gekoppeld aan PPO activiteit. Dit laatste komt overeen met de resultaten van Hoofdstuk 4, waar de variatie in PPO activiteit tussen verschillende chrysant cultivars niet gecorreleerd was met afweer tegen WFT. Terwijl lokale toediening van JA op apicale bladeren de zilverschade per plant reduceerde, was dat niet het geval bij toediening van JA aan basale bladeren. Meer specifiek lieten de na de JA behandeling gevormde bladeren (bladeren 13-18) een sterkere reductie van zilverschade zien wanneer de bladeren daar in de buurt (bladeren 9 en 10) lokaal geïnduceerd waren. De metabolomische analyse daarentegen liet zien dat zowel de basale als de apicale bladeren alleen lokaal reageerden op de JA behandeling. Dus hoe lokale behandeling van apicale bladeren de resistentie van nieuwe bladeren kon verhogen is nog onbekend.

Tomaat en chrysant: Verschillen en overeenkomsten in constitutieve en JA-geassocieerde afweer reacties.

WFT is een belangrijke plaag op tomaat en chrysant. In dit proefschrift heb ik aangetoond dat het patroon van door WFT veroorzaakte schade over de plant tussen beide soorten varieert. Omdat WFT een generalistische herbivore is veronderstel ik dat dit patroon gerelateerd is aan de distributie van de chemische en fysieke afweer binnen de plant. Over het algemeen ondersteunde onze data deze hypothese. Het patroon van de schade was tegengesteld in beide soorten waarschijnlijk omdat ook het patroon van zowel morfologische als chemische factoren die mogelijk betrokken zijn bij deze afweer verschilde. Ik vond voor tomaat een hogere dichtheid van type VI glandulaire trichomen in apicale zich nog ontwikkelende bladeren alsmede een verhoogde concentratie van aan deze trichomen geassocieerde vluchtige stoffen in combinatie met minder zilverschade. Binnen het STW perspectief programma GAP is aangetoond dat type VI trichomen en de door deze trichomen geproduceerde vluchtige stoffen een belangrijke rol kunnen spelen in de resistentie van tomaat tegen WFT (o.a. Escobar-Bravo *et al.*, 2018). In chrysanten daarentegen waren de dichtheden van niet glandulaire en glandulaire trichomen niet geassocieerd met WFT resistentie (Hoofdstuk 3). Verder vonden we dat in chrysanten WFT minder schade veroorzaakte in basale bladeren ten opzichte van apicale bladeren (Hoofdstuk 4). Deze basale bladeren hadden hogere concentraties van fenolische verbinding zoals chlorogeen zuur, deze stof is positief geassocieerd met WFT resistentie in chrysanten (Leiss *et al.*, 2009). In tomaat daarentegen heeft verhoging van de concentraties van chlorogeen zuur niet geleid tot verhoogde resistentie tegen WFT (Mirnezhad, 2011). Het zou, vanuit evolutionair perspectief, interessant zijn te onderzoeken of bij chrysant de basale bladeren een grotere relatieve bijdrage leveren aan de fitness van de plant dan bij tomaat.

Toediening van het phytohormoon JA verhoogde de WFT resistentie in zowel tomaat als chrysanth. Maar terwijl JA applicatie de hoeveelheid type VI trichomen verhoogde in nieuw gevormde bladeren van tomaat (Hoofdstuk 2), was er geen effect op de productie van glandulaire trichomen in chrysanthen (Hoofdstuk 4). Daarnaast bleek dat hoewel lokale applicatie van JA over het algemeen systemische chemische reacties teweeg bracht in tomaat (Hoofdstuk 2), dit niet het geval was bij chrysanth (Hoofdstuk 5). De effecten van toediening van JA op resistentie tegen WFT was bij chrysanthen sterk afhankelijk van aan welke bladeren JA werd toegediend (Hoofdstuk 5). Om verder te onderzoeken of deze lokale response specifiek voor JA was hebben we ook de lokale response na toediening van COR bepaald. In tegenstelling tot onze verwachting had lokale toediening van COR geen effect op de resistentie van chrysanthen tegen WFT (Fig. 1A, B), ook induceerde de PPO activiteit in behandelde bladeren niet (Fig. 1C). De moleculaire mechanismes die het verschil in COR response tussen tomaat en chrysanth kunnen verklaren zijn onbekend. Misschien zijn deze verschillen te verklaren door het verschil in vermogen van het F-box eiwit coronatine insensitive1 (COI1) en dat van JAZ complexen om COR te herkennen. De binding van COR aan COI-JAZ complexen is zeer specifiek (Katsir *et al.*, 2008).

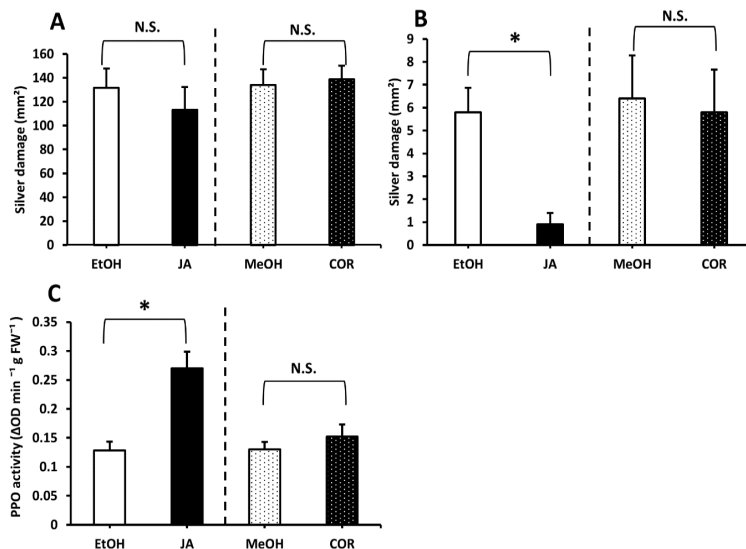


Fig. 1 De lokale effecten op zilverschade en PPO activiteit van toediening van COR en JA. Chrysanthen stekken (cv Morreno Pink) werden opgegroeid in een klimaat kamer (20°C, 70% RH, 113.6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR en L16:D8). Negentien dagen na oppotten werden twee bladeren (blad 3 en 4 van beneden geteld) onder druk geïnfiltreerd met 1) ethanol oplossing (0.6%) 2) JA (3 mM opgelost in ethanoloplossing), 3) methanol oplossing (0.32%), of 4) coronatine (10 μM opgelost in methanol oplossing). Zeven dagen na infiltratie werden planten gebruikt voor de bepaling van de polyphenol oxidase (PPO) activiteit en werden andere planten gebruikt voor een niet keuze proef met trips. Zilverschade werd gemeten in zowel de gehele plant (A) als voor de behandelde bladeren (B) zeven 7 dagen na WFT infestatie (mean \pm SEM, n = 10). (C) PPO (mean \pm SEM, n=5) activiteit werd bepaald in geïnfiltreerde bladeren. * = $P \leq 0.05$ student t-test. N.S. is niet significant. De gebruikte methodes zijn hetzelfde als die beschreven in hoofdstukken 3 en 5.

Concluderend hebben we aangetoond dat constitutieve en induceerbare chemische en morfologische afweer mechanismen tegen WFT verschillen tussen tomaat en chrysanth planten. Ik heb aangetoond dat deze soorten verschillend reageren op door een bacterie geproduceerde elicitoren van de afweer zoals het phytotoxine coronatine. Dit laat de plant

soort-specifieke interacties voor deze soorten zien en daarmee de mogelijke beperkingen van het gebruik dergelijke stoffen voor het verhogen van het immuunsysteem van de plant (Quintana-Rodriguez *et al.*, 2018). Voor tomaat geeft dit onderzoek inzichten voor nieuwe strategieën voor WFT bestrijding. Er is echter meer werk nodig om de effectiviteit te evalueren mede in het licht van de effecten op de groei van de plant.