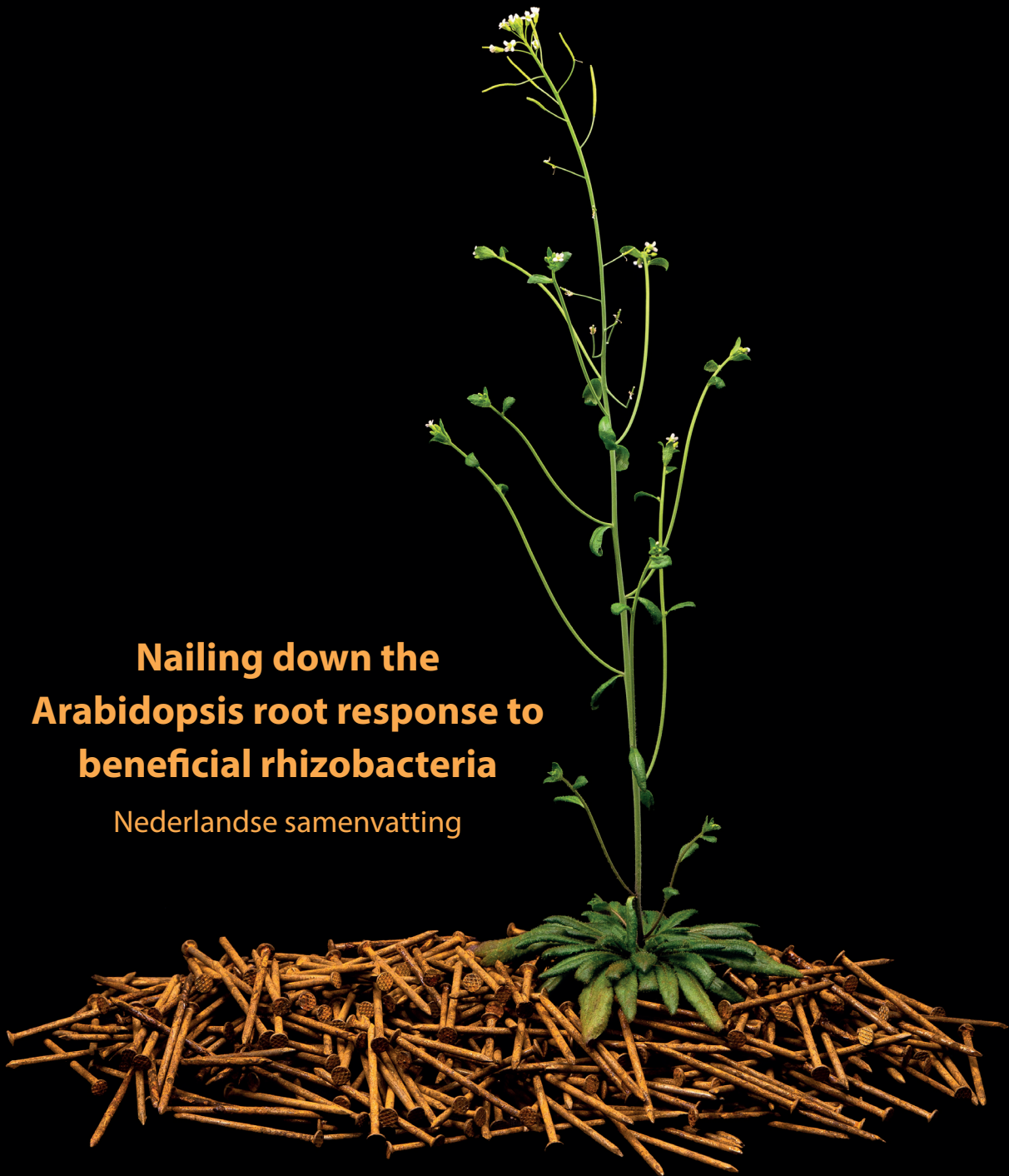


**Nailing down the  
Arabidopsis root response to  
beneficial rhizobacteria**

Nederlandse samenvatting



Eline H. Verbon

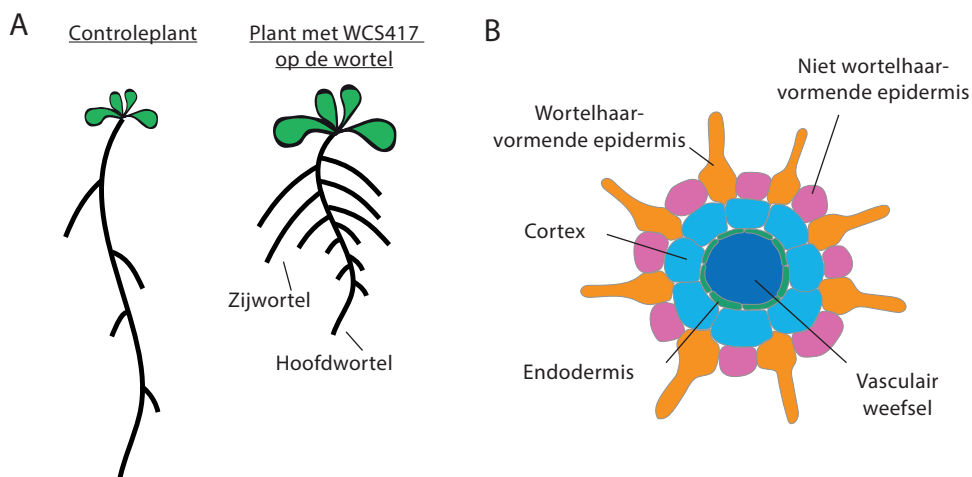
## Goedaardige bacteriën op plantenwortels

Op, in en rondom plantenwortels leven miljarden micro-organismen. Sommige van deze bodembacteriën en -schimmels beïnvloeden de plant negatief; ze kapen belangrijke voedingsstoffen weg of maken de plant ziek. Andere micro-organismen beïnvloeden de plant juist positief. Zo kunnen ze extra voedingsstoffen beschikbaar maken, de plant weerbaarder maken tegen ziekteverwekkers of het aantal ziekteverwekkende micro-organismen rondom de wortels verminderen door met ze te concurreren voor voedingsstoffen en ruimte.

De bacterie *Pseudomonas simiae* WCS417 is een voorbeeld van zo'n goedaardig micro-organisme. Wanneer deze bacterie zich vestigt op de wortel van het zandraketje – in de plantenwetenschap beter bekend als *Arabidopsis thaliana* – wordt de plant groter en is de plant weerbaarder tegen ziekteverwekkers. In dit proefschrift onderzoek ik op welke wijze WCS417 deze positieve invloed op de plant uitoefent.

## Veranderingen in de wortelstructuur

Naast de verhoogde weerbaarheid en de versterkte groei, reageert de plant op WCS417 met de vorming van extra zijwortels (Figuur 1A). Zijwortels vergroten het worteloppervlak, waardoor er meer oppervlak is waarover voedingsstoffen kunnen worden opgenomen én er meer ruimte is voor WCS417 om zich te vestigen. Zijwortels worden gevormd door cellen in het binnenste van de wortel, het vasculaire weefsel. Deze cellen zijn omgeven door drie andere cellagen: de endodermis, de cortex en tenslotte de epidermis (Figuur 1B). De zijwortels moeten deze cellagen passeren voordat zij uit de wortel tevoorschijn komen. Onderzoek van andere onderzoeksgroepen heeft aangetoond dat de cellen in de endodermis en de cortex moeten krimpen om zo ruimte te maken om de uitgroei van zijwortels mogelijk te maken. Hoe de cellen in staat zijn om te krimpen was nog niet duidelijk.



**Figuur 1 De plant *Arabidopsis thaliana* vormt meer zijwortels als de bodembacterie WCS417 zich vestigt op de wortel.** A) Schematische weergave van een plant zonder WCS417 op de wortel (links) en een plant met WCS417 op de wortel (rechts). B) Schematische dwarsdoorsnede van de plantenwortel, waarin de verschillende celtypen gelabeld zijn.

Om te begrijpen hoe de plant de wortelstructuur verandert, hebben we in hoofdstuk 2 gekeken hoe de verschillende wortelceltypen reageren op de vestiging van WCS417 op de wortel. We laten zien dat de endodermis en de cortex genen activeren die de celwanden rond deze cellen afbreken. Mogelijk zorgt deze afbraak ervoor dat de cellen kunnen krimpen om de zijwortels door te laten. Daarnaast laten we zien dat cellen in de endodermis in reactie op WCS417 genen activeren die betrokken zijn bij het produceren van een wasachtige laag om deze cellen heen. Deze laag is ondoordringbaar voor voedingsstoffen en water en voorkomt daardoor dat deze weglekken uit het binnenste deel van de wortel. Wellicht voorkomt deze laag ook dat micro-organismen de wortel binnendringen.

Tenslotte identificeren we activiteit van genen die een al langer bekend fenomeen verklaren. De buitenste cellaag van de wortel, de epidermis, bestaat uit wortelhaar-vormende cellen en niet-wortelhaar-vormende cellen. Het was al bekend dat specifiek de wortelhaar-vormende cellen belangrijk zijn voor de opname van voedingsstoffen. Wij laten zien dat genen die betrokken zijn bij de opname van voedingsstoffen specifiek in die wortelhaar-vormende cellen en niet in de niet-wortelhaar-vormende cellen actief zijn.

### **De activatie van ijzeropname**

Uit onderzoek van mijn voorgangers in het lab is gebleken dat de wortel op WCS417 reageert door processen die tot ijzeropname leiden te activeren. In hoofdstuk 3 onderzoeken we waarom de plant de ijzeropname activeert in reactie op WCS417. Eerst bevestigen we eerdere onderzoeksresultaten: namelijk dat de activatie van de ijzeropname in reactie op WCS417 niet meer plaatsvindt als de bovengrondse delen van de plant worden weggesneden. Dit geeft aan dat er een signaal uit de bovengrondse delen van de plant nodig is om de ijzeropname te activeren. Wellicht leidt de door WCS417 versterkte groei tot een ijzertekort in de bovengrondse delen van de plant. De hypothese die we daarom hebben getest is of een ijzertekort in de bovengrondse delen van de plant leidt tot de verhoogde ijzeropname in de wortel in reactie op WCS417. Uit onze experimenten blijkt dat toediening van ijzer op de bovengrondse delen van de plant tegelijkertijd met de toediening van WCS417 op de wortel de activatie van de ijzeropname niet voorkomt. Onze hypothese was dus niet juist.

Onze huidige hypothese is dat de plant de ijzeropname verhoogt in reactie op een bovengronds groeisignaal in plaats van een bovengronds ijzertekort om zo een eventueel ijzertekort vóór te zijn. Deze hypothese wordt ondersteund door onze data waaruit blijkt dat de ijzerconcentratie in de plant niet vermindert in reactie op WCS417. In plaats daarvan neemt de hoeveelheid ijzer gelijkmatig toe met de vorming van nieuw bladmateriaal. Vanuit evolutionair oogpunt is dit voordelig voor de plant: aangezien ijzer essentieel is voor veel processen in de plant, is het gunstig om ijzertekorten te voorkomen in plaats van te genezen.

### **Het induceren van verhoogde weerbaarheid**

In hoofdstuk 4 gaan we verder waar we in hoofdstuk 3 gebleven waren: de activatie van ijzeropname in reactie op WCS417. We kijken naar het effect hiervan op de verhoogde weerbaarheid van planten met WCS417. Zoals in de introductie is vermeld, wordt een plant met WCS417 minder snel ziek na aanvallen van ziekteverwekkers. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat enkele genen die worden geactiveerd in reactie op WCS417 en leiden tot verhoogde ijzeropname, name-

lijk de genen *MYB72* en *BGLU42*, essentieel zijn voor de verhoogde weerbaarheid van planten met WCS417. Daarnaast weten we dat hoewel een omgeving met weinig ijzer ervoor zorgt dat planten minder hard groeien, zo'n omgeving ook leidt tot verminderde ziekteverschijnselen. Het is echter nog niet duidelijk hoe ijzertekort leidt tot verlaagde vatbaarheid voor ziekten.

Ijzer is niet alleen een essentiële voedingsstof voor planten, maar ook voor de meeste andere organismen. Wij hebben daarom getest of een plant met een ijzertekort minder ziek wordt omdat er weinig ijzer beschikbaar is voor de aanvallende ziekteverwekker. Dit blijkt niet het geval te zijn. In plaats daarvan tonen we aan dat de verhoogde weerbaarheid van een plant met ijzertekort afhankelijk is van de verdedigingshormonen van de plant.

Een omgeving met weinig ijzer leidt, net als blootstelling aan WCS417, tot activatie van ijzeropname en dus tot activatie van *MYB72* en *BGLU42*. We hebben daarom getest of deze genen ook essentieel zijn voor de verhoogde weerbaarheid na een ijzertekort. Als dat het geval is, zijn beide vormen van verhoogde weerbaarheid wellicht gebaseerd op hetzelfde mechanisme en is de activatie van de ijzeropname op zichzelf genoeg om resistentie te induceren. Om dit te testen, gebruikten we gemuteerde planten waarin de genen *MYB72* en *BGLU42* niet meer werkzaam zijn. We laten zien dat deze planten geen verhoogde resistentie vertonen nadat WCS417 zich vestigt op hun wortels, maar wel na ijzertekort. Hiermee tonen we aan dat de twee vormen van verhoogde weerbaarheid niet door dezelfde genen gereguleerd worden.

### **Het opzetten van een nieuwe techniek**

In het laatste experimentele hoofdstuk, hoofdstuk 5, beschrijven we de opzet van een relatief nieuwe experimentele techniek die ons in staat stelt om op een ander niveau naar de effecten van WCS417 en ijzertekort op de plantenwortel te kijken. In hoofdstuk 2 tot en met 4 keken we naar de activiteit van genen. De activatie van een gen ligt aan de basis van de productie van een eiwit. Echter, instructies van actieve genen leiden niet altijd tot de vorming van eiwitten. In plaats daarvan worden de instructies soms afgebroken of tijdelijk opgeslagen. De activiteit van genen correleert daarom niet altijd met de productie van eiwitten en de activiteit van de biologische processen die door de eiwitten uitgevoerd worden. Met de nieuwe techniek kunnen we bestuderen welke instructies daadwerkelijk worden gebruikt om eiwitten te produceren. We laten zien dat deze methode werkt met zowel planten blootgesteld aan WCS417 als met planten blootgesteld aan een ijzertekort. Uit de eerste resultaten kunnen we opmaken dat in reactie op ijzertekort een verandering in de activiteit van een gen inderdaad niet altijd resulteert in een verandering van het gebruik van de instructie om een eiwit te maken. De plant reguleert zijn reactie dus niet alleen door de activiteit van genen te reguleren. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen wat dit betekent voor de reactie van de plant op het ijzertekort.

### **Van kennis naar voedselzekerheid**

De resultaten in dit proefschrift vergroten onze kennis over het effect van de goedaardige bacterie WCS417 op *Arabidopsis*. Zo identificeren we in hoofdstuk 2 veranderingen in genactiviteit in de endodermis en de cortex die wellicht aan de basis liggen van de verhoogde zijwortelvorming in planten met WCS417. Daarnaast vinden we aanwijzingen voor een tot zover onbekende reactie van de wortel op WCS417: de verhoogde productie van de

wasachtige laag rondom endodermis cellen. Het was al bekend dat de plantenwortel in reactie op WCS417 de ijzeropname activeert. Naar aanleiding van de data gepresenteerd in hoofdstuk 3 hypothetiseren we dat de ijzeropname geactiveerd wordt in reactie op een groeisignaal in de bovengrondse delen van de plant. In hoofdstuk 4 laten we zien dat de verhoogde weerbaarheid van planten met WCS417 niet geactiveerd wordt door hetzelfde proces als de verhoogde weerbaarheid van planten met een ijzertekort. Tenslotte laten we in hoofdstuk 5 zien dat we succesvol een nieuwe techniek hebben opgezet waarmee we op een ander niveau de reactie van plantenwortels op veranderingen in hun omgeving kunnen bestuderen.

Behalve nieuwe inzichten, leveren deze data weer veel nieuwe vragen op: wat is het effect van de wasachtige laag op de interactie van planten met micro-organismen? Door wat voor signaal wordt groei gecommuniceerd tussen de wortels en de bovengrondse delen van de plant? Hoe leiden een ijzertekort en WCS417 tot verhoogde weerbaarheid van de plant? Verder onderzoek is nodig om deze en andere nieuwe vragen te beantwoorden.

De hier gepresenteerde data en data van mogelijk vervolgonderzoek kunnen bijdragen aan het vergroten van de voedselzekerheid. Kennis over de regulatie van de wortelstructuur stelt ons in staat om gewassen te selecteren met de meest optimale wortelstructuur voor een bepaalde regio. Kennis over de effecten van goedaardige bacteriën, op zijn beurt, kan bijdragen aan het gebruik van deze bacteriën in het veld als natuurlijke groei- en resistentiebevorderaars. Op deze manier kan kennis uit het laboratorium bijdragen aan het realiseren van hogere voedselopbrengsten met een verminderde hoeveelheid synthetische meststoffen en pesticiden.