

# Valse meeldauwresistentie door een niet-functioneel plantengen

Mireille van Damme

Op 21 mei 2007 is Mireille van Damme gepromoveerd aan de Universiteit Utrecht op het proefschrift getiteld 'Genetische analyse van gevoeligheid voor ziekten in de *Arabidopsis-Hyaloperonospora parasitica*-interactie. Promotor was Prof. Dr. P. J. Weisbeek en co-promotor was Dr. G. van den Ackerveken. Het onderzoek werd uitgevoerd bij de leerstoelgroep Moleculaire Genetica, binnen de onderzoeksgroep van Dr. G. van den Ackerveken die vanaf januari 2007 onderdeel is van de leerstoelgroep Plant-Microbe Interacties.

## Inleiding

Valse meeldauw is een belangrijke ziekte op vele gewassen, waaronder de tuinbouwgewassen sla, kool en spinazie, maar ook een gewas als druif. Bestrijding van valse meeldauw gebeurt d.m.v. resistentieveredeling en het gebruik van fungiciden. Nieuwe resistenties worden echter vaak snel doorbroken door het ontstaan van nieuwe fysio's. Daarnaast is de toepassing van fungiciden niet altijd mogelijk en zijn er nadelige effecten voor het milieu waardoor de toelating van verschillende gewasbeschermingsmiddelen is ingetrokken. Het promotieonderzoek richtte zich voornamelijk op de vraag: 'Wat maakt planten vatbaar voor ziekten, met name voor valse meeldauw, en welke factoren en genen van de plant zijn hierbij betrokken?' De kennis van de moleculaire mechanismen die de vatbaarheid van planten bepaalt, is tot op heden zeer beperkt.

Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van de modelplant *Arabidopsis thaliana* (zandraket). *Arabidopsis* is erg geschikt voor het genetisch onderzoek omdat het een compacte plant is met een korte generatietijd. Daarnaast zijn er vele mutanten beschikbaar en is de gehele DNA- of genoomsequentie al enige jaren beschikbaar.

De veroorzaker van valse meeldauw op *Arabidopsis* is de oomyceet *Hyaloperonospora parasitica*. Oomyceten staan evolutionair gezien dicht bij

de bruinwieren dan bij de schimmels. *H. parasitica* is een obligate biotroof en is voor zijn groei en voltooiing van zijn levenscyclus afhankelijk van de levende gastheer (*Arabidopsis*). De onderzoeksvraag was: welke plantengenen zijn belangrijk voor de vatbaarheid van *Arabidopsis* voor *H. parasitica*?

Om deze plantengenen te identificeren is gebruik gemaakt van een genetische aanpak. Hiervoor werd een meeldauwgevoelige *Arabidopsis*-lijn gemutageniseerd en vervolgens getoetst op gevoeligheid voor *H. parasitica*. *Arabidopsis*-zaailingen die geen meeldauwsymptomen hadden, zijn geselecteerd als valse meeldauwresistente mutanten. De selectie van een *dmr* (*downy mildew resistant*)-mutant in de achtergrond van vatbare zaailingen is weergegeven in figuur 1 (met de pijl). De identificatie en beschrijving van acht van deze mutanten is beschreven in een publicatie (van Damme *et al.*, 2005). Ook de chromosoomlokalisatie van de mutaties die resistentie veroorzaken, staan hierin beschreven.

Het eerste gen, *DMR1*, codeert voor het enzym homoserine kinase. Dit gen is betrokken bij de



Figuur 1. De *dmr*-mutanten zijn gevonden door te selecteren op het verlies van vatbaarheid voor *H. parasitica*. Bij de screening zijn de meeste zaailingen extreem vatbaar wat resulteert in de vorming van vele sporendragers die zichtbaar zijn als wit pluus op de kiemblaadjes. De *dmr*-mutanten zijn gevonden door de planten te selecteren die geen sporulatie gaven zoals de plant die met de pijl is aangegeven.

PROMOTIES

productie van aminozuren. Mutaties in dit gen leiden echter niet tot een tekort aan aminozuren maar wel tot een opstapeling van homoserine. In het onderzoek is aangetoond dat de accumulatie van dit specifieke aminozuur, homoserine, de oorzaak is van de gevonden *H. parasitica*-resistentie in de *dmr1*-mutanten. Deze vinding werd bevestigd, want infiltratie van homoserine in niet-gemuteerde Arabidopsis-planten leidde ook tot meeldauwresistentie. Dit was een nieuwe ontdekking en het exacte mechanisme wordt nu verder onderzocht.

Het tweede gen, *DMR6*, codeert voor een oxidoreductase-enzym. De expressie van het *DMR6*-gen kan worden geactiveerd door biotische stress, bijvoorbeeld door infectie met *H. parasitica* (Fig. 2). Tijdens een afweerreactie tegen een pathogen worden naast *DMR6* ook andere genen geactiveerd. De resistentie in de *dmr6*-mutant lijkt vooral bepaald te worden door de activering van een actieve afweer in deze planten. Toch resulteert de afwezigheid van een functioneel *DMR6*-gen in Arabidopsis tot *H. parasitica*-resistentie en omdat het gen codeert voor een enzym wordt nu verder onderzocht of er sprake is van een accumulatie van een substraat (zoals het geval is in de *DMR1*-verkregen resistentie) of een gebrek aan product. Nader onderzoek is dus nodig om het exacte mechanisme van de resistentie in de *dmr6*-mutant te begrijpen. Daarbij moet met name onderzocht worden of de *H. parasitica*-resistentie wordt

veroorzaakt door de activatie van afweergenen of door een andere oorzaak, zoals de afwezigheid van een door het *DMR6*-enzym gemaakt molecuul.

### Tot slot

De ontwikkelde *dmr*-technologie zal in de nabije toekomst verder worden ontwikkeld om toe te kunnen passen in gewassen die gevoelig zijn voor valse meeldauw. De *DMR1*- en *DMR6*-genen zijn niet uniek voor Arabidopsis en komen ook voor in alle andere onderzochte plantensoorten, zoals sla en druif. Toekomstig onderzoek zal uitwijzen of mutatie van deze genen in verschillende gewassen ook leidt tot resistentie tegen valse meeldauw. Deze toepassing zou het gebruik van fungiciden en oogstverliezen door valse meeldauw drastisch kunnen verminderen.

Het nieuwe werkadres van Mireille van Damme is: Sainsbury Laboratory, Colney, Norwich, NR4 7UH, UK. E-mail: mireille.vandamme@tsl.ac.uk

### Referentie

van Damme, M., Andel, A., Huibers, R.P., Panstruga, R., Weisbeek, P.J. & van den Ackerveken, G., 2005. Identification of *Arabidopsis* loci required for susceptibility to the downy mildew pathogen *Hyaloperonospora parasitica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 583-592.

*Figuur 2. De groei van H. parasitica is zichtbaar als een donker gekleurde draad die tussen de cellen van het blad groeit. De activering van het DMR6-gen is zichtbaar als een donkergrijze kleuring in plantencellen die in contact zijn met H. parasitica.*

