

Hoe een schimmel een tomaat vangt

Lotje van der Does

Op 29 oktober 2008 promoveerde Lotje van der Does aan de Universiteit van Amsterdam (UvA) op haar proefschrift getiteld 'Secrets in Xylem: function, gene expression and processing of Six1, a *Fusarium oxysporum* effector protein encoded on a mobile pathogenicity chromosome'. Haar promotor, prof. dr. Ben J. C. Cornelissen, en co-promotor, dr. Martijn Rep, zijn beiden verbonden aan de leerstoelgroep Fytopathologie van de UvA, waar ook het onderzoek werd uitgevoerd. Daarnaast is samengewerkt met de afdeling 'Mass Spectrometry', het 'Centre for Advanced Microscopy', het 'Centre for Neuroscience' (alle drie behorende bij de UvA) en met het 'Scientia Terrae Research Institute' te Leuven (België). Het onderzoek is gefinancierd door het Swammerdam Institute for Life Sciences van de UvA.

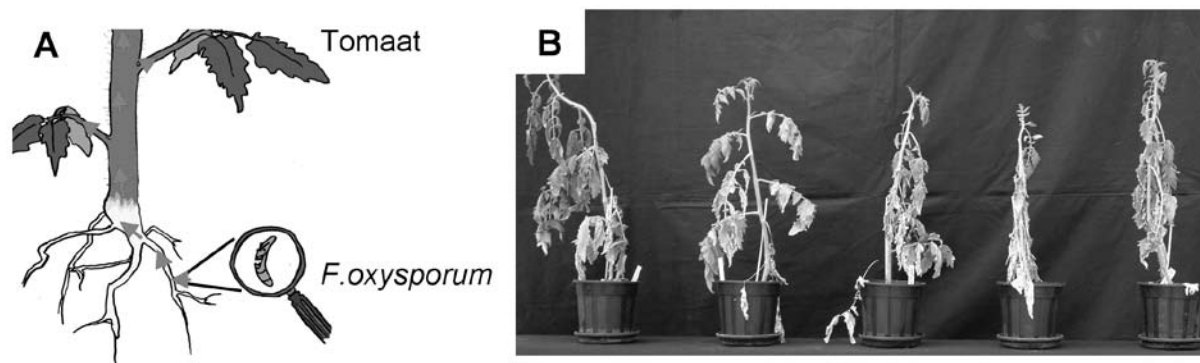
Waarom beschimmelen levende planten maar zelden?

In de grond waar de plant zijn wortels heeft, leven allerlei verschillende schimmels. De meeste daarvan kunnen heel goed leven van dood plantenmateriaal. Ze zijn in staat om dode planten binnen te dringen, door de 'huid' van de plant

heen te groeien en het binnenste te verteren. Waarom groeien deze schimmels dan niet ook allemaal op levende planten?

Je zou een vergelijking kunnen maken met een kasteel. Als het niet bewoond is, kan het, ondanks de slotgracht en de ophaalbrug, door bijna iedereen gekraakt worden. Zo geldt het ook voor dode planten. Behalve de altijd aanwezige verdediging (de muren van het kasteel, de ophaalbrug) is er niets dat indringers buiten houdt. In de plant kan deze laag van verdediging worden voorgesteld als de celwanden, de kurklagen om de wortels en de cuticula (een waslaagje) op de bladeren; dingen die in een dode plant niet meer onderhouden worden als ze beschadigd raken. Als een kasteel wel bewoond is, is het veel moeilijker om er binnen te dringen, aangezien er dan een veel groter aantal verdedigingstechnieken in gereedheid kan worden gebracht. Er wordt bijvoorbeeld gloeiende pek en kokende olie van de torens op de aanvallers gegoten en er wordt geschoten met kanonnen en katapulten. Als de aanvaller toch binnendringt kunnen de inwoners van het kasteel zich met vuisten, dolken en listen verdedigen. Dergelijke 'induceerbare' versterkingen zijn in het geval van de plant bijvoorbeeld callose-afzettingen om de celwanden

PROMOTIE



Figuur 1. Een belangrijk deel van een *Fusarium*-infectie vindt plaats in de xyleem- of houtvaten. Zowel de plant als de schimmel scheiden daar eiwitten en andere stoffen uit om de strijd in hun voordeel te beslissen. A) Een *Fusarium*-infectie begint bij de wortels. Via de xyleemvaten verspreidt de schimmel zich door de hele plant. B) Vatbare tomatenplanten, geïnfecteerd met *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, drie weken na infectie. De planten die niet bestand zijn tegen een *Fusarium*-infectie verwelken en gaan dood. De verwelking wordt (deels) veroorzaakt door de plant zelf, die met blokkades in de xyleemvaten de schimmel probeert in te kapselen.



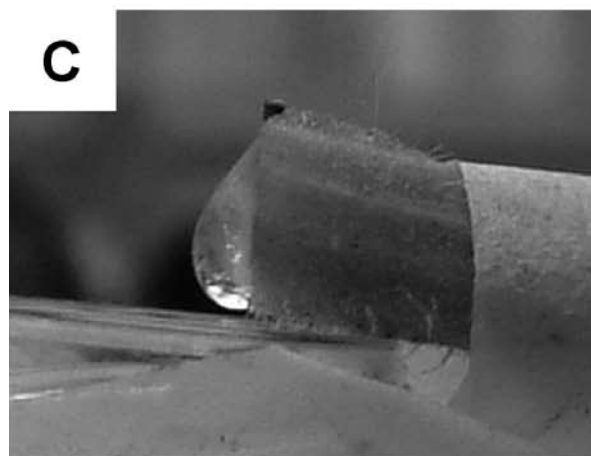
Figuur 2. In een zieke tomatenplant worden kleine eiwitten in de xyleem- of houtvaten uitgescheiden, zowel door de schimmel als door de plant. Ook kleuren de vaten bruin. Dit is een gevolg van de ophoping van fenolische stoffen die door de plant worden gemaakt om de schimmel te hinderen.

te verstevigen, het ophopen of uitscheiden van giftige stoffen en het inkapselen van de aanvallers. Net als bij ridders zijn ook voor schimmels de meest effectieve strategieën het gebruik van list, bedrog en manipulaties, bijvoorbeeld door zichzelf onzichtbaar te maken, het op gang komen van de afweermechanismen te frustreren, de voorraden van het slachtoffer voor eigen gewin aan te wenden en zo snel mogelijk alle cruciale onderdelen in handen te krijgen.

Al met al is het binnendringen van een levende plant voor een schimmel een specialistisch karwei. Het is dan misschien toch niet zo verbazingwekkend dat het merendeel van de schimmels hier niet toe in staat is. Wat maakt dan precies dat sommige schimmels dit wel kunnen? Welke eigenschappen hebben ze die ongevaarlijke schimmels missen? En hoe komen ze dan aan die eigenschappen? Deze vragen zijn het onderwerp van dit proefschrift.

Fusarium verwelkingsziekte: een model voor infectie

De vragen die we stellen over schimmels zou je ook als volgt kunnen formuleren: Welke genen hebben schimmels die planten kunnen infecteren die andere schimmels niet hebben? Voor wat voor eiwitten coderen die genen? Wat doen die eiwitten?



Figuur 3. Om de eiwitten te bestuderen die de plant en de schimmel uitscheiden in xyleemvaten wordt het xyleemsap verzameld. Om de infectiegerelateerde eiwitten uit het xyleemsap zichtbaar te maken is het sap van tot wel tachtig planten nodig.

A) Xyleemsap kan gemakkelijk opgevangen worden in buisjes.

B) De planten in de kas tijdens het tappen van xyleemsap. Van de helft wordt al sap gewonnen, de andere helft moet nog afgesneden en neergelegd worden.

C) Een druppel xyleemsap komt (door de worteldruk) uit een afgesneden stengel.

In de bodemschimmel *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* hebben we verschillende van dit soort genen gevonden. *F. oxysporum* komt bijna overal ter wereld voor in de bodem en de variant 'f.sp. *lycopersici*' kan tomatenplanten infecteren. Het infectieproces begint in de bodem, bij de wortels. De schimmel dringt de wortels binnen en koloniseert van daar uit de xyleemvaten – de kanaaltjes in de plant die het water van de wortels naar de bladeren brengen. Via deze kanaaltjes kan de schimmel zich snel door de hele plant verspreiden. De plant probeert de schimmel in te dammen en te doden, maar slaagt daar vaak niet in. In zwaar geïnfecteerde xyleemvaten is watertransport niet of nauwelijks meer mogelijk, waardoor de plant verwelkt en sterft.

Terwijl *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) in de xyleemvaten van een tomatenplant groeit, scheidt hij verschillende eiwitten uit. Het eerste *Fusarium*-eiwit dat in xyleemvaten is gevonden is Six1 genoemd (voor *Secreted in xylem 1*), de daaropvolgende eiwitten Six2 t/m 8. Waar deze eiwitten nu precies goed voor zijn is nog steeds onbekend, maar van Six1 en Six3 is in ieder geval bewezen dat ze bijdragen aan het

ziekteproces. De productie van het Six1-eiwit in de schimmel komt pas op gang zodra de schimmel in de nabijheid van levende plantencellen komt. In de bodem en in de buurt van dode planten wordt er dus geen Six1 geproduceerd. Opmerkelijk is dat de productie van Six1 ook geïnduceerd wordt in de nabijheid van soorten planten die deze schimmel helemaal niet kan infecteren, zoals tabaksplanten. Verder zijn er verschillende vormen van het Six1-eiwit gevonden: nadat Six1 door de schimmel is uitgescheiden, kan er aan de achterkant (de C-terminus) nog een gedeelte verwijderd worden, waardoor een kleiner deel van het Six1-eiwit overblijft. Deze kleinere vorm van Six1 blijkt niet functioneel te zijn. De genen die coderen voor Six1 en de andere Six eiwitten liggen allemaal bij elkaar in de buurt op het DNA van de schimmel. Het lijkt erop dat deze genen – waarschijnlijk samen met nog andere (onbekende) genen - een eiland van 'tomatenplant-infectiegenen' vormen.

Lotje (Henriëtte Charlotte) van der Does is bereikbaar via h.c.vanderDoes@uva.nl. Het *Fusarium*-onderzoek aan de UvA wordt aangestuurd door dr. Martijn Rep, bereikbaar via m.rep@uva.nl.

PROMOTIE

Oproep nieuw redactielid

Gewasbescherming

De redactie van Gewasbescherming is op zoek naar een nieuw lid, liefst afkomstig uit het onderzoek (wetenschappelijk of toegepast) of het bedrijfsleven. De doelstelling van de KNPV is om een brugfunctie te vervullen tussen onderzoek, onderwijs, beleid en bedrijfsleven. Binnen de redactie proberen we minimaal een vertegenwoordiger uit elk van deze doelgroepen te hebben.

Taken bestaan o.a. uit:

- gebruiken van uw netwerk om bijdragen voor Gewasbescherming te genereren
- eventueel verzorgen van een speciale katern (bijv. Promoties)
- redigeren van artikelen
- bijwonen redactievergaderingen (een keer per twee maanden)
- bepalen koers en invulling van Gewasbescherming

Geïnteresseerden kunnen contact opnemen met Jan-Kees Goud, hoofdredacteur; e-mail: jan-kees.goud@knpv.org.