

# Willie Commelin Scholten-dag 2003

Op donderdag 30 januari 2003 vond op de Uithof in Utrecht de Willie Commelin Scholten-dag plaats. Deze jaarlijks terugkerende bijeenkomst wordt georganiseerd door de sectie voor de Fytopathologie van de Koninklijke Nederlandse Botanische Vereniging en heeft tot doel kennisuitwisseling tussen de fytopathologische onderzoeksgroepen op instituten, proefstations en universiteiten te bevorderen. De bijeenkomst werd bijgewoond door ongeveer veertig personen. De eerste presentatie was van Dr. Lassaad Belbahri van de Universiteit van Fribourg, Zwitserland, die door de sectie was uitgenodigde als 'keynote' spreker. Zijn presentatie ging over het recent beschreven pathosysteem *Arabidopsis-Phytophthora brassicae* (Plant Journal 2001, 28: 293-305) dat gebruik maakt van de voordelen van de zandraket als modelplant om *Phytophthora* ziekten beter te kunnen onderzoeken. De zeven aangeboden presentaties kwamen van de universiteiten van Amsterdam, Leiden, Utrecht en Wageningen. Van zes staan de samenvattingen hieronder weergegeven.

De volgende WCS dag vindt plaats op donderdag 22 januari, 2004 wederom op de Uithof in Utrecht. U bent allen uitgenodigd om deel te nemen. Het bestuur van de sectie streeft naar een programma waarin alle actoren in het fytopathologisch onderzoek in Nederland vertegenwoordigd zijn en nodigt met name onderzoekers van instituten en proefstations uit een bijdrage te leveren. Voor nadere informatie over de KNBV sectie fytopathologie en de WCS dag kunt u zich wenden tot Guido Bloemberg, secretaris (bloemberg@rulbim.leidenuniv.nl / 071 527 5056) of Francine Govers, voorzitter (francine.govers@wur.nl / 0317 483 138).

## **Genetic analysis of disease susceptibility in the *Arabidopsis thaliana* – *Peronospora parasitica* interaction**

M. van Damme, A. Andel, R. Huibers,  
P. Weisbeek and G. van den Ackerveken

Plants are susceptible to a limited number of pathogens. They resist most infections by early pathogen recognition and the subsequent activation of plant

defense responses. To grow and reproduce on plants and to avoid recognition, pathogens have evolved advanced mechanisms to attack host cells. The oomycete pathogen *Peronospora parasitica* interacts with the plant through haustoria, feeding structures that invaginate host cells but remain surrounded by a host membrane. To gain insight into the genetic basis of disease susceptibility and haustorium function, *Arabidopsis* EMS-mutants were created in the *eds1-2* background. Fifteen downy mildew resistant (*dmr*) mutants were isolated so far, of which 8 are characterized in more detail. These represent 6 different *dmr* loci, that we have mapped. Microscopic analysis showed that in many cases *Peronospora* haustoria are surrounded by callose and/or have an aberrant form, indicating a distortion of the plant-pathogen interaction. *dmr3*, *4* and *5* show induced activation of defense responses. In addition *dmr3* and *dmr4*, but not *dmr5*, show resistance to *Pseudomonas syringae*. We hypothesize that in *dmr1*, *2*, and *6* important cellular targets for *Peronospora* infection are disrupted. We will report on the fine mapping of the six *dmr* mutations and our effort to clone the corresponding *DMR* genes. Their functional analysis will provide new insights into disease susceptibility and the molecular processes that occur at the host-pathogen interface.

## **Interactions between the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* and *Pseudomonas* biocontrol strains on the tomato root.**

Annouschka Bolwerk

Leiden University, Institute of Molecular Plant Sciences,  
Wassenaarseweg 64, 2333 AL Leiden

The fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* causes tomato foot and root rot (TFRR), which is a serious problem in greenhouses. *Pseudomonas fluorescens* WCS365 and *P. chlororaphis* PCL1391 are efficient biocontrol strains of this disease. Induced systemic resistance is thought to be the underlying mechanism of biocontrol of TFRR by *P. fluorescens* WCS365. Biocontrol by strain PCL1391 is based on (i)

[SCHOLTEN-DAG

the production of the anti fungal metabolite phenazine-1-carboxamide (PCN) and (ii) its efficient root colonizing ability.

In order to get a better understanding of the biocontrol process we studied the interactions between the biocontrol bacteria and the fungus in the rhizosphere. By marking the *Pseudomonas* biocontrol strains and the fungus with different auto-fluorescent proteins (DsRed, GFP) their interactions were visualized using confocal laser scanning microscopy (CLSM). CLSM analyses revealed the following. (i) Effective competition of the microbes for the same niche, and presumably also for root exudate nutrients. (ii) The presence of both bacteria negatively affects penetration of the tomato root by the fungus. (iii) Extensive colonization of hyphae by both biocontrol bacteria, which may represent a new mechanism in biocontrol by these pseudomonads. (iv) The production of PCN by *P. chlororaphis* PCL1391 negatively affects hyphal growth and branching, which presumably affects the colonization and infecting ability of the fungus.

## Geïnduceerde resistentie in *Arabidopsis* tegen pathogenen en insecten

V.R. van Oosten<sup>1,2</sup>, M. de Vos<sup>1</sup>,  
R.M.P. van Poecke<sup>2</sup>, J.A. van Pelt<sup>1</sup>, M. Dicke<sup>2</sup>,  
L.C. van Loon<sup>1</sup> and C.M.J. Pieterse<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Fytopathologie, Universiteit Utrecht

<sup>2</sup>Entomologie, Wageningen Universiteit en Research Centrum

Planten moeten zich verdedigen tegen een grote verscheidenheid aan belagers. Daarom hebben zij flexibele geïnduceerde afweermechanismen ontwikkeld, die hen beschermen tegen indringers variërend van microbiële pathogenen tot herbivore insecten. Drie plantenhormonen spelen een belangrijke rol bij de regulatie van deze verdedigingsmechanismen: salicylzuur (SA), jasmonzuur (JA) en ethyleen (ET). Waarschijnlijk kunnen planten door middel van deze hormonen hun verdediging zo efficiënt mogelijk maken.

Verdediging van planten tegen pathogenen enerzijds, en tegen insecten anderzijds, is al veelvuldig onderzocht. Helaas zijn de fytopathologische en de entomologische aanpakken veelal gescheiden gebleven. In dit onderzoek worden deze twee aanpakken samengebracht, om de relatieve rol van JA, ET en SA in één modelplant te bestuderen. Wij hebben gekozen om met zandraket, *Arabidopsis thaliana*, te werken,

en haar respons tegen verschillende pathogenen (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Alternaria brassicicola*) en insecten (*Pieris rapae*, *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis*) in kaart te brengen. Daartoe hebben we in één groot experiment tegelijkertijd planten geïnduceerd met elk van deze belagers. Vervolgens hebben we op verschillende tijdstippen bladmateriaal geoogst, wat gebruikt is voor analyse van plantenhormonen en hormoon-afhankelijke genexpressie. Uit dit onderzoek is gebleken, dat de plant een zeer specifieke respons vertoont in reactie op elk van deze belagers.

## The molecular and biochemical basis of I-2 mediated *Fusarium* resistance in tomato

Frank L.W. Takken, Wladimir.I.L. Tameling,  
Sergio de la Fuente van Bentum, Jack H.  
Vossen and Ben J.C. Cornelissen

Plant Pathology, SILS, Faculty of Science, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands.

Disease resistance gene *I-2* of tomato confers resistance against the root-invading pathogen *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici*. *I-2* belongs to the CC-NB-LRR family of resistance genes. The nucleotide binding (NB) domain has structural homology to the NB domain of Apaf-1, NodI and CED-4. Using a biochemical approach we have shown that the NB domain of *I-2* is functional in both ATP-binding and -hydrolysis (Tameling *et al*, 2002 Plant Cell 14:2929). To identify the role of ATP binding/hydrolysis for protein function and downstream signalling we have made a series of specific mutations in the NB-domain that are predicted to abolish either ATP-binding or hydrolysis. In addition a set of mutations was made that are predicted to result in a constitutive active protein that induces an HR in the absence of the elicitor while others. To test the function of these mutant proteins *in planta* a transient expression system was developed in which these proteins are expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves. Here we show that this is a good system to rapidly analyse R-protein function, since the constitutive-active *I-2* protein is able to specifically induce a hypersensitive response (HR) in leaves. By analysing the various mutants a clear correlation between ATP binding and the ability to induce an HR was found.

Furthermore, yeast-two-hybrid experiments showed that the different mutations in the NB result in a differential affinity with interacting proteins suggesting

an altered conformational state of I-2. Based on these observations, and in analogy with Apaf-1, Nod1 and Ced-4 signalling, a biochemical model for I-2 function was compiled which will be presented.

## 'Cross-talk' tussen geïnduceerde resistentie tegen pathogenen en insecten in *Arabidopsis*

M. De Vos<sup>1</sup>, V.R. Van Oosten<sup>1,2</sup>, J.A. Van Pelt<sup>1</sup>, M. Dicke<sup>2</sup>, L.C. Van Loon<sup>1</sup> en C.M.J. Pieterse<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fytopathologie, Universiteit Utrecht; <sup>2</sup>Entomologie, Universiteit Wageningen

Planten bezitten induceerbare verdedigingsmechanismen om aanvallen door microbiële pathogenen en herbivoren insecten te weerstaan. Geïnduceerde verdediging wordt gereguleerd door een netwerk van signaaltransductieroutes. Hierbij spelen de signaalstoffen salicylzuur (SA), jasmonzuur (JA) en ethyleen (ET) een belangrijke rol. 'Cross-talk' tussen signaaltransductieroutes kan een regulerende functie hebben in het aanschakelen van het meest effectieve verdedigingsmechanisme tegen een specifieke aanval. Hoe zijn planten in staat om signalen welke door pathogenen of insecten geïnduceerd worden te integreren en deze te vertalen in effectieve verdedigingsmechanismen? Om dit te bestuderen, is er een inventarisatie gemaakt van verdedigingsmechanismen in *Arabidopsis* die specifiek geïnduceerd worden door verschillende pathogenen en insecten (zie Van Oosten *et al.*).

Vervolgens hebben we gekeken naar het spectrum van effectiviteit van al deze vormen van geïnduceerde resistentie. Uit de experimenten blijkt dat vraat door rupsen van het kleine koolwitje (*Pieris rapae*) lokaal resistentie induceert tegen twee bacteriële pathogenen, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae*, en zowel lokaal als systemisch bescherming induceert tegen turnip crinckle virus.

## ATP-binding cassette (ABC) transporters in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*

Ioannis Stergiopoulos

Laboratory of Phytopathology, Department of Plant Sciences, Wageningen University, Binnenhaven 5, 6705 PD, PO Box 8025, 6700 EE Wageningen

ATP-binding cassette (ABC) transporters are membrane proteins that utilise the energy derived from the hydrolysis of ATP to drive the transport of compounds over biological membranes. They are members of one of the largest protein families known to date, present in both pro- and eukaryotic organisms. ABC transporters play an essential role in multidrug resistance (MDR) of cancer cells to chemically unrelated compounds. ABC transporters involved in MDR have also been described in filamentous fungi. In addition, in plant pathogenic fungi ABC transporters may act as virulence factors if they mediate secretion of host-specific toxins or provide protection against plant defence compounds during pathogenesis.

The present study describes the cloning of ABC transporter genes from the plant pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola* (anamorph state *Septoria tritici*), the causal agent of septoria tritici blotch of wheat, and an analysis of their function in pathogenesis and protection against natural and synthetic toxic compounds. Our results demonstrate that ABC transporters from *M. graminicola* can have a number of important functions for this fungus. They can act as virulence factors during pathogenesis, provide protection against natural and synthetic toxic compounds, and account for base-line sensitivity and fungicide resistance of the fungus to azole fungicides. Ways to inhibit the function of ABC transporters in *M. graminicola* with compounds able to modulate their function are also shortly discussed. Such knowledge could be of great importance in disease control management as it can lead to new and innovative disease control methods.

[SCHOLTEN-DAG