PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

# Intrinsieke weerbaarheid

Literatuurstudie naar soorten intrinsieke weerbaarheid, mechanismen en toepassingsmogelijkheden in de sierteelt.

J.M. Franssen, H.J. van Telgen

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Juni 2003

PPO GT 133094

WAGENINGEN UR

2205242

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit is een vertrouwelijk document, uitsluitend bedoeld voor intern gebruik binnen PPO dan wel met toestemming door derden. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermenigvuldigd of verspreid voor extern gebruik.

Deze studie werd uitgevoerd binnen het DWK programma 397-I, gefinancierd door het Ministerie van LNV.

Projectnummer: 41300052

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glastuinbouw
Adres : Linnaeuslaan 2A
Tel. : 0297 - 352525
Fax : 0297 - 352270
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

# Inhoudsopgave

pagina


1 INLEIDING ..... 7
1.1 Doel ..... 8
1.2 Aanpak ..... 8

2 VERDEDIGINGSMECHANISMEN ..... 9
2.1 Inleiding ..... 9
2.2 Onderzoek aan verdedigingsmechanismen ..... 9
2.3 Vormen van weerbaarheid: tolerantie en resistentie ..... 10
2.3.1 Tolerantie ..... 10
2.3.2 Resistentie ..... 10
2.4 Geïnduceerde resistentie ..... 10
2.4.1 Systemic Acquired Resistence (SAR) ..... 11
2.4.2 Induced systemic resistance (ISR) ..... 13
2.4.3 Relaties tussen SAR en ISR ..... 14
2.4.4 Relatie abiotische en biotische inductiemogelijkheden voor resistentie ..... 15
2.4.5 Abiotische stress als middel voor de inductie van resistentiemechanismen. ..... 16
2.4.5.1 Verwonding en aanraking ..... 16
2.4.5.2 Osmotische stress ..... 16
2.4.5.3 Waterstress ..... 17
2.4.5.4 Voeding en bemesting ..... 17
2.4.5.5 $CO_2$, $O_2$ en ozon ..... 17
2.4.5.6 Temperatuur ..... 17
2.4.5.7 Licht en ultraviolette straling ..... 17
2.4.5.8 Elektrisch veld ..... 18
2.4.6 Samenvatting ..... 18

3 GROEI, ONTWIKKELING EN WEERBAARHEID ..... 19
3.1 Inleiding ..... 19
3.2 De relatie tussen plantenhormonen en resistentiemechanismen ..... 19
3.2.1 Jasmonzuur en methyljasmonaat ..... 19
3.2.2 Cytokinines ..... 19
3.2.3 Abscissine zuur (ABA) ..... 20
3.2.4 Gibberelline ..... 21
3.2.5 Ethyleen ..... 21
3.2.6 Auxine ..... 21
3.2.7 Samenvatting ..... 21
3.3 Energiebalans ..... 22
3.4 Mogelijke tegenstrijdigheden ..... 23

4 MOGELIJKHEDEN EN ONMOGELIJKHEDEN ..... 25
4.1 Inleiding ..... 25
4.2 Voor welk resistentiemechanisme wordt gekozen? ..... 25
4.3 Ketendenken ..... 25
4.4 Gedurende welke termijn moet resistentie aanwezig zijn in de plant? ..... 26
4.5 Gunstige neveneffecten ..... 27

5 CONCLUSIES ..... 29

6 AANBEVELINGEN VOOR VERVOLGONDERZOEK ..... 31

REFERENTIES ..... 33

# Samenvatting

Planten leiden een gevaarlijk leven. Ze staan bloot aan allerlei bedreigingen zoals temperatuurextremen, droogte, aanvallen door ziekteverwekkende micro-organismen en vraat door hogere dieren. Om zich hiertegen te beschermen is de plant uitgerust met een genenset die de plant in staat stelt deze bedreigingen het hoofd te bieden.
Naast deze altijd aanwezige (constitutieve) weerbaarheid, bezitten planten een weerbaarheid die pas tot uitdrukking komt na inductie door bepaalde factoren. Na inductie van deze weerbaarheid wordt de gevoeligheid van de plant tegen volgende infecties verlaagd: het is als het ware mogelijk om de plant te immuniseren tegen ziekteverwekkers.
Deze extra weerbaarheid en de mate waarin deze tot uitdrukking komt is afhankelijk van een groot aantal factoren. Zowel het ontwikkelingsstadium, mogelijke verwonding en infectie door al dan niet pathogene micro-organismen, abiotische omstandigheden als licht, temperatuur en de voeding en de aanwezige micro-organismen in de bodem zijn van belang. Daar deze factoren gedurende het leven van de plant continu veranderen, zal de geïnduceerde weerbaarheid gedurende het hele leven van de plant niet altijd optimaal functioneren.

De nadruk in het onderzoek naar deze geïnduceerde, weerbaarheid ligt op twee verschillende vormen van resistentie: 'systemic acquired resistance' (SAR) en 'induced systemic resistance' (ISR). Beide vormen van resistentie hebben verschillende karakteristieken en een verschillend werkingsspectrum. SAR werkt vooral tegen biotrofe pathogenen en ISR tegen necrotrofe pathogenen en insecten. Hoewel het mogelijk is gebleken beide mechanismen tegelijkertijd te induceren lijkt een antagonistische werking toch algemener op te treden. Beide mechanismen zijn niet geheel van elkaar te scheiden en zijn er bepaalde stoffen en processen die bij beide mechanismen voorkomen.
Naast onderzoek naar genen betrokken bij geïnduceerde resistentie tegen pathogenen is ook onderzoek gedaan naar genen betrokken bij de weerbaarheid van de plant tegen ongunstige omstandigheden met betrekking tot het klimaat en de groeiomgeving. Daarbij bleek dat bij beide processen soms dezelfde genen waren betrokken.

De energiebalans van de plant zal bij het induceren van een verhoogde vorm van weerbaarheid tijdelijk verstoord zijn. De plant zal energie moeten investeren aan het vergroten van haar weerbaarheid en die energie niet kunnen gebruiken voor groei of ontwikkeling. Wanneer in een jonge plant weerbaarheid wordt geïnduceerd zal de groei aanvankelijk achterblijven. Daar geïnduceerde resistentie echter vergeleken kan worden met immunisatie, zal er daarna geen energieverlies optreden.

Er zijn verschillende manieren om weerbaarheid tegen pathogenen te induceren. Inductie is mogelijk door biotische inductors (de plantpathogenen zelf), chemische inductors als salicylzuur (SA, inductie SAR) , groeiregulator als jasmonzuur (JA, inductie ISR), maar ook door abiotische factoren als voeding, verwonding, temperatuurextremen of waterstress. Voor dit laatste type behandelingen is geen toelating nodig en deze verkenning heeft zich daarom vooral op deze laatste factoren toegelegd. Niet alleen moet het juiste signaal voor inductie worden gekozen, ook moet dit signaal binnen de plant goed worden vertaald: de juiste genen moeten in de juiste volgorde tot expressie komen.

Er liggen dan ook mogelijkheden tot het induceren van resistentie met niet-chemische methoden door stress te geven aan de plant. Daartoe zal eerste instantie een verkenning moeten worden uitgevoerd om te onderzoeken wat met behulp van planteigen middelen de mogelijkheden zijn. De planteigen middelen salicylzuur (SA) en jasmonzuur (JA) komen voor een eerste verkenning in aanmerking. Door de antagonistische werking van SAR en ISR moet een duidelijke verschuiving in gevoeligheid voor het pathogeen optreden. Bij gebleken effecten van SA of JA kan daarna met andere, geen toelating vragende, middelen een stimulus aan de plant worden gegeven om deze planteigen producten zelf aan te maken, waarmee de resistentie tegen het specifieke pathogeen wordt vergroot.

Vragen die daarbij onderzocht kunnen worden zijn o.a.:

- gaat de inductie van een specifieke weerbaarheid gepaard met verandering in weerbaarheid tegen andere pathogenen en/of externe omstandigheden,
- welke winst in reductie aan gewasbeschermingsmiddelen kan worden behaald,
- in welke mate wordt het gewenste product beïnvloed?

Met name dit laatste aspect is van belang bij sierteeltproducten. Wanneer het uiterlijk van de plant door de behandelingen verandert, dreigt het gevaar dat bij een te grote afwijking dergelijke veranderingen niet geaccepteerd worden binnen de handelsketen. Daarnaast kunnen echter ook gunstige neveneffecten optreden als een verhoogde tolerantie voor de klimatologische omstandigheden.

Verder spelen een aantal secundaire aspecten mee bij dit onderzoek. In de glastuinbouw is niet alleen het overleven van de plant belangrijk. De plant moet goed en snel haar groei en ontwikkeling doormaken en een kwantitatief en kwalitatief hoge productiegraad hebben. Ook zal geïnduceerde resistentie nooit een 100% resistentie zijn. Boven een bepaalde infectiedruk zal de plant alsnog ziek worden. Waarschijnlijk gebeurt dat echter later in de tijd en is daarom alsnog mogelijk om, bijvoorbeeld met behulp van biologische bestrijding, de hoeveelheid gewasbeschermingsmiddelen toch te reduceren.

Het is een utopie te denken dat het mogelijk zal zijn om de algehele resistentie van de plant tegen alle pathogenen en alle ongunstige omstandigheden te vergroten. Er zijn aanwijzingen dat de twee processen, de weerbaarheid tegen pathogenen en tegen ongunstige klimaatomstandigheden, elkaar kunnen beïnvloeden. In vervolgonderzoek zal daarom een duidelijke keus moeten worden gemaakt voor een bepaald gewas en een specifiek pathogeen die of SAR of ISR induceert. Het is namelijk belangrijk dat andere, gerelateerde mechanismen binnen de plant intact blijven. Planten moeten nog wel getransporteerd kunnen worden, in het donker, zonder water, met temperatuurswisselingen en met de beweging die transport met zich mee brengt.

Voor dit type onderzoek lijkt het, praktisch gezien, weinig belangrijk te weten welke processen en in welke volgorde zij zich binnen de verschillende plantorganen afspelen. Dit is overigens ook niet mogelijk, omdat de mechanismen niet of slechts ten dele zijn opgehelderd. Ook het meten van de aanwezigheid van geïnduceerde resistentie is (nog) niet mogelijk en het is daarom niet uit te sluiten dat er al een bepaalde mate van resistentie tegen een specifiek pathogeen en/of bepaalde omstandigheden is geïnduceerd door de standaard teeltmethoden en het noodzakelijke transport.

# 1 Inleiding

Het beleid van opeenvolgende regeringen is gericht op de ontwikkeling van een duurzame en concurrerende agrofood sector, die via een betrouwbaar productieproces kwalitatief hoogwaardige producten levert. Deze visie heeft geleid tot de nota "Zicht op gezonde teelt, gewasbeschermingbeleid tot 2010", waarin het beleid voor de komende jaren is vastgelegd. Om dit beleid te verwezenlijken zijn een aantal doelstellingen met betrekking tot het gewasbeschermingbeleid geformuleerd. Deze behelzen onder meer het terugdringen van de inzet van chemische gewasbeschermingsmiddelen om op die manier te komen tot een geïntegreerde en gecertificeerde teelt.
Momenteel zijn bij de teelt van een groot aantal glastuinbouwgewassen chemische middelen (nog steeds) noodzakelijk om op rendabele wijze te komen tot een goed en concurrerend eindproduct.
Teneinde de totale hoeveelheid middelen op verantwoorde wijze terug te dringen is het nodig om te bekijken waar, wanneer en waarom deze middelen worden ingezet. Zo kan mogelijk al door een keuze in en aanpassing van de teeltmethoden het gebruik verminderd worden. Daarnaast is het noodzakelijk het gehele proces 'teelt', de keten van uitgangsmateriaal tot eindproduct, nader te bekijken.
Door specialisatie binnen de glastuinbouw kan deze keten in een aantal schakels worden onderverdeeld. Elke schakel heeft zijn eigen doel en daarmee zijn eigen specifieke beperkingen en zwaktes. Om van biologisch, geïntegreerd of gangbaar uitgangsmateriaal tot een goed eindproduct te komen zullen deze schakels naadloos op elkaar moeten aansluiten. Daarbij is het voor de hele keten van belang om uit te gaan van uitgangsmateriaal van optimale kwaliteit met een hoge weerbaarheid tegen levende (biotische) en niet-levende (abiotische) factoren en deze weerbaarheid gedurende de keten vast te houden. Immers, bij het vervolgen van de keten in de tijd zal het zonder chemische middelen zeer lastig zijn om eenmaal geïntroduceerde gevoeligheden voor omgevingsfactoren te elimineren.
Een aanzienlijk deel van de gebruikte middelen wordt in de eerste fase van de keten gebruikt, de zogenaamde vermeerderingsfase. Tijdens deze fase wordt een kiemplant vanuit zaad geproduceerd of een stek van een moederplant genomen. De kiemplanten en de al dan niet gewortelde stekken moeten vervolgens getransporteerd worden naar een teeltbedrijf, een volgende stap in de keten, om daar door te groeien tot een kwalitatief hoogwaardig product. Ook voor de biologische teelt is in deze eerste fase het gebruik van middelen toegestaan. Een reductie in gebruik bij deze schakel in de keten lijkt haalbaar. Echter, naast weerbaar tegen pathogenen moet in deze fase het gewas ook weerbaar blijven tegen omstandigheden die heersen tijdens het transport. De optimale omstandigheden tijdens deze periode zijn niet gedefinieerd en variëren dikwijls afhankelijk van afstand en duur van het transport en de verschillende weersomstandigheden, waardoor stress kan ontstaan.

Het fenomeen 'stress' heeft de laatste jaren veel aandacht gekregen in het onderzoek. Hierbij wordt onder stress verstaan: 'de toestand waarin in de plant bepaalde afweermechanismen in werking komen'. De laatste jaren is duidelijk geworden dat dergelijke afweermechanismen in de plant zelf aanwezig zijn. Onderscheiden wordt biotische stress, die veroorzaakt wordt door levende organismen, en abiotische stress, waarbij niet-biologische uitwendige omgevingsfactoren als weersomstandigheden en verzilting een rol spelen.
In deze literatuurstudie is gekozen voor een benadering vanuit de plant. Immers de plant moet reageren op de aanval van het pathogeen, goed doorgroeien en kwalitatief hoogwaardige productie leveren. Wanneer een plant onder niet optimale omstandigheden komt te staan, kan deze reageren door de aanwezige afweermechanismen aan te schakelen. Het niet optimale leefklimaat kan echter veel verschillende facetten betreffen en als response hierop kan de vertaling binnen de plant verschillend zijn.
Inmiddels zijn een aantal manieren bekend om de afweermechanismen binnen een plant te beïnvloeden door gebruik te maken van chemische middelen. Het gebruik van deze (nieuwe) middelen moet echter juist worden teruggedrongen. Ook is voor deze middelen toelating nodig en de kosten verbonden aan een dergelijke toelating zijn hoog. Daarnaast zal geen toelating worden aangevraagd wanneer er vooraf niet voldoende positieve gegevens bekend zijn om de kosten te rechtvaardigen. Voor een aantal kleinere gewassen uit de sierteelt en de glastuinbouw zijn de kansen daarom laag. Echter, naast de chemische middelen kunnen ook een aantal uitwendige omstandigheden als verwonding, temperatuur, waterhuishouding of samenstelling van de omgevingslucht deze afweermechanismen en daarmee de

intrinsieke weerbaarheid van de plant beïnvloeden.

## 1.1 Doel

Het doel van dit project is hiermee als volgt geformuleerd: Is het mogelijk tijdens de opkweekfase de plant zo te behandelen dat de intrinsieke weerbaarheid van de plant wordt verhoogd? Hieraan zijn een aantal randvoorwaarden gesteld:

- De gebruikte middelen mogen worden gebruikt zonder toelating.
- Er mogen slechts minimale neveneffecten zijn op de groeikracht en productie.
- De plant moet bestand blijven tegen de minder optimale omstandigheden zoals die optreden tijdens transport.

## 1.2 Aanpak

In de navolgende studie zijn de volgende vragen gesteld en beantwoord.

- Welke verdedigingsmechanismen staan een plant tot beschikking?
- Hoe reageert een plant op niet optimale condities, zowel wat betreft de groeikracht en productie als intrinsieke weerbaarheid?
- Hoe verhouden de momenteel optimale teeltcondities en transportcondities zich ten opzichte van de voorgestelde toepassingen?
- Welke mogelijkheden tot toepassing in de praktijk zijn aanwezig en zijn er negatieve effecten te verwachten?

Tot slot worden onderzoeksaanbevelingen gedaan om tot een hoogwaardige teelt met een verminderd gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen te komen.

# 2 Verdedigingsmechanismen

## 2.1 Inleiding

Planten zijn voortdurend blootgesteld aan veranderingen in de omgeving. Extreme temperatuur, droogte of juist teveel water, sterke lichtfluctuaties en andere extreme factoren kunnen potentieel schadelijk zijn voor de plant. Naast deze abiotische factoren komen ook biotische stressfactoren voor zoals plantpathogenen, vraat door herbivore insecten of andere dieren. Om onder al deze variërende omstandigheden te kunnen overleven moet de plant fysiologisch kunnen reageren. Het is sinds het begin van het fytopathologisch onderzoek bekend dat gewassen een verschillende mate van resistentie en tolerantie vertonen voor weersomstandigheden en plantenziekten en daar verschillend op kunnen reageren. Pas de laatste jaren is ook bekend geworden dat er in het erfelijk materiaal clusters genen aanwezig zijn die specifiek coderen voor locale en/of systemische resistentiemechanismen.

## 2.2 Onderzoek aan verdedigingsmechanismen

Wanneer een plant onder niet-optimale omstandigheden komt te staan of door een pathogeen wordt aangevallen zal er visueel effect zijn op de groei van de plant. Er kan niet worden onderscheiden of er een vorm van weerbaarheid actief is en zo ja, welke genenclusters daarbij zijn betrokken. Door het beschikbaar komen van nieuwe moleculaire technieken, de opheldering van het plantgenoom (o.a. van de modelplant *Arabidopsis*), onderzoek aan geselecteerde mutanten en het beschikbaar komen van gedefinieerd transgeen materiaal, is veel informatie verkregen over de genenclusters die zijn betrokken bij de afweerprocessen in de plant. Het onderzoek was zowel gericht op de weerbaarheid van de plant bij een aanval met een pathogeen als ook op de weerbaarheid onder niet-optimale condities. Veel onderzoek is en wordt uitgevoerd naar de pathways die bij de deze processen betrokken zijn, bijvoorbeeld met behulp van 'differentiële screening'. Aan een groep planten wordt een stimulus ter inductie van resistentie gegeven en daarna wordt het verschil in genexpressie met de onbehandelde planten onderzocht. Op deze manier wordt inzicht verkregen welke genen en in welke volgorde deze zijn betrokken bij resistentie, soms zonder te weten waarvoor het desbetreffende gen codeert. Dit onderzoek kan ook worden uitgevoerd met mutanten of met transgeen materiaal. Van dit materiaal is een reactie van de plant op veranderde omstandigheden of op een pathogeen bekend of in het materiaal is een gen ingebouwd waarvan de betrokkenheid bij een proces wordt verwacht. Doordat het hier dikwijls planten betreft die slechts in één gen van de wildtype plant verschillen kan de rol van dit gen op een proces snel worden bestudeerd en/of snel geanalyseerd. Inmiddels zijn er, zowel op wetenschappelijk als op populair niveau, vele overzichten betreffende resistentiemechanismen verschenen waarin de problematiek op verschillende manieren wordt benaderd (27, 78, 79, 144, 146). Ook zijn er relaties aangetoond tussen geïnduceerde resistentie en de altijd aanwezige (constitutieve) resistentie (7, 170).
Punja beschrijft in een overzicht (120) de strategieën die de plant tot haar beschikking heeft om de weerstand tegen pathogenen te verhogen. In dit overzicht is een lijst van transgeen materiaal opgenomen, waarin het effect van specifieke genexpressie op de ontwikkeling van een bepaalde plantenziekte wordt beschreven. Tevens vermeldt Punja dat bepaalde genproducten niet alleen worden aangemaakt na een infectie met een pathogeen, maar ook na veranderde uitwendige omstandigheden of door het overgaan van de plant naar een andere levensfase waarbij vooral veroudering wordt genoemd.

## 2.3 Vormen van weerbaarheid: tolerantie en resistentie

### 2.3.1 Tolerantie

Het vermogen van de plant om de nadelige gevolgen van een pathogeen of van een abiotische factor zo gering mogelijk te houden noemt men tolerantie. Tolerantie reduceert niet de oorzaak van de schade, maar beperkt de schade zelf. Anders dan bij resistentie moet bij tolerantie de veroorzakende factor, bijvoorbeeld het pathogeen, aanwezig zijn. Bij temperatuur, droogte en andere extreme omgevingsfactoren wordt dus altijd over tolerantie gesproken. Ook kan een plant tolerant zijn voor een bepaald pathogeen. Dat betekent dat het pathogeen wel aanwezig is maar de plant hier geen hinder van ondervindt in de te meten grootheid.

### 2.3.2 Resistentie

Hieronder verstaat men zowel (a) het vermogen van de waardplant om groei en activiteit van een pathogeen te bemoeilijken, als (b) het vermogen van de plant om een schadelijke chemische factor te neutraliseren. Binnen resistentie worden ook weer verschillende vormen van resistentie onderscheiden:

**(1) Verticale of absolute resistentie.**

Bij deze vorm van resistentie is slechts één of een beperkt aantal genen betrokken. Totale resistentie wordt momenteel niet als oplossing voor de toekomst gezien omdat door een kleine verandering in een gen van het pathogeen de plant niet meer in staat is het pathogeen te herkennen met als direct gevolg het verlies van resistentie.

**(2) Horizontale of partiële resistentie.**

Bij deze vorm is de plant tot een bepaalde infectiedruk immuun tegen een specifiek pathogeen. Tot die infectiedruk zal de plant niet, daarboven wel ziek worden. Deze laatste vorm van resistentie wordt als blijvender gezien, omdat meerdere genen van de plant betrokken zijn en een mutatie in een van die genen minder desastreus is voor de resistentie.

Naast de bovengenoemde twee vormen van constitutieve ofwel altijd aanwezige resistentie, kan resistentie worden geïnduceerd. Deze vorm van resistentie is dus niet automatisch aanwezig en wordt in gang gezet door de aanval van het pathogeen. De plant wordt als het ware geïmmuniseerd. In de volgende paragrafen wordt een overzicht van de onderzochte mechanismen gegeven en worden de relaties tussen de verschillende mechanismen gelegd.

## 2.4 Geïnduceerde resistentie

Geïnduceerde resistentie is een relatief jong begrip en mogelijk een methode om de resistentie van gewassen tegen pathogenen te verhogen. In dit rapport ligt de nadruk op deze vorm van weerbaarheid. Onder niet-optimale omstandigheden en/of na een pathogeeninfectie zal een plant reageren. Het uiterlijk van de plant kan veranderen, bijvoorbeeld een verminderde groei bij langdurig veel wind of lage temperatuur of een ander wortelstelsel op arme grond. Bij een infectie met een pathogeen kan een locale respons (Local Acquired Resistance, LAR) optreden, bijvoorbeeld in de vorm van lesies op het blad. Ook is het mogelijk dat de plant (gedeeltelijk) afsterft. Dikwijls worden deze veranderingen waargenomen zonder te weten hoe deze veranderingen tot stand komen. De mechanismen die hieraan ten grondslag liggen zijn slechts ten dele bekend.

De directe respons van de plant met betrekking tot pathogeen kan leiden tot 'priming'. Het betekent dat de plant direct, lokaal, reageert op een aanval door pathogenen of op veranderde omstandigheden, maar daarna herstelt en als het ware is geïmmuniseerd. Deze vorm van resistentie is niet visueel waarneembaar, is systemisch en de aanwezigheid wordt pas duidelijk na herinfectie met het pathogeen waarmee eerder is geïnfecteerd. Deze resistentie werkt echter niet alleen tegen het oorspronkelijk infecterend pathogeen, maar is veel breder en werkt ook tegen een reeks andere pathogenen. Deze priming (ook wel 'sensitization', 'potentiation' of 'immunization' genoemd) is induceerbaar met behulp van zowel biotische als abiotische factoren als osmotische stress, temperatuur stress en verwonding (27, 99 136). Geïnduceerde resistentie blijft niet automatisch gedurende het hele leven van de plant aanwezig, maar kan ook weer verdwijnen. Dit is

onder meer afhankelijk van de omstandigheden en de levensfase van de plant.

Voor het goed induceren van een of meerder resistentiemechanismen is het noodzakelijk dat het gehele proces goed verloopt. Dit houdt in dat, naast het geven van de stimulus tot inductie (een elicitor of een abiotische factor), deze stimulus ook wordt doorgegeven binnen de plant (signaaltransductie) zodanig dat de plant reageert en genen aanschakelt die de weerbaarheid op andere plaatsen verhogen. Hiervoor is niet één enkele stap nodig, maar een aantal goed op elkaar afgestemde veranderingen in het metabolisme van de plant die kan leiden tot een directe respons van de plant op het moment van een volgende aanval door een pathogeen.
De twee meest bestudeerde resistentiemechanismen zijn de Systemic Acquired Resistance (SAR) die voornamelijk resistentie geeft tegen zich op levend weefsel voedende (biotrofe) pathogenen, en de Induced Systemic Resistance (ISR), die voornamelijk resistentie geeft tegen zich op dood weefsel voedende (necrotrofe) pathogenen en insecten.
Bij de inductie van deze resistentiemechanismen blijken actieve zuurstofmoleculen (Reactive Oxygen Species, ROS) betrokken te zijn die via verhoogde concentraties, een oxidatieve burst, ontstaan; dit is vooral onderzocht bij SAR (zie §2.4.1). Deze ROS zijn niet plantspecifiek maar komen algemeen voor bij eukaryoten. Ze spelen een rol bij veel dierlijke aandoeningen als reuma (98), ziekte van Parkinson, ziekte van Alzheimer (102) en andere ziekten. Een verhoogde concentratie aan ROS is ook gevonden wanneer planten worden blootgesteld aan abiotische stress als verwonding, temperatuurstress, droogte- of zoutstress (47, 179).
Resistentie kan ook geïnduceerd worden met een aminozuur, ß-aminoboterzuur (BABA), dat niet in eiwitten voorkomt maar een neurotransmitter is (26, 50, 86, 140, 184, 185). Daar het werkingsmechanisme niet is opgehelderd en toelating voor BABA nodig lijkt, wordt dit verder buiten beschouwing gelaten. Wel kon BABA de weerbaarheid effectief verhogen wanneer de inductie van SAR en van ISR niet weerbaarheidverhogend werkt (184).

### 2.4.1 Systemic Acquired Resistence (SAR)

Al sinds de jaren zestig (129) is bekend dat na een aanval van een pathogeen niet alleen een locale afweerreactie kan optreden, maar dat het ook mogelijk is dat de gehele plant langere tijd minder vatbaar wordt voor een groot aantal andere pathogenen dan het oorspronkelijk infecterende pathogeen. Dit verschijnsel is onder andere aangetoond in komkommer (66). Hiertoe is een incompatibele interactie (=verticale resistentie) tussen waardplant en pathogeen noodzakelijk, d.i. een directe herkenning van een product van het pathogeen door de plant, ook wel gen-om-gen relatie genoemd. Deze plant-pathogeen herkenning gaat gepaard met een overgevoeligheidsreactie, de hypersensitieve reactie (HR), die leidt tot kleine, necrotische plekjes, lesies genaamd.
Tijdens de HR ontstaat een oxidatieve burst (zie kader, 25, 91, 130) die uiteindelijk leidt tot celdood, en tot een versterking van het omliggend weefsel middels callose afzetting. De afgestorven cellen vormen de zichtbare lesies; de callose afzetting zorgt ervoor dat het pathogeen wordt afgesloten van het omliggend weefsel en zich niet verder kan verspreiden in de plant.
Het signaal dat gegenereerd wordt kan zich verder door de plant verspreiden, zodanig dat een systemische resistentie (SAR) tegen meerdere pathogenen ontstaat (66), die gedurende een bepaalde tijd kan aanhouden. De plant wordt als het ware geïmmuniseerd. Deze resistentie is echter niet volledig want bij een te hoge pathogeendruk kan de plant alsnog ziek worden.
Naast de vorming van met het oog zichtbare lesies wordt SAR gekenmerkt door:

1. Een groot aantal 'pathogen-related' (PR) eiwitten. Deze eiwitten zijn niet pathogeen-specifiek gebleken en zijn in een groot aantal verschillende klassen in te delen (144). In deze groepen zijn glucanases, chitinases, een aantal eiwitten met antibacteriële of antischimmel eigenschappen, osmotine, proteinases en peroxidases gevonden. Ook zijn er eiwitten gevonden waarvan de functie nog niet bekend is. De ophoping van deze PR-eiwitten wordt onder meer gebruikt als toetsmethode om aan te tonen of SAR in de plant is geïnduceerd. Niet alle planten produceren echter alle en/of dezelfde klassen van PR-eiwitten bij de inductie van SAR (95, 144).
2. Een toename in de hoeveelheid salicylzuur (salicylic acid, SA). SA is noodzakelijk voor het induceren van SAR. Wanneer SA aan de plant wordt toegediend kan SAR worden geïnduceerd. In genetisch

gemodificeerde transgene planten is een gen ingebouwd dat middels een salicylzuur hydroxylase SA direct omzet tot catechol, waardoor SA niet kan accumuleren, met als direct gevolg dat geen SAR meer kan worden geïnduceerd. Daar SA in oplossing instabiel is, zijn op SA gelijkende stoffen ontwikkeld die minder snel worden afgebroken, als INA en BTH (76).

SAR is een resistentiemechanisme dat een verhoogde weerstand geeft tegen biotrofe pathogenen. Om die reden wordt er wereldwijd onderzoek verricht naar het SAR-proces. Met dit onderzoek zijn processen gekarakteriseerd en genen geïsoleerd en geïdentificeerd die ook bij andere processen dan alleen de SAR-inductie een rol spelen. De inductie van SAR is daarom niet een op zichzelf staand proces, maar meer een cascade van gebeurtenissen die elkaar in een bepaalde volgorde moeten opvolgen en die relaties heeft tot de andere processen binnen de plant. Wanneer het proces gekarakteriseerd is, moet het mogelijk zijn om in het proces in te grijpen en SAR op een andere manier aan te schakelen. Het onderzoek naar SAR heeft veel relatie met onderzoek naar oxidatieve stress. Met het onderzoek aan SAR/oxidatieve stress en het gebruik van SA-deficiënte mutanten is een deel van de stappen die voor de inductie van SAR nodig zijn opgehelderd. Inmiddels zijn er vele modellen die SAR in relatie tot processen in de plant beschrijven (100, 151, 152, 153, 154, 155, 156). De signaaltransductie en de mogelijk daarbij betrokken verbindingen zijn slechts gedeeltelijk gekarakteriseerd.

**Oxidatieve stress**
Wanneer planten onderhevig zijn aan stress, zowel biotisch als abiotisch, hebben ze één factor gemeen, en dat is een verhoogde productie van actieve zuurstofmoleculen (reactive oxygen species, ROS) als superoxide ($O_2^-$, waterstofperoxide ($H_2O_2$), het hydroxyl radicaal ($OH^-$) en stikstofmonoxide NO (11, 25). ROS zijn zeer schadelijk, zowel voor het pathogeen maar ook voor de plant zelf (24).
De ROS worden waarschijnlijk gevormd via activering van een membraan gebonden NADPH-oxidase complex (24). Als de concentratie ROS te hoog wordt ontstaat oxidatieve stress, een algemeen bij alle eukaryoten voorkomende toestand. Hiertegen zal de plant zich proberen te beschermen met de vorming van anti-oxidantia als bijvoorbeeld L-ascorbinezuur (vitamine C) en tocopherol (vitamine E) en enzymen die betrokken zijn bij het onschadelijk maken van de ROS als catalases en peroxidases (17, 143). Deze beschermende antioxidatieve systemen zijn algemeen in planten aanwezig. ROS zijn waarschijnlijk ook direct betrokken bij genexpressie.
Er bestaan middelen om ROS te introduceren in de plant, zowel via chemische weg met o.a. de gewasbeschermingsmiddelen paraquat en acifluorfen (6) als via genetisch gemodificeerde planten (72). Ook is het mogelijk de productie van ROS te remmen, zowel chemisch als door veranderde omgevingsomstandigheden als een verlaagde zuurstofspanning.

Bij de hypersensitieve reactie (HR; zie boven) is de betrokkenheid van ROS aangetoond. De mechanismen volgens welke deze reactie verloopt, zijn nog niet opgehelderd. Door de verhoogde concentratie ROS wordt de overgevoeligheidsreactie beïnvloed met als gevolg locale celdood (apoptose of necrose, afhankelijk van de concentratie ROS (24)). Dit wordt zichtbaar als een lesie, een necrotisch plekje en daarbij wordt SA gesynthetiseerd. Onder invloed van o.a. SA wordt later in de tijd ook in de omliggende niet geïnfecteerde cellen een oxidatieve burst waargenomen (24, 154). Mogelijk zijn zelfs twee oxidatieve bursts noodzakelijk voor de inductie van SAR (148, 149, 154). De eerste burst kan op vele manieren tot stand komen, bijvoorbeeld door verwonding en hierbij wordt het enzym PAL geactiveerd, dat ervoor zorgt dat SA uit benzoëzuur wordt gesynthetiseerd.
De tweede oxidatieve burst is afhankelijk van een gen-om-gen relatie om het programma 'celdood' te volbrengen. Hierbij wordt ook SA gevormd. Het signaal wordt doorgegeven aan de omliggende cellen en weefsels. Dit veroorzaakt de expressie van de verdedigingsgenen in andere delen van de plant en op die manier worden deze delen van de plant immuun zonder in contact te zijn geweest met het pathogeen zelf. Het signaal dat deze resistentie binnen de plant doorgeeft is niet bekend. Aanvankelijk dacht men dat het SA zelf was dat door het floeem werd getransporteerd. Met behulp van labelingsstudies bleek echter, dat in het oorspronkelijk niet-geïnfecteerde weefsel SA grotendeels ter plaatse gesynthetiseerd werd.

In planten groeiend onder niet-optimale omstandigheden kunnen ook ROS worden gevormd. Deze ROS kunnen gemeten worden (177) en daarmee kunnen de niet-optimale omstandigheden die tot ROS-vorming leiden en mogelijk betrokken zijn bij de inductie van resistentie geïdentificeerd worden (105).
Het mogelijke verschil tussen de toestand van oxidatieve stress in de cel veroorzaakt door abiotische stress en door biotische stress lijkt te moeten worden gezocht in het locale effect bij infectie. Abiotische stress wordt meestal waargenomen door de hele plant of een specifiek orgaan. Bij infectie door een pathogeen en de daarmee gepaard gaande verwonding (dat is een vorm van abiotische stress), wordt slechts één of een klein aantal cellen aangezet tot een verhoogde productie van ROS en daarmee tot celdood. Wanneer de plant normaliter in staat is tot het neutraliseren van ROS middels het antioxidatieve systeem (zie kader), is voor te stellen dat de concentratie van ROS bij de inductie van SAR vele malen hoger is dan door het antioxidatieve systeem van de geïnfecteerde cel kan worden geneutraliseerd. Als deze hoge ROS-concentratie zou plaatsvinden bij abiotische stress, zou echter de hele plant afsterven. Wanneer voor verhoogde resistentie inderdaad twee opeenvolgende stimuli tot inductie nodig zijn is het mogelijk dat met minder ROS toch resistentie kan worden geïnduceerd. Ook lijkt het mogelijk om abiotische stress plaatselijk toe te dienen.
De relatie tussen SAR, SA en oxidatieve stress lijkt niet 100%. Bij de inductie van SAR (via een gen-om-gen reactie) in een celkweek van tabak trad resistentie op. Hierbij werden bij 290 genen veranderingen in genexpressie waargenomen. Als de productie van ROS werd geremd, werd bij 263 van de 290 genen toch nog steeds een veranderde expressie aangetoond (35).
Wanneer rijstbladeren met SA werden behandeld accumuleerde $H_2O_2$ in de bladnerven en de peroxidase-activiteit werd geremd; $H_2O_2$ accumulatie werd ook gemeten wanneer rijst werd geïnfecteerd met het pathogeen *Magnaporthe grisea*. Hieruit is geconcludeerd dat SA via $H_2O_2$ oxidatieve stress in rijst induceert, wat wijst op een gemeenschappelijk signaal tussen SA en het pathogeen (39). Echter, de expressie van ascorbaat peroxidase (APX), een enzym dat snel tot expressie komt bij de HR in tabak en betrokken is bij het onschadelijk maken van ROS, werd wel geremd door een verlaagde zuurstofspanning, maar niet door SA (91).

### 2.4.2 Induced systemic resistance (ISR)

In de bodem komen van nature veel niet-pathogene bacteriën voor. Bij de wortels kunnen ze antagonistisch werken tegen de pathogene bacteriën door concurrentie om de aanwezige voedingsstoffen. Daarnaast kunnen deze bacteriën componenten afscheiden, onder andere groeiregulatoren, waardoor groei van de plant kan worden bevorderd. Daarom worden ze wel Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) genoemd. Deze bacteriën behoren dikwijls tot de *Pseudomonas* of *Bacillus* familie. Stammen van deze bacteriën of mengsels daarvan zijn commercieel verkrijgbaar en kunnen worden toegevoegd aan de bodem. De werking van deze stammen berust niet op alleen het contact met de plant, maar is specifieker (10).
Een aantal van deze inmiddels goed gekarakteriseerde *Pseudomonas* stammen kunnen actief ISR induceren. Hoe dit exact verloopt is echter niet opgehelderd. De werking van verschillende andere, zowel op (epifyten; 142) als in (endofyten; 18, 122) de plant levende micro-organismen, mycorrhizae (146, 45) of *Trichoderma* (22) berust mogelijk op het zelfde principe.
Toch is de aanwezigheid van deze micro-organismen in de grond geen garantie voor het induceren van ISR. Sommige stammen van *Pseudomonas fluorescens* en mycorrhizae die in de ene plantensoort of cultivar wel geïnduceerde resistentie geven tegen een bepaald pathogeen doen dat niet bij een andere plant of bij een ander pathogeen (75, 45). Er was geen duidelijk onderscheid te maken tussen stammen die al dan niet ISR konden induceren. Wel bleek er bij inductie een duidelijke relatie tussen de gebruikte stam, de plantensoort en het pathogeen (126, 75). Stammen die bij tomaat en bij komkommer ISR induceerden, gaven geen resultaat bij pinda (184).
Met afzonderlijke stammen en met mengsels daarvan is de geïnduceerde resistentie tegen verschillende pathogenen en combinaties daarvan onderzocht in komkommer (126). Hoewel er een duidelijk verhoogde resistentie tegen een aantal pathogenen werd waargenomen na de toevoeging van PGPB bleek dat bij mengsels, zowel van de stammen als van de pathogenen, de resultaten niet altijd even voorspelbaar waren. De groeibevorderende werking in combinatie met de ISR-inducerende activiteit is onderzocht in *Arabidopsis* gekweekt op een agarbodem (132). Niet alle stammen hadden eenzelfde werking en de afstand van de plant tot het inoculum bleek bepalend te kunnen zijn voor het effect, daarmee een factor suggererend die

door de agar kan diffunderen. Ook had de ene stam een andere groeibevorderende activiteit dan de andere. De relatie tussen de resistentie-inducerende werking enerzijds en de groeibevorderende werking anderzijds was niet duidelijk. Blijkbaar is óf de elicitor van de gemedieerde ISR inductie specifiek óf het signaal wordt niet gevolgd door signaaltransductie waardoor resistentie uit blijft.
ISR onderscheidt zich van SAR doordat ISR geen necrose in de plant veroorzaakt en na de inductie van ISR voornamelijk resistentie tegen insecten en necrotrofe pathogenen wordt waargenomen. Na de inductie van ISR worden slechts zeer kleine aantallen (basische) PR-eiwitten en andere 'defense compounds' gevonden. De inductie van ISR gaat gepaard met een verhoging van de concentratie jasmonzuur (JA) en/of het vluchtige methyljasmonaat (MeJA) en ethyleen (168, 160, 161). Ook kan de gevoeligheid voor deze groeiregulatoren veranderen, waardoor deze in bij gelijkblijvende concentratie een groter effect hebben (113). ISR kan direct worden geïnduceerd door JA en MeJA, in samenspel met ethyleen.
De tot ISR leidende signaaltransductie is onderzocht. Drukgolven en elektrische signalen (160) zijn potentiële kandidaten geweest waarbij ook veranderingen zijn waargenomen, maar momenteel wordt systemine als belangrijkste factor gezien (160, 28). Systemine is een klein peptide dat op de plek van verwonding wordt gesynthetiseerd en via het floeem naar andere delen van de plant kan worden getransporteerd. Daar kan het binden aan een membraangebonden receptor, waarna waarschijnlijk via de MAP kinase cascade verdedigingsmechanismen worden geactiveerd (149).

### 2.4.3 Relaties tussen SAR en ISR

SAR en ISR hebben een verschillend werkingsspectrum (biotrofe respectieflijk necrotrofe pathogenen en insecten) en een aantal verschillende karakteristieken. SAR is gerelateerd aan SA, ISR aan JA en ethyleen. Om de zaak nog ingewikkelder te maken kan met JA ook SAR geïnduceerd worden, kan JA accumuleren na de HR en ethyleen kan bij beide processen een rol spelen (167). Het samenspel tussen deze groeiregulatoren is bepalend voor de cascade aan gebeurtenissen binnen de plant die uiteindelijk kan leiden tot een veranderde resistentie. Hoewel dikwijls afzondelijk beschreven, werken de pathways niet geheel onafhankelijk van elkaar (114).
Meermalen is een antagonisme tussen beide systemen beschreven, zoals het moeilijker induceren van ISR na het toedienen van SA (161, 33), maar een gelijktijdig induceren van SAR en ISR is ook mogelijk (174). Er zijn ook praktijkvoorbeelden van een antagonistische werking. Rassen die tolerant of resistent zijn voor een bepaalde ziekte, kunnen gevoeliger worden voor andere pathogenen. Het is niet duidelijk of dit verschijnsel te maken heeft met het resistentiemechanisme in de plant zelf of dat het simpelweg de concurrentie om nutriënten betreft.
Een aantal voorbeelden van de relatie tussen SAR en ISR zijn:

1. Voor de inductie van zowel SAR als ISR is een intact NPR1-gen (ook genoemd: NIM1 of SAI1 (4) noodzakelijk. Wanneer dit gen defect was, werd noch ISR noch SAR verkregen en werd een verminderde basisresistentie waargenomen (167). Blijkbaar is de manier waarop dit gen wordt geactiveerd bepalend voor het verdere verloop van de genen die betrokken zijn bij de signaaltransductie die leidt tot de resistentie. Wel werd nog resistentie verkregen na een behandeling met BABA, wat aangeeft dat BABA waarschijnlijk na het NPR1 gen aangrijpt.
2. Bij de inductie van SAR wordt een verhoging in ROS waargenomen. Deze ROS kunnen celdood veroorzaken, zichtbaar als lesies. Onder invloed van ROS wordt het antioxidatieve systeem geactiveerd, waarbij onder andere lipoxygenases een rol spelen. Bij de inductie van ISR wordt een verhoging van JA waargenomen, dat ook middels lipoxygenase uit linoleenzuur wordt gesynthetiseerd. Hierbij wordt als bijproduct superoxide gevormd, een van de induceerders van de oxidatieve burst (159). Hierdoor lijkt betrokkenheid van een oxidatieve burst voor de inductie van ISR niet uitgesloten, hoewel deze burst niet zo groot is dat er zichtbare lesies gevormd worden. Mogelijk is niet het endogene lipoxygenase van de plant betrokken, maar is het enzym afkomstig van het pathogeen (175).
3. Ethyleen is noodzakelijk bij de inductie van ISR. Ook is een verhoging in de gevoeligheid voor ethyleen beschreven (113). Bij het ontstaan van lesies, necrotisch weefsel, komt ethyleen vrij. De rol van ethyleen is tweeërlei: soms geeft verhoging van de ethyleen gehalte een verhoogde resistentie, soms een grotere vatbaarheid. Aangenomen wordt dat ethyleen eerder bij de symptoomontwikkeling een rol speelt dan niet direct bij de ontwikkeling van resistentie.
4. Bij de PGPB die ISR kunnen induceren zijn stammen bekend die SA produceren (75).

5. Een mutant van *Arabidopsis* met een niet actief MAP kinase 4 (een enzym betrokken bij de intracellulaire signaaltransductie) vertoonde een verhoogde resistentie tegen virulente pathogenen, een verhoogd SA niveau en expressie van een PR eiwit, m.a.w. SAR. Wanneer dit MAP kinase wel actief was werd SAR onderdrukt. Wel was dit MAP kinase 4 noodzakelijk voor het tot expressie komen van de op JA responsieve genen (112).

### 2.4.4 Relatie abiotische en biotische inductiemogelijkheden voor resistentie

Momenteel wordt veel onderzoek verricht naar de genenclusters die betrokken zijn bij het induceren van SAR en ISR en hoe dit proces te bewerkstelligen. Naast onderzoek waarbij naar veranderingen in genexpressie ten gevolge van inductie van resistentie tegen pathogenen is gekeken, zijn ook veranderingen in genexpressie in kaart gebracht bij het verhogen van de tolerantie van gewassen tegen ongunstige weersomstandigheden als waterstress, extreme temperatuurfluctuaties of zouttolerantie. Bij een vergelijking van deze beide genexpressiepatronen bleken een aantal genen zowel bij resistentie tegen pathogenen als bij tolerantie tegen ongunstige omstandigheden betrokken. Een aantal ervan lijkt een algemene functie te hebben, zoals genen betrokken bij de oxidatieve burst (35, 67) of genen betrokken bij het onderhoud van de cel (135).
Op die manier zijn genen gevonden en geclassificeerd die zowel betrokken zijn bij resistentie tegen pathogenen als bij tolerantie tegen abiotische stress. Door te kijken wanneer en waar in de plant een gen tot expressie komt is ook de volgorde van de processen in kaart gebracht.
Voor *Arabidopsis* is een microarray beschikbaar (135), waarop de veranderingen in genexpressie te vinden zijn die 24 uur na het geven van verschillende stimuli optraden. Wanneer als stimulus *Alternaria* werd gebruikt werden toch vele andere genen geactiveerd dan wanneer SA, JA of ethyleen werd gebruikt.
De signaaltransductie heeft plaats op verschillende niveaus. Het eerste lokaal gegeven signaal moet signalen afgeven die naar de andere delen van de plant worden overgedragen en die daar ter plekke intracellulaire signalen afgeven die in de celkern worden vertaald en zorgen voor het tot expressie komen van bepaalde genen die resistentie verhogen. Wanneer bijvoorbeeld SA wordt gegeven mag worden verwacht dat de genen die noodzakelijk zijn voor de inductie van SAR in de juiste volgorde tot expressie komen. SA blijkt echter, behalve direct betrokken bij SAR, ook nauw betrokken bij temperatuurtolerantie (151) en tolerantie tegen zoutstress (13). Ook JA lijkt betrokken bij zoutstress en bij droogtestress (84). Zo zijn met een groot aantal stimuli voor de diverse pathways van resistentiemechanismen in een groot aantal gewassen vele genen geïdentificeerd en in kaart gebracht. Het aantal is in hoog tempo groeiende.
De verandering in genexpressie bij inductie met behulp van abiotische stress duurt minder lang of is lager dan bij biotische stress (103). Daarom worden ter inductie van resistentiemechanismen tegen pathogenen wel twee inductiestimuli aan de plant gegeven (154, 148). De uiteindelijke oxidatieve burst werd hoger dan de som van de twee wanneer afzonderlijk gegeven. Echter, de twee gegeven stimuli kunnen elkaar ook tegenwerken. Bij combinatie van een osmotisch geïnduceerde oxidatieve burst en een elicitor (celwandpreparaat) geïnduceerde oxidatieve burst bleek het uiteindelijk resultaat afhankelijk van welke stimulus het eerst was toegediend (20).
Door de interactie tussen de processen van resistentie tegen pathogenen en tolerantie tegen abiotische stress, is het zelfs voor te stellen dat deze twee elkaar ook negatief kunnen beïnvloeden en wel door verlies van pathogeen resistentie bij een verandering in omgevingsfactoren. Dit fenomeen is inderdaad waargenomen (145).
De mate waarin de stress wordt gegeven is eveneens belangrijk. Een 'matige' abiotische stress bij gerst en boon liet een verhoogde resistentie tegen het ene pathogeen zien, maar ging wel samen met een verhoogde gevoeligheid voor een tweede pathogeen (104). Er werd geen verandering in groei van de plant waargenomen. Bij een verhoging van het stressniveau bleef de plant in groei achter en veranderden de resistentieniveaus voor beide pathogenen (104).
Er zijn intussen talloze voorbeelden van genen die zowel bij biotische als bij abiotische stress zijn betrokken, zoals de betrokkenheid van de oxidatieve burst bij zowel abiotische als biotische stress. Ook bij de signaaltransductie nodig voor het verlopen van het gehele proces komen gemeenschappelijke factoren voor. Naast het onderzoek waarbij naar de afzonderlijke factoren van het proces is gekeken, zijn er resultaten waarbij de totale weerbaarheid van de plant tegen pathogenen door een abiotische stimulus daadwerkelijk is vergroot (137, 96). In veel modellen die schematisch de inductie van pathogeenresistentie

weergeven zijn dan ook zowel biotische als abiotische factoren opgenomen (36).
De afzonderlijke factoren kunnen niet los van elkaar gezien worden. Experimenten worden nu eenmaal altijd onder bepaalde condities uitgevoerd. Dit maakt het mogelijk dat eenzelfde factor bij verschillende gewassen, standaard onder andere condities geteeld, andere resistenties tegen pathogenen oplevert.
Niet alleen is een inductor nodig voor resistentie, maar de hele cascade van daarna optredende reacties bij de signaaltransductie moet goed verlopen. De abiotische factoren die bij de inductie van resistentiemechanismen zijn onderzocht zijn vergelijkbaar, het proces of gen dat is bekeken is dit dikwijls niet.
Wanneer de eerste stap in het proces 'inductie van resistentie tegen pathogenen' wordt gezet zullen genen worden gevonden die een verandering laten zien in expressie niveau. Wanneer een zelfde verandering in genexpressie wordt gemeten onder invloed van bijvoorbeeld een gen-om-gen reactie bij de HR en een abiotische stress betekent dit echter niet dat alle stappen die nog moeten worden gezet om daadwerkelijk resistentie te verkrijgen ook inderdaad zullen volgen. Naarmate later in het proces wordt gekeken (bijvoorbeeld synthese van PR eiwitten) en tevens in een ander deel van de plant waar de systemische resistentie tot uitdrukking moet komen, is de kans groter dat er inderdaad resistentie zal optreden. Dit kan ook worden opgemerkt bij een gemeten verandering in een enzymactiviteit die een rol speelt bij resistentie. Een enzym kan echter een rol spelen in verschillende pathways in de plant en een verandering in activiteit hoeft niet noodzakelijkerwijs het beoogde doel, resistentie, tot gevolg te hebben. Dit wordt mede beïnvloed door factoren als bijvoorbeeld cellulaire lokalisatie en pH (176).

## 2.4.5 Abiotische stress als middel voor de inductie van resistentiemechanismen.

Ondanks alle maren en bezwaren die geopperd kunnen worden tegen het induceren van resistentie middels abiotische factoren, is het aantal genen, eiwitten en andere afgeleiden die al dan niet vroeg of laat tot resistentie leiden, langzamerhand erg groot. Wel blijft er een niet opgehelderde relatie tussen gewas, pathogeen en de inductor van resistentie afhankelijk van externe omstandigheden over. Er zijn vele modellen beschreven waarin de relatie tussen abiotische factoren inclusief plantenvoeding en pathogeenresistentie wordt gelegd (35, 67, 69, 128). Ook is daadwerkelijk verhoogde resistentie in een gewas tegen een pathogeen aangetoond en omgekeerd, verlies aan resistentie onder invloed van abiotische stress. Eveneens zijn er pathways bekend die een rol spelen bij de signaaltransductie van zowel pathogeenresistentie als abiotische stress tolerantie (75).
De gebruikte vormen van abiotische stress zijn van allerlei aard. De hieronder vermelde abiotische stressen zijn een of meerdere malen in de literatuur vermeld en de resultaten lopen van daadwerkelijk gerealiseerde resistentie tegen een pathogeen tot een verandering in expressie van een bepaald gen in de cascade van processen die tot pathogeenresistentie kunnen leiden. Ook wordt wel gesteld dat deze abiotische factoren de resistentie niet induceren, maar moduleren (zie § 2.4.7.5 en referentie 73). Op dit moment is niet aan te geven of inderdaad inductie plaats heeft gehad of een bestaand, al dan niet laag, resistentieniveau positief of negatief wordt gemoduleerd.

### 2.4.5.1 Verwonding en aanraking

Verwonding is een goed bestudeerde vorm van abiotische stress die automatisch optreedt wanneer een pathogeen bij zijn aanval de plant beschadigt. Aanraking is niets anders dan een milde vorm van verwonding die bijvoorbeeld zal optreden bij 'handling' zoals bij transport van planten of in een ecosysteem bij harde wind.
De veranderingen in genexpressie bij verwonding zijn veelvuldig beschreven (14, 16, 19, 30, 35, 42, 46, 49, 56, 61, 71, 87, 93, 97, 109, 111, 121, 127, 134, 137, 178, 183), temeer daar deze behandeling als controle wordt meegenomen bij de bestudering van een pathogeenaanval. Verwonding alleen geeft vele veranderingen in genexpressie en deze kunnen, al dan niet in combinatie met een tweede (a)biotische stress, leiden tot expressie van genen betrokken bij pathogeenresistentie en zelfs tot resistentie zelf (137, 149).

### 2.4.5.2 Osmotische stress

Osmotische stress kan op verschillende manieren worden verkregen, bijvoorbeeld door een suiker- of een

zoutstress. Uit onderzoek uitgevoerd bij de veredeling van gewassen die tolerant zijn voor zilte gronden, zijn genen gekarakteriseerd die tevens betrokken zijn bij resistentie tegen pathogenen (14, 15, 19, 61, 97, 110, 147).

#### 2.4.5.3 Waterstress

Waterstress kan zowel door een teveel (overstroming) als een tekort aan water (droogte) worden veroorzaakt. De waterhuishouding van de plant wordt gereguleerd door het openen en het sluiten van huidmondjes bij welk proces zowel de groeiregulator ABA als ROS zijn betrokken. Ook hier zijn genen gevonden en gekarakteriseerd (15, 19, 61, 63, 82, 127) die tot expressie komen bij zowel een verstoorde waterhuishouding als bij pathogeenresistentie. Ook relatieve luchtvochtigheid valt hieronder.

#### 2.4.5.4 Voeding en bemesting

Het voedings- en bemestingsniveau van verschillende gewassen is goed onderzocht. Wanneer gewassen op water worden geteeld is de EC en de daarbij behorende pH beschreven. Vooral elementen als stikstof en fosfaat en de vorm waarin dit wordt gegeven, fosfaten, bemesting met $CO_2$ en sporenelementen die co-factor kunnen zijn bij oxidatieve enzymen zijn bekeken. IJzer, een element dat in de Fenton of Habermann-Weiss reactie bij de vorming van ROS is betrokken, kan bij bodemgebonden bacteriën het verschil tussen resistentie en gevoeligheid doen ontstaan. Ook fenolen, oxalaat of andere verbindingen zijn getoetst omdat deze vaak in plantenextracten van resistente gewassen aanwezig zijn. Daarnaast zijn bijvoorbeeld ook ruwe extracten van bladeren van resistente gewassen getoetst. Deze factoren bleken, afzonderlijk of in combinatie, de resistentie van de plant te kunnen beïnvloeden (15, 21, 34, 44, 52, 55, 56, 60, 87, 92, 106, 133, 150, 171, 180).

#### 2.4.5.5 $CO_2$, $O_2$ en ozon

In het kader van milieuverontreiniging en het broeikaseffect is veel onderzoek gedaan naar onder andere ozon en de effecten van een verhoogde concentratie $CO_2$ in de lucht. Wanneer deze verbindingen niet continue maar als een pulse (kortdurende stoot) worden gegeven kunnen ze een positief effect hebben op het resistentieniveau van de plant (73, 119, 125). Een verlaagde zuurstofspanning kan ook resultaat hebben, mogelijk via een verlaagd ROS niveau.
Dikwijls zijn deze factoren niet los te koppelen van elkaar. Een veranderde verhouding tussen $CO_2$ en $O_2$ wordt ook bijvoorbeeld gehanteerd bij bewaring onder 'conditioned atmosphere' (CA). Ozon kan, afhankelijk van de concentratie waarin gegeven, het resistentieniveau zowel juist verhogen als verlagen (73).

#### 2.4.5.6 Temperatuur

Ook temperatuur kan de resistentie beïnvloeden. Tijdens het induceren van resistentie is wel een verandering in expressie van heat-shock (hs) genen en in mindere mate 'cold regulated' (core) genen waargenomen (14, 19, 42, 49, 61, 87, 104). Veel onderzoek is gedaan aan de relatie tussen kou en suikers/koolhydraatgehalte ten aanzien van de gevoeligheid voor verschillende typen psychrofiele (koudeminnende) schimmels, een probleem bij de productie van tarwe in de noordelijke gebieden als Canada en Noorwegen. Resistente cultivars bleken gedurende de koudeperiode (winter) een hoger gehalte aan carbohydraten (fructanen) te hebben dan vatbare cultivars en deze ook trager te metaboliseren. Deze fructanen activeren een 'sugar-sensing' hexokinase dat signaaltransductie initieert, zodat in de gastheer vele verdedigingsgenen tot expressie komen (40). Bij het afharden met koude werden ook veranderingen in PR-eiwitten gezien die overeenkwamen met veranderingen die ontstaan bij een bepaald resistentieniveau tegen schimmels (169, 41).

#### 2.4.5.7 Licht en ultraviolette straling

De hoeveelheid ultraviolette (UV) straling, is afhankelijk van het jaargetijde en wordt gerelateerd aan milieuverontreiniging. Deze straling kan het resistentieniveau beïnvloeden en zelfs samen met verwonding resistentie induceren (5, 19, 85, 93, 96, 117, 139, 182).

UV kan invloed hebben op de activiteit van het PAL enzym betrokken bij de synthese van SA (56). Net als bij ozon moet onderscheid worden gemaakt tussen een continue blootstelling die in de meeste gevallen schadelijk is voor de plant en een kortdurende pulse behandeling. Wanneer UV als pulse wordt gegeven kan het een positief effect hebben op de ontwikkeling van de resistentie, al dan niet in samenhang met andere factoren zoals het voedingselement stikstof (52).

#### 2.4.5.8 Elektrisch veld

Een elektrisch signaal kan de resistentie beïnvloeden waarschijnlijk in relatie tot het ABA niveau (49; zie § 3.2.3).

### 2.4.6 Samenvatting

Er kan gesteld worden dat abiotische factoren genen kunnen aansturen die de weerbaarheid van de plant beïnvloeden, zowel tegen pathogenen als ook tegen de abiotische omstandigheden zelf. Daar dit proces verloopt binnen een zeer nauw luisterend geheel van op elkaar afgestemde processen kan dit een positieve maar ook een negatieve beïnvloeding zijn. Daarmee bestaat de kans dat bij het induceren van weerbaarheid tegen pathogenen een ander deel van de weerbaarheid, bijvoorbeeld de weerbaarheid tegen bewaring onder droge omstandigheden en in het donker (transport) verloren gaat. Op dit moment lijkt de weerbaarheid tegen pathogenen en de weerbaarheid tegen abiotische omstandigheden positief gecorreleerd. Veel onderzoek op dit gebied is echter nodig.

# 3 Groei, ontwikkeling en weerbaarheid

## 3.1 Inleiding

Naast zich verweren tegen biotische en abiotische bedreigingen moet de plant natuurlijk ook zijn natuurlijke levenscyclus doormaken: het produceren en kiemen van zaad, adventieve wortelvorming aan een stek, de vegetatieve fase gevolgd door de generatieve fase, verouderen en afsterven. Deze groei- en ontwikkelingsprocessen staan onder invloed van groeiregulatoren, ofwel plantenhormonen, die deze processen reguleren. Al eerder is opgemerkt dat een aantal van deze processen soms niet of minder goed verlopen wanneer bepaalde genen in de plant zijn ingebouwd (transgeen materiaal) of wanneer resistentie is geïnduceerd. Ook is bekend dat resistentie in het ene jaargetijde makkelijker kan worden geïnduceerd dan in een ander (verandering in uitwendige omstandigheden), dat bijvoorbeeld bij een gewas als chrysant oude, wat hardere, stekken resistenter kunnen zijn dan jonge stekken (mogelijk gerelateerd aan de hoeveelheid kalium) en dat bij de overgang van de ene levensfase van de plant naar de andere de resistentie kan verdwijnen (bijvoorbeeld bij de overgang naar de generatieve fase).
Niet alleen de plant zelf heeft deze hormonen. Veel van dit soort verbindingen of analogen daarvan worden ook geproduceerd en afgescheiden door de PGPB en kunnen mogelijk op die manier de groei van de plant beïnvloeden.
De processen betrokken bij weerbaarheid kunnen niet los gezien worden van de andere groei- en ontwikkelingsprocessen. Daarmee is de interactie tussen beide belangrijk. De meeste bij SAR en ISR betrokken planteigen chemische inducers als SA, JA en ethyleen zijn tevens plantenhormonen betrokken bij groei en ontwikkeling. Naast de eigenschappen als hormoon of groeiregulator hebben deze moleculen ook nog hun specifieke chemische eigenschappen, zoals cytokininen, die naast het tegengaan van veroudering ook een antioxidatieve werking hebben.

## 3.2 De relatie tussen plantenhormonen en resistentiemechanismen

Hieronder worden enige typische eigenschappen van een aantal bekende groeiregulatoren in relatie tot resistentiemechanismen en hun fysiologische rol beschreven.

### 3.2.1 Jasmonzuur en methyljasmonaat

Jasmonzuur wordt ook wel het 'stress' hormoon genoemd. Naast de rol bij de inductie van resistentiemechanismen speelt het een rol bij vele andere (stress) responses tijdens de ontwikkeling van de plant (158) zoals remming van de wortelgroei. Daartegenover staat juist een stimulatie van adventieve wortelvorming, remming van embryogenese en zaadkieming, het stimuleren van rustbreking bij zaden, het stimuleren van het rijpen van vruchten en veroudering, het stimuleren van knolvorming, het sluiten van huidmondjes, chlorofyl afbraak en ethyleen biosynthese en het ronddraaien van klimmende ranken. Mogelijk wordt dit stresshormoon ook gesynthetiseerd door andere, al dan niet pathogene organismen. Methyljasmonaat, de gasvormige methylester van jasmonzuur, wordt ook wel gebruikt om insecten af te weren, mogelijk via geïnduceerde resistentie, ISR.

### 3.2.2 Cytokinines

De plantenhormonen in de groep cytokinines, die veelal gesynthetiseerd worden in de wortels, spelen een rol bij processen in de plant als celdeling, differentiatie, vertakking en het tegengaan van veroudering. Daarnaast hebben ze als molecuul antioxidatieve eigenschappen en op die manier kunnen ze interfereren

met de oxidatieve stress response, de hypersensitieve reactie en daarmee het niveau van resistentie beïnvloeden (164, 165).
In transgene tabak, waarin een goed aantoonbaar PR-gen is ingebouwd, bleek dit gen niet alleen tot expressie te komen met SA, maar ook met een aantal vertegenwoordigers uit de groep cytokininen. JA en ethyleen lieten geen stimulering van de expressie zien. De mate van expressie was afhankelijk van de uitwendige omstandigheden en kon met andere groeiregulatoren, waaronder JA, worden gemoduleerd (164).
Pathogene schimmels kunnen cytokininen synthetiseren en afscheiden en mogelijk daarmee de sink-verhouding in plant-pathogeen interacties beïnvloeden. Of de productie van cytokininen, de hoeveelheid en het type, de pathogeniteit van deze schimmels beïnvloedt is niet bekend maar nog onderwerp van onderzoek (59).
De expressie van een PR-eiwit, leidend tot een veranderde gevoeligheid voor *Fusarium oxysporum*, kan door cytokinine worden gemoduleerd (120). Ook vertonen cytokininebindende eiwitten uit tabak die een rol spelen bij de signaaltransductie een homologie met het PR eiwit osmotine en een endochitinase (62). Van osmotine is bekend dat het 'antifungal' aktiviteit heeft (120).

### 3.2.3 Abscissine zuur (ABA)

ABA is een hormoon dat wordt gevormd onder condities van stress zoals verwonding, een aanval van insecten en droogte (openen en sluiten van de huidmondjes) en speelt een rol bij de inductie van rust. Bij de sluiting van huidmondjes onder invloed van ABA is een toename van ROS gevonden (24). Tevens speelt ABA een rol bij de resistentiemechanismen in de plant. Bij de hypersensitieve response (een stress fenomeen) is vastgesteld dat het ABA gehalte toeneemt (70).
Audenaert *et al.* (4) onderzochten de rol van ABA in SAR bij de afweer tegen de necrotrofe *Botrytis cinerea*, gebruikmakend van een ABA deficiënte *sitiens* mutant van tomaat (slechts een zeer laag ABA gehalte) versus het wildtype. Wanneer aan deze *sitiens* mutant, die resistent is tegen de necrotrofe *Botrytis cinerea* en *Sclerotinia sclerotiorum*, ABA werd toegevoegd werd de resistentie verlaagd. Zij concludeerden dat ABA de SAR response negatief, maar wel concentratie afhankelijk, moduleert. Wanneer de resistentie van deze mutant voor het biotrofe pathogeen *Oidium lycopersicum* werd bekeken bleek deze juist vatbaarder dan het wildtype. Uit testen met het de SA pathway inducerende BTH werd geconcludeerd dat ABA zowel met het SA als ook het JA pathway interfereert (3).
In aardappel, isoleerde en karakteriseerde Kemmerling (58) na inoculatie met de niet-pathogene *Pseudomonas syringae pv. Maculicola* een gen dat betrokken is bij de afweer. Het expressieniveau werd verhoogd na behandeling met SA, ABA, osmotische stress, verwonding en droogte, maar niet na een behandeling van de plant met methyljasmonaat of ethyleen.
In rijst is JA een inductor van SAR tegen de schimmel *Pyricularia grisea*. Lee et al. (71) isoleerden een gen uit rijst (Jamyb) dat tot expressie wordt gebracht door zowel het pathogeen, door JA en door verwonding, maar niet door ABA, SA en andere SAR inductoren. Bij de JA gereguleerde resistentie lijkt ABA noodzakelijk en wordt gezien als een cofactor voor inductie (160). Bij de mechanische verwonding van tomaat werd lokaal en systemisch een accumulatie van JA waargenomen en tevens een verhoogde expressie van een pin-gen (dat codeert voor een proteinase remmer). Wanneer eerst een behandeling met SA werd gegeven accumuleerde JA niet. Ook in ABA deficiënte mutanten accumuleerde JA niet na verwonding. Wel werd het pin-gen tot expressie gebracht na exogene toevoeging van JA. ABA lijkt dus noodzakelijk voor de accumulatie van JA na verwonding. Hoewel deze data gevonden zijn in tomaat, lijkt er bij tabak (ook behorend tot de nachtschaden) geen directe relatie tussen ABA en JA te zijn.
Meer interacties tussen ABA en JA, hun mogelijke rol bij resistentiemechanismen en de signaaloverdracht zijn bekend (29, 49, 177). Ook voor de signaaltransductie na verwonding is de rol van ABA beschreven (61, 144). Hoewel niet opgehelderd 'hoe' dit gebeurt, lijkt het duidelijk dat ABA moduleert bij de resistentiemechanismen van de plant. De data zijn niet direct met elkaar te vergelijken door het gebruik van verschillende gewassen en verschillende al dan niet pathogene micro-organismen. Het lijkt er op dat ABA in het algemeen positief moduleert bij ISR en negatief bij SAR.

### 3.2.4 Gibberelline

Ook gibberellinen kunnen de resistentie moduleren. Een behandeling met GA3 kan bederf (schimmel) bij peterselie tijdens de bewaring bij 1°C tegengaan (1). GA vertraagt de omzetting van marmesine naar psoralens, een lineair furanocoumarine. Marmesine heeft een hogere (anti)fungicide activiteit dan psoralens. Ook bij abiotische stress speelt gibberelline waarschijnlijk een rol (80).

### 3.2.5 Ethyleen

Ethyleen is al meermalen genoemd. Naast fysiologische effecten als veroudering en vruchtrijping speelt het een rol bij ISR als co-inductor (160) en wordt geproduceerd bij de inductie van SAR via de gen-om-gen reactie (113). Mogelijk speelt dit vrijgekomen ethyleen geen rol bij de inductie van SAR, maar het zal wel degelijk invloed hebben op de groei en ontwikkeling van de plant. Ook werden onder invloed van alleen een behandeling met ethyleen genen geactiveerd die betrokken zijn bij resistentie (135). Ethyleen is wel betrokken bij de hypersensitieve response (23).

### 3.2.6 Auxine

Auxinen zijn onder meer betrokken bij groei en celdeling, adventieve wortelvorming, apicale dominantie en de groei van vruchten. In een virusgeïnfecteerde plant kan de auxine huishouding dusdanig zijn verstoord dat de plant niet groeit en dwerggroei vertoont.
De relatie tussen auxine en resistentiemechanismen is gelegd via de MAP kinase cascade. Deze cascade activeert stress-respons-genen die beschermen tegen omgevingsstress, maar onderdrukt promoters die met auxine induceerbaar zijn (64). Het is daarom mogelijk dat een verhoging van het resistentieniveau gepaard kan gaan met een afname in door auxine gereguleerde effecten. Adventieve wortelvorming kan met behulp van naftaleenazijnzuur (NAA) worden bevorderd (74). Liu et al. (74) vonden dat het effect van NAA via IAA wordt gereguleerd. De activiteit van IAA oxidase nam af, samen met de activiteit van peroxidase waardoor de synthese van lignine wordt geremd. Lignine speelt ook een rol bij de inkapseling van het pathogeen na infectie. Het is dus denkbaar dat bij een verhoogd resistentieniveau de adventieve wortelvormingscapaciteit zal verminderen.

### 3.2.7 Samenvatting

Binnen de plant wordt de groei en ontwikkeling nooit door één enkele groeiregulator bepaald. Groei en ontwikkeling worden altijd door een balans tussen de verschillende regulatoren in verschillende weefsels gestuurd. In jong weefsel spelen zich andere processen af dan in verouderend weefsel. Zo spelen de groeiregulatoren en de leeftijd van het weefsel een grote rol bij resistentiemechanismen van planten (6). Transgeen materiaal met een verhoogde productie aan auxinen en cytokininen vertoonde bijvoorbeeld een verhoogde tolerantie voor *Botrytis cinerea*.
Maar ook is bij de overgang van de ene naar de andere groeifase als bloei een verandering in resistentie waargenomen, zoals in tabak tegen het pathogeen *Phytophthora parasitica*. Hierbij is echter geen SA-accumulatie gevonden (51). Ook kan geïnduceerde resistentie verminderen bij de overgang naar de generatieve fase (bloei) of moeilijker te induceren zijn in het ene dan in het ander jaargetijde. Plantengroeiregulatoren hebben een breed werkingsspectrum binnen de plant. Of een veranderd hormoonniveau of een veranderde hormoonbalans inderdaad de resistentie kan moduleren zonder grote neveneffecten blijft een vraag (120).
Blijkbaar staan resistentiemechanismen niet los van uitwendige omstandigheden, abiotische stress, en de ontwikkeling van de plant. Hier is gekozen om de groep groeiregulatoren te benadrukken, maar een zelfde overzicht is waarschijnlijk mogelijk voor de fenolhuishouding, koolhydraathuishouding of de koolstof/stikstof (C/N) balans. Daarmee is de kans aanwezig dat inductie van resistentie tegen pathogenen ongeacht de manier waarop, een verandering in het fenotype veroorzaakt.

## 3.3 Energiebalans

Naast de interactie tussen de pathways voor weerbaarheid en voor groei en ontwikkeling, is ook de energiebalans in de plant belangrijk. Een plant heeft een zekere hoeveelheid energie en kan die maar op één manier gebruiken. Dit roept de vraag op of het induceren en/of aanhouden van resistentie geen nadelige gevolgen heeft voor de groei en de ontwikkeling van de plant. Investeringen in een verdedigingsstrategie zullen mogelijk ten koste gaan van andere energievragende processen.
Voor de inductie van resistentie in de plant is energie nodig en deze zal logischerwijs niet aan processen als groei en ontwikkeling worden besteed. Immuniseren van de plant zou, energetisch gezien, voordeel voor de plant kunnen opleveren omdat alleen energie voor de inductie van resistentie wordt besteed. Wanneer, na het immuniseren, later geen infectie plaats heeft blijft de energie voor de plant behouden. (27). Jammer genoeg zijn er nog slechts weinig mogelijkheden en markers om dit te meten (27).
Wanneer dit immuniseren vroeg in de ontwikkeling gebeurt, is het voorstelbaar dat de groei, tijdelijk, achterblijft. Na de inductie van resistentie zal de groei echter weer gelijk zijn aan die van niet-geïmmuniseerde planten. Dergelijke verschijnselen zijn, hoewel ze niet direct aan inductie van resistentie worden toegeschreven, bekend bij bijvoorbeeld afharden. Dit is nodig om de plant te laten wennen aan toekomstige condities. Weefselkweekplantjes bijvoorbeeld worden onder zeer gunstige condities vanuit stukjes moederplantmateriaal tot hele plantjes gekweekt, waarbij differentiatie van organen plaats heeft. Na afloop van dit proces zijn de plantjes toe aan een nieuwe fase: groei en ontwikkeling, waarbij de condities sterk veranderen en dikwijls minder stabiel zijn. Dit afharden zal in het algemeen plaats hebben met abiotische factoren als een veranderde relatieve luchtvochtigheid (na het bewortelen van stekken), een verandering in temperatuur (plantjes van binnen naar buiten), een veranderde hoeveelheid licht (planten van de kas naar de huiskamer). Wanneer planten in of net na de opkweek worden 'afgehard' betekent dit dat zij tijdelijk onder minder gunstige omstandigheden worden gebracht om later, onder andere omstandigheden, een grotere overlevingskans te hebben.
Planten kunnen worden afgehard met licht (54), waarbij de groei tijdens het afharden sterk achterblijft maar wel hoge overlevingskansen geeft. Ook kunnen planten worden afgehard met kou of een lage watergift (38), of met verhoogde ventilatie, in feite een hoge verdamping (81). Met dit afharden kan het fenotype van de plant zichtbaar veranderen en kunnen er structuren in de plant ontstaan waardoor deze beter is aangepast aan ongunstige omstandigheden (81). Ook endofyten (banaan; 115) en PGPB (thee; 108) kunnen worden gebruikt bij het afhardingsproces.
Bij het afharden van tarwe met behulp van kou (41) werden PR-eiwitten gevormd die de resistentie van het gewas bepalen. De relatie tussen tolerantie tegen ongunstige omstandigheden en resistentie tegen pathogenen is al eerder beschreven (2.4.5.). Mogelijk ondergaan planten tijdens de noodzakelijke transportfase door de niet-optimale omstandigheden een verandering in hun tolerantie en/of resistentieniveau.
Hiermee blijft de vraag nog steeds open of geïnduceerde resistentie de plant, al dan niet tijdelijk, energie kost en in welke mate dit nadelig is. De data in de literatuur zijn niet eenduidig. Inmiddels is zowel het verlies aan groeikracht, het optreden van dwerggroei, een vermindering van de voedingswaarde (151), een lagere opbrengst, of meer in het algemeen een 'nadeel' (31) beschreven, maar ook dat geen nadelige invloed op de gemeten parameter als bijvoorbeeld opbrengst is waargenomen (77). Uit experimenten met transgeen materiaal is gebleken dat deze factoren onder meer gewasafhankelijk zijn: de inbreng van een zelfde gen in twee verschillende gewassen (kool en tabak) leverde bij kool veel schade op, zoals een verminderde groeikracht en steriele planten, maar bij tabak minder schade zoals 'slechts' een verminderde kiemkracht van het geproduceerde zaad. De mate waarin het ingebrachte gen tot expressie komt lijkt zich niet te verhouden tot de schade toegebracht aan de groeikracht (72). Wel dient te worden opgemerkt dat de controle, de tot dan toe gebruikte standaard procedure voor het specifieke gewas en daarmee de gemeten parameter bepalend is voor de vergelijking.
Op dit moment is het niet mogelijk aan te geven welke kosten er verbonden zijn aan het vergroten van weerbaarheid. Energie en tijd zullen nodig zijn in de vorm van het geven van stress en het accepteren van een tijdelijke groeiachterstand en van mogelijk een verminderde uniformiteit. Eerst moet worden bepaald hoe en in welke mate de weerbaarheid in de plant kan worden vergroot, welke reductie in gewasbeschermingsmiddelen dit tot gevolg heeft en pas daarna kan een kosten/baten analyse worden gemaakt.

## 3.4 Mogelijke tegenstrijdigheden

Binnen de glastuinbouw staat niet alleen het overleven van de plant voorop, maar ook de snelle groei en ontwikkeling behorende bij een kwalitatief en kwantitatief hoge productiegraad. Voor veel gewassen zijn de abiotische omstandigheden als bemesting, watergift en temperatuur via teeltonderzoek zodanig geoptimaliseerd dat een zeer hoge productie kan worden gehaald. Bij dit type onderzoek was het doel echter vooral gericht op hoge productie en niet op mogelijke resistentiemechanismen. Wel is bij veredeling op de factor 'resistentie tegen pathogenen' gelet.
Het is dus heel goed mogelijk dat de optimale teeltcondities met als doel 'hoge of snelle productie' niet overeenkomen met die welke 'verhoging van de weerbaarheid' ten doel hebben. Hieronder volgt een voorbeeld aan de hand van chrysant.
Bij chrysant wordt het uitgangsmateriaal in de vorm van stekken verkregen. Deze stekken worden van de moederplant gesneden en dit proces kan een aantal malen worden herhaald voordat de moederplant ongeschikt is geworden voor verdere stekproductie.
De kwaliteit van de stekken is grotendeels afhankelijk van de condities waaronder de moederplant wordt opgekweekt. Kwaliteit staat hier voornamelijk voor de snelheid en de uniformiteit waarmee de stekken wortelen en niet voor de vatbaarheid voor ziekten. Factoren die een rol spelen bij dit proces zijn vaak goed uitgezocht, zoals de leeftijd van de moederplant (2), de positie van de stek aan de moederplant (131) en de teeltcondities waaronder de moederplant is opgekweekt. Bij het verouderen van de moederplanten nemen de stekken in kwaliteit af, wat betekent dat ze lichter worden in gewicht en vezeliger worden of meer harde dan zachte stekken. Harde stekken produceren planten met minder bloemtakken dan zachte stekken. Voor een goede stekproductie is ook licht, zowel de intensiteit als de lichtkleur, belangrijk (12, 48). De hoeveelheid licht gegeven aan de moederplant wordt dikwijls in relatie gezien tot de hoeveelheid auxine, noodzakelijk voor de initiatie van adventief wortels. De optimale hoeveelheid licht is niet duidelijk en waarschijnlijk cultivar afhankelijk. Bertram (8) beschrijft de hypothetische relatie tussen de hoeveelheid licht, de auxineconcentratie en de gevoeligheid van het weefsel voor auxine en verklaart met dit model de tegenstrijdigheden in de literatuur tussen de hoeveelheid licht, de concentratie auxine en de gevoeligheid voor deze groeiregulator. Hoewel meestal stekpoeder (indolboterzuur (IBA), een auxine) wordt gebruikt, blijft de invloed van de moederplant doorwerken in de stek. Zo is een hogere concentratie IBA nodig voor de beworteling van de wat oudere, harde stekken. Ook het gewicht van de stek is bepalend: een zwaardere stek kan een beter adventief wortelstelsel vormen en daarmee meer kwaliteit produceren. Om deze reden worden de stekken voor het bewortelen gesorteerd op gewicht. Hierbij speelt ook het jaargetijde een rol: stekken in de zomer van de plant genomen zijn zwaarder in gewicht dan wanneer in de winter genomen (101).
Naast de relatie licht, de hoeveelheid en de gevoeligheid voor auxine geeft veel licht ook een hogere fotosynthese en daarmee een hoog koolhydraat (C) gehalte. Naast deze hoeveelheid C speelt ook de stikstof (N) bemesting van de moederplant een rol. De C/N ratio is bepalend voor de kwaliteit van de stekken, niet alleen bij chrysant maar ook bij andere gewassen. Over het algemeen bestaat er een positieve relatie tussen een hoge C/N ratio en beworteling (57, 89, 90, 123, 124, 181), maar ook een negatieve relatie is vermeld (9). Mogelijk spelen fenolen een rol in dit proces. De gevoeligheid voor pathogenen is ook afhankelijk van de C/N ratio. Er is voornamelijk een positieve relatie, een hoge weerbaarheid gekoppeld aan een hoge C/N ratio, (107, 141, 172) beschreven.
Ook kalium speelt een rol bij zowel de vezeligheid van de plant, die een maat voor kwaliteit kan zijn als bij de weerbaarheid (32, 43, 65, 116).
Hierdoor zullen een aantal standaardprocedures zoals gehanteerd bij de huidige opkweekmethoden mogelijk opnieuw moeten worden bekeken op hun effect op het verhogen van weerbaarheid. Op dit moment lijken er een aantal tegenstrijdigheden te bestaan tussen de momenteel gehanteerde methoden en de inductie van systemische resistentie.
Er is wel is geopperd dat verhoging van resistentie niet voldoende kan zijn om de opbrengst daadwerkelijk te vergroten of dat de inductie van resistentie ongewenste (schadelijke of zelfs giftige) secundaire metabolieten tot gevolg zou kunnen hebben. Deze angsten zijn tot nu toe niet gegrond gebleken (76).
Soms zijn de veranderingen in genexpressie na een abiotische stress ter inductie van resistentie klein (103). Of dit inderdaad consequenties heeft voor het niveau van de resistentie (lokaal en/of systemisch) of tijdsduur gedurende welke de resistentie van kracht is is niet bekend.

# 4 Mogelijkheden en onmogelijkheden

## 4.1 Inleiding

Er lijken vele mogelijkheden om de weerbaarheid van een plant te vergroten, ook met abiotische middelen. Voor deze middelen is geen toelating nodig en dit vergemakkelijkt de toepassing. Wel zal (nog) veel onderzoek nodig zijn voordat een toepassing gerealiseerd kan worden, voor een specifiek gewas en tegen een specifiek pathogeen. Om tot gerichte oplossingen te komen zijn hieronder een aantal vragen geformuleerd die bij de afweging moeten worden meegenomen.

## 4.2 Voor welk resistentiemechanisme wordt gekozen?

In principe geldt dat de salicylzuur-gereguleerde pathway resistentie tegen biotrofe organismen en de jasmonaat/ethyleen-gereguleerde pathway resistentie tegen necrotrofe pathogenen en insecten activeert. Het is echter niet eenvoudig noch eenduidig weer te geven in welk type gewas en met welke abiotische middelen resistentie kan worden verhoogd. Al helemaal niet kan aangegeven worden ten koste van welke andere, al dan niet visuele, fysiologische parameters en mogelijk aanwezige resistenties of toleranties dit gaat. Het is goed mogelijk dat bij het veranderen van de uitwendige condities een ander type plant zal ontstaan.
Bij het afharden van planten kan mogelijk resistentie tegen een bepaald type pathogeen worden geïnduceerd, maar wanneer het gewas of tegen een andere groep pathogenen of voor bepaalde specifieke omstandigheden afgehard moet worden kan dit tegenstrijdig met het oorspronkelijke doel zijn. Daarnaast kan er een bepaalde mate van basisresistentie tegen een of meerdere pathogenen in de plant aanwezig zijn, bijvoorbeeld door de omstandigheden tijdens de opkweek, en die mate van basisresistentie is slechts ten dele bekend en wel voor de op dat moment geldende condities. Daarom moet voor een gerichte aanpak én voor een gewas én een pathogeen gekozen worden. Het is heel goed mogelijk dat er slechts kleine veranderingen in de kenmerken van de plant optreden die wel voor verhoging van resistentie zorgen, maar niet ten nadele van het gewas gaan.

## 4.3 Ketendenken

'De' praktijk bestaat niet. Als de klant een product vraagt dat binnen de mogelijkheden van de leverancier (bijvoorbeeld het opkweekbedrijf of het stekbedrijf) valt, zal deze dat leveren. Hierbij moet bedacht worden dat de handel internationaal is, binnen Europa maar ook intercontinentaal en daarmee de condities tijdens transport variabel.
Over het algemeen wordt opkweekmateriaal vanuit Nederland naar andere landen in Europa geëxporteerd, en stekmateriaal geïmporteerd vanuit warmere werelddelen (voor Europa meestal Afrika) waar de lichtintensiteit hoog, de temperatuur gematigd en arbeid goedkoop is.
De teeltcondities tijdens de opkweekfase, zowel van zaad tot verhandelbare plant als de opkweek van de moederplant voor stekproductie, zijn per gewas goed geoptimaliseerd en gedefinieerd. Binnen deze protocollen kan worden gevarieerd naar de wens van de afnemer.
Ook het transport van het materiaal is gedefinieerd en verloopt over het algemeen onder geconditioneerde omstandigheden waarbij temperatuur, luchtvochtigheid en gasuitwisseling tussen de plantjes onderling goed zijn beschreven. Wel heersen 'stress'condities tijdens het transport. Het te vervoeren plantmateriaal wordt in het donker getransporteerd, het gewas krijgt geen water en er zal aanraking (schudden tijdens het verplaatsen) of, erger, verwonding plaats hebben ten gevolge van transport, en de gasuitwisseling ($CO_2$,

ethyleen) zal anders zijn dan tijdens de fase voor het transport. Blijkbaar is de plant hier tegen bestand, en de tolerantie tegen deze omstandigheden moet ook gehandhaafd blijven. De hoeveelheid stress die het materiaal krijgt tijdens het transport zal deels afhankelijk zijn van de tijdsduur van het transport plus de periode nodig om het materiaal op de nieuwe locatie te plaatsen (veelal een kas maar ook buitenteelt is mogelijk). De planten kunnen herstellen van de opgelopen stress, zich aanpassen aan de nieuwe omstandigheden en weggroeien. De resistentie of tolerantie kan met het transport en de nieuwe omstandigheden zijn veranderd.
Een aantal voorbeelden van een aangepast transport en de daarop volgende periode kunnen zijn:

- De nieuwe locatie (bijvoorbeeld een kas) is niet op tijd klaar voor het nieuwe gewas. Over het algemeen wordt een datum afgesproken waarop wordt geleverd en de producent van het uitgangsmateriaal heeft zijn schema op deze datum afgestemd. Wanneer de verstandhouding tussen leverancier en afnemer goed is kan de afnemer de leverancier op de hoogte stellen. Veelal blijft het gewas bij de leverancier, maar groeit intussen wel door. Daardoor wordt het gewas langer en hoger en daarmee zal de gasuitwisseling tussen de planten onderling veranderen wanneer geen extra transportmaatregelen worden genomen. Aangepast transport is mogelijk, bijvoorbeeld door de plantafstand te vergroten. Het is ook mogelijk dat standaard wordt geleverd op de afgesproken datum. Het materiaal staat dan 'ergens' in de opslag, terwijl men druk bezig is de nieuwe locatie in te richten. De condities van opslag zijn niet bekend. Hiermee kunnen de resistentie en tolerantie worden beïnvloed.
- Tijdens het transport heeft een onregelmatigheid plaats, zoals een wachtperiode, een lekke band van een vrachtwagen, een niet aansluitende verbinding. Het is na afloop dikwijls niet na te gaan hoe en gedurende welke periode het materiaal is bewaard. Weer kunnen resistentie en tolerantie zijn veranderd.
- Daarnaast kan breuk tijdens het transport plaats hebben. Wanneer het materiaal goed is bewaterd net voor het transport is het stevig, maar de stengel kan snel breken. Daarom kan gevraagd worden om 'slap', niet goed bewaterd materiaal, dat minder gevoelig is voor breuk. Ook hierdoor kan het resistentie/tolerantie niveau worden beïnvloed.

Natuurlijk zijn er limieten. Als reeds hierboven genoemd zijn de huidige gehanteerde teeltmethoden sterk geoptimaliseerd en kan het gevraagde product op bijna elk punt in de keten worden geleverd volgens de wens van de afnemer. Door stress als inductiemiddel voor resistentie veranderde omstandigheden moeten gedurende een korte tijd plaats hebben en niet continu. Wanneer een resistentiemechanisme gedurende die korte periode van stress is geïnduceerd moeten de condities weer terug worden gebracht naar optimaal. De plant moet zich herstellen en mogelijk worden geen visueel waarneembare veranderingen gezien. Momenteel zijn wel de grenzen van factoren als optimale temperatuur, water, relatieve luchtvochtigheid bekend, maar het is niet bekend hoeveel stress, in welke vorm en in welke mate, een gewas kan verdragen en hoe lang de herstelperiode is. Deze stress en de gevolgen daarvan kunnen niet snel en goedkoop worden gemeten.

## 4.4 Gedurende welke termijn moet resistentie aanwezig zijn in de plant?

Het is denkbaar dat een bepaalde vorm van resistentie alleen in de plant aanwezig moet zijn gedurende een bepaalde periode van de levensfase, bijvoorbeeld transport. De resistentie moet niet alleen kunnen worden geïnduceerd en gedurende een bepaalde periode actief zijn, maar wanneer deze op de ontwikkeling van de plant of een tweede te induceren vorm van resistentie negatief werkt, ook weer tijdig kunnen worden uitgeschakeld. Daarnaast is het mogelijk dat na de periode waarin een biotroof pathogeen een bedreiging vormt in een volgende fase een necrotroof pathogeen een bedreiging vormt en dat door het geïmmuniseerd zijn tegen het eerste pathogeen de plant gevoeliger is geworden voor het tweede pathogeen. Inmiddels zijn er binnen de plant verbindingen en processen bekend die een resistentiemechanisme kunnen vergroten of verkleinen. Deze liggen op verschillend (werkings)niveau, bijvoorbeeld een verschuiving van SAR naar ISR (111). Naast de MAP kinases die het werkingsniveau beïnvloeden door binnen de cel het transport door de kernmembraan heen te regelen en daar genen te (de)activeren, zijn ook andere kinases bekend zoals door

SA (SA induced protein, SIP) en verwonding (wound induced, WIP) kinases bekend. Alhoewel de mechanismen SAR en ISR gedeeltelijk opgehelderd zijn is het nog niet mogelijk om op elk gewenst tijdstip het ene mechanisme 'uit' en het andere 'aan' te zetten. Het is ook niet mogelijk deze processen van buitenaf te beïnvloeden, zeker niet met het intact laten van alle andere zich op dat moment in de plant afspelende processen. Bij het veranderen van dit proces bestaat een grote kans dat ook andere pathways worden beinvloed en/of de tolerantie voor abiotische factoren wordt veranderd. De vraag blijft of dit nadelige gevolgen heeft voor de plant, al dan niet visueel, en of de plant nog wel voldoet aan de eisen die op dat moment in de keten aan die plant worden gesteld.
Hierbij moet bedacht worden dat voor de glastuinbouw niet het overleven van de plant belangrijk is, maar dat men kwaliteitsmateriaal wil hebben dat snel en uniform een hoge productie moet leveren.

## 4.5 Gunstige neveneffecten

Naast alle negatieve neveneffecten kunnen er naast de reductie van de hoeveelheid gewasbeschermingsmiddelen ook andere positieve werkingen optreden. Een voorbeeld hiervan kan zijn het kort houden van gewassen wat nu gebeurt met behulp van groeiremmers, dikwijls in de vorm van groeiregulatoren. Bij het induceren van weerbaarheid kan aanraking worden gebruikt (zie 2.4.5.1). Ook kan aanraking de groei remmen (94). Op deze manier kunnen mogelijk twee gewasbeschermingsmiddelen in gebruik worden gereduceerd.
Een tweede positief neveneffect ligt mogelijk op het gebied van de tolerantie tegen abiotische omstandigheden. Zoutstress en temperatuurgevoeligheid kunnen met SA en met JA worden beïnvloed (13, 84, 151). Het is niet bekend of deze verhoogde weerbaarheid tegen abiotische omstandigheden gedurende dezelfde periode werkzaam is als de weerbaarheid tegen pathogenen.

# 5 Conclusies

Een plant heeft intrinsieke weerbaarheid tegen pathogenen in de vorm van resistentiemechanismen. Deze zijn constitutief. Daarnaast kunnen ook, bovenop de constitutieve resistentie, resistentiemechanismen worden geïnduceerd. Deze zijn lokaal of systemisch.

Er zijn twee vormen van geïnduceerde systemische resistentie belangrijk. Systemic acquired resistance (SAR), voornamelijk werkzaam tegen biotrofe pathogenen en induced systemic resistance (ISR), voornamelijk werkzaam tegen necrotrofe pathogenen en insecten. Hoewel er gegevens zijn dat deze twee mechanismen gelijktijdig kunnen worden aangeschakeld lijken de twee mechanismen in de meeste gevallen antagonistisch te zijn en elkaar tegen te werken.

Inductie van resistentie zal de plant tijdelijk energie kosten. De mate waarin dit ten koste gaat van andere plantprocessen is niet aan te geven. Wanneer resistentie eenmaal is geïnduceerd zal de plant energie-neutraal groeien en verder ontwikkelen.

Geïnduceerde resistentie is niet gedurende het hele leven van de plant werkzaam. Wanneer de plant overgaat naar een andere levensfase of de uitwendige omstandigheden veranderen, kan ook de geïnduceerde resistentie geheel of gedeeltelijk veranderen.

Er is een duidelijke relatie tussen resistentie tegen pathogenen en tolerantie voor ongunstige omstandigheden. De betrokken genen worden algemeen ook wel aangeduid als 'stress-genen'.

Het is goed mogelijk dat door de standaard behandeling, de teeltmethoden en de verdere 'handling', al een vorm van resistentie is geïnduceerd. Deze kan zelfs speciaal aan de plant zijn toegediend om deze beter bestand te maken tegen de volgende levensfase of transport. Dit proces wordt 'afharden' genoemd.

Er moet voor worden gezorgd dat met de inductie van een specifieke vorm van resistentie niet het tegendeel wordt bereikt van het gewenste effect en dat een andere noodzakelijke eigenschap verloren gaat of dat de plant gevoeliger wordt voor een tweede, ook bedreigend, pathogeen.

Net als bij afharden kan bij inductie van resistentiemechanismen het fenotype van de plant veranderen. Het is niet mogelijk aan te geven of dit veranderde fenotype problemen kan geven in de keten, per fase tussen koper en verkoper. Dit zal per behandeling onderzocht moeten worden.

# 6 Aanbevelingen voor vervolgonderzoek

Bij vervolgonderzoek zal in de eerste plaats moeten worden gekozen voor een specifiek gewas en een specifiek pathogeen. Het is op dit moment niet mogelijk om algemeen de weerbaarheid van de plant te vergroten tegen alle pathogenen. Afhankelijk van het pathogeen, biotroof of necrotroof of insect, zal gekozen moeten worden voor het mechanisme SAR of ISR. Wel bestaat de mogelijkheid dat door een standaardbehandeling al een aantal genen betrokken bij een bepaald mechanisme zijn geactiveerd en dat van deze vorm van weerbaarheid gebruik wordt gemaakt. Het lijkt aan te bevelen om deze eigenschappen te definiëren voor de verschillende fasen in de keten, en te bedenken wanneer welke eigenschappen nodig zijn, bijvoorbeeld tijdens de opkweekfase of tijdens het transport.
De twee vormen van geïnduceerde resistentie, SAR en ISR, kunnen onder ander worden geïnduceerd met het planteigen salicylzuur (SAR) en jasmonzuur (ISR). Het is noodzakelijk om in eerste instantie resistentie te induceren met deze chemische middelen of met analoga daarvan en mogelijk ook met BABA. Hiertoe zal een concentratiereeks moeten worden gebruikt. Wanneer op deze manier geen enkel verschil met de niet behandelde controle planten wordt verkregen lijkt de kans op het induceren van resistentie klein. De verwachting is echter dat de plant na behandeling met het ene agens resistenter en met het andere agens gevoeliger zal worden voor het desbetreffende pathogeen of dat met behulp van BABA resistentie kan worden verkregen. Wanneer deze verschuiving in gevoeligheid is verkregen kunnen verschillende soorten stress worden gegeven om resistentie te induceren.
Stresses als verwonding, UV en waterstress lijken in eerste instantie het meest kans op slagen te geven, mogelijk ook in combinatie met elkaar. Het is voor de meeste gewassen niet bekend in welke mate een bepaalde vorm van stress kan worden gegeven en bij welke grenswaarde deze lethaal is; ook is de herstelperiode na het geven van de stress niet bekend.
Daarna kan worden bekeken of de resistentie ten opzichte van het gekozen pathogeen is vergroot. Wel dient er rekening gehouden te worden met het feit dat beide vormen van geïnduceerde resistentie nooit 100% bescherming zullen geven. Wanneer de pathogeendruk te groot wordt, zullen alsnog andere maatregelen moeten worden genomen, maar op deze manier wordt het wel mogelijk om, samen met andere vormen van (biologische) bestrijding, door een uitgesteld gebruik en/of een lagere dosering de hoeveelheid middelen te reduceren.
Het geven van SA en of JA kan los staan van onderzoek waarbij wordt gekeken naar stresstolerantie. Er zal per gewas bekeken moeten worden welke hoeveelheid stress acceptabel is voor het gewas en hoeveel tijd nodig is voor herstel.
Het niet mogelijk aan te geven waar in de keten planten weerbaar moeten zijn, zowel tegen ongunstige omstandigheden als tegen een aanval met pathogenen. Met de kennis dat weerbaarheid tegen pathogenen en tegen ongunstige omstandigheden aan elkaar gerelateerd zijn is dit mogelijk beter te achterhalen. Het is mogelijk om met behulp van dataloggers tijdens transport temperatuur te meten. Hiermee kan mogelijk temperatuur worden gerelateerd aan gevoeligheid. Echter, wanneer ook de relatieve luchtvochtigheid of een andere parameter als ethyleen (tijdelijk) veranderen kunnen er andere veranderingen in de aanwezige weerbaarheid van de plant veranderen. Een oplossing lijkt een multi-factoriële analyse. Hiertoe zijn echter wel veel datasets noodzakelijk en een goede, betrouwbare, medewerking van deelnemende bedrijven, waarbij ook wordt toegegeven dat er bepaalde ziekten of andere problemen zijn opgetreden. Op die manier kan worden onderzocht welke relaties er bestaan tussen het optreden van ziekten en voorkómen ervan.
Geïnduceerde resistentie is een begrip dat pas de laatste jaren bekend is geworden en het proces wordt langzaamaan ontrafeld. Het bestaan ervan is echter al eeuwenoud. Het ontrafelen van dit proces geeft mogelijkheden tot nieuwe vorm van gewasbescherming middels manipulatie tijdens de teelt.

# Referenties


1 Afek, U., Orenstein, J., Aharoni, N. 2002. The involvement of marmesin and its interaction with GA3 and psoralens in parsley decay resistance. Can. J. Plant Pathol. 24:61-64 (+ references therein)

2 Anderson, G.A., Carpenter, W.J. 1974. High intensity supplementary lighting of Chrysanthemum [morifolium] stock plants. Hortsci. 9 (1):58-60

3 Audenaert, K., Achuo, A.E., Poppe, I., Höfte, M. 2001. Role of abscisic acid in the resistance of tomato to necrotrophic and biotrophic pathogens. www.mendelu.cz/IPSGA-2001/lectures/ipsga_is_1_9/is6a230.htm

4 Audenaert, K., Kersschot, B., Höfte, M. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to Botrytis cinerea through suppression of salicylic acid dependent defense mechanisms. http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/L7.html

5 Balakumar, T., Veluchamy, S. 1998. Phenol metabolism as a potential protective mechanism against UV-B radiation–induced oxidative stress in plants. ecsoc2.hcc.ru/DP_TOP4/dp229.htm

6 Barna, B., Adam, A.L., Gullner, G., Kiraly, Z. 1995. Role of antioxidant systems and juvenility in tolerance of plants to diseases and abiotic stress. Biostress'94 – Bioexpo'96. Workshop on plant responses to environmental stress, organized by the Hungarian Society for Plant Physioloy, 11-12 July 1994, Szeged, Hungary. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 1995, 30 (1-2):39-45

7 Berrocal-Lobo, M., Segura, A., Moreno, M., Lopez, G., Garcia-Olmedo, F., Molina, A. 2002. Snakin-2, an antimicrobial peptide from potato whose gene is locally induced by wounding and response to pathogen infection. Plant Phys. 128 (3):951-961

8 Bertram, L. 1992. The physiological background for regulation of adventitious root formationby the irradiance to stock plants. Acta Hort. 314:291-300

9 Bid, N.N., Mukherjee, S.K. 1972. Studies into the effects of forced shoot etiolation and different media on the rootage of Mangifera indica L. cuttings. Acta Hort 24:77-81

10 Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Current Opinion in Plant Biology 4:434-350

11 Bolwell, G.P. 1999. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses. Current Opinion in Plant Biology 2 (4):287-294

12 Borowski, E., Hagen, P., Moe, R. 1981. Stock plant irradiation and rooting of chrysanthemum cuttings in light or dark. Scientia Hort. 15:245-253

13 Borsani. O., Valpuesta, V., Botella, M.A., 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Phys. 126 (3):1024-1030

14 Borsics, T., Lados, M. 2001. cDNA cloning of a mechanical/abiotic stress-inducible calmodulin-related gene from dodder-infected alfalfa. Plant Cell Environm. 24 (6):649-656

15 Bostock, R.M., Karban, R., Thaler, J.S., Weyman, P.D., Gilchrist, D. 2001. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. Eur. J. Plant Pathol. 107 (1):103-111

16 Botha, A.-M., Nagel, M.A.C., Westhuizen, A.J. van der, Botha, F.C. 1998. Chitinase isoenzymes in near-isogenic wheat lines challenged with Russian wheat aphid, exogenous ethylene, and mechanical wounding. Bot. Bull. Acad. Sin. 39:99-106

17 Breusegem, F. van, Vranová, E., Vandenabeele, S. 2002 *Onderzoeksdomeinen en perspektieven. 2002.* aivwww.rug.ac.be/Onderzoeksbeleid/techno2002/NL/WE/WE09V11.htm

18 Buchenauer, H. 1998. Biological control of soil-borne diseases by rhizobacteria. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Planzenschutz 105 (4):329-348

19 Chai, T.Y., Zhang, Y.X. 1999. Gene expression analysis of a proline-rich protein from bean under biotic and abiotic stress. Acta Bot. Sin. 41 (1):111-113.

20 Chandra, S., Cessna, S.G., Yahraus, T., Devine, R., Low, P.S. 2000. Homologous and heterologous desensitization and synergy in pathways leading to the soybean oxidative burst. Planta 211:736-742

21 Chase, A.R., Poole, R.T. Effect of nitrogen source on growth and susceptibility of Anthurium hybrids to Xanthomonas campestris pv. Dieffenbachiae. www.lfas.ufl.edu/~apkweb/cfrec/rh_90_20.htm

22 Chet, I. Viterbo, A., Shoresh, M. 2002. Plant biocontrol by Trichoderma spp. www.weizmann.ac.il/BiologicalCeemistry/scientist/Chet/Chet.html

23 Ciardi, J.A., Tieman, D.M., Jones, J.B. , Klee, H.J. 2001. Reduced expression of the tomato ethylene receptor gene LeETR4 enhances the hypersensitive response to Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria. Mol. Plant Microbe Interactions, 14 (4):487-495

24 Claes, R. 2002. Actieve zuurstofmoleculen in de plantencel. www.agr.kuleuven.ac.be/dtp/cmpg/downloads/robby%20claes.pdf

25 Clarke, A., Desikan, R., Hurst, R.D., Hancock, J.T., Neill, S.J. 2000. NO way back: nitric oxide and programmed cell death in Arabidopsis thaliana suspension cultures. Plant Journal 24 (5):667-677

26 Cohen, Y., Reuveni, M., Baider, A. 1999. Local and systemic activity of BABA (DL-3-aminobutyric acid) against Plasmopara viticola in grapevines. Eur. J. Plant Pathol. 105 (4):351-361
27 Conrath, U., Pieterse, C.M.J., Mauch-Mani, B. 2002. Priming in plant-pathogen interactions. Trends in Plant Science 7 (5): 210-216
28 Cordeiro, M.C.R., Fátima Grossi de Sá, M. de. 1999. Biotechnology and resistance to pathogens. www.biotecnologia.com.br:8080/bio/10_bi.htm
29 Cortes, H.P., Prat, S., Atzorn, R., Wasternack, C., Willmitzer, L. 1996. Abscisic acid –deficient mutants do not accumulate proteinase inhibitor II followinhg systemin treatment. Planta 198 (3):447-451
30 Dean, R.A., Ku□, J. 1987. Rapid lignification in response to wounding and infection as a mechanism for induced systemic protection in cucumber. Phys. Mol. Plant Pathol. 31 (1):69-81
31 Dept of Disease and Stress Biology, John Innes Centre, Norwich, UK, www.jic.bbsrc.ac.uk/Science/dsb/research.html
32 Diamond product. www.diamondkgypsum.com/sop.htm
33 Doares, S.H., Syrovets, T., Weiler, E.W., Ryan, C.A. 1995. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. PNAS 92:4095-4098
34 Doybrava, N.S., Dean, R.A., Kuc, J. 1988. Induction of systemic resistance to anthracnose caused by Colletotrichum lagenarium in cucumber by oxalate and extracts from spinach and rhubarb leaves. Phys. Mol. Plant Pathol. 33 (1):69-79
35 Durrant, W.E., Rowland, O., Piedras, P., Hammond-Kosack, K.E., Jones, J.D.G. 2000. cDNA-AFLP reveals a striking overlap in race-specific resistance and wound response gene expression profiles. The Plant Cell 12 (6):963-977
36 Durrant,W.E., Oostendorp, M., Kunz, W., Dietrich, B., Staub, T. 2001. Induced resistance in plants by chemicals. Eur. J. Plant Pathol. 107:19-28
37 Fidantsef, A.L., Stout, M.J., Thaler, J.S., Duffey, S.S., Bostock, R.M. 1999. Signal interactions in pathogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II, and pathogenesis-related protein P4 in the tomato, Lycopersicon esculentum. Phys. Mol. Plant Pathol. 54:97-114.
38 Franco, J.A., Banon, S., Fernandez, J.A., Leskovar, D.I. 2001. Effect of nursery regimes and establishment irrigation on root development of Lotus creticus seedlings following transplanting. J. Hort. Sci. Biotechnol. 76 (2):174-179
39 Ganesan, V., Thomas, G. 2001. Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H2O2 accumulation and oxidative stress. Plant Science 160 (6):1095-1106.
40 Gaudet, D.A., Laroche, A., Yoshida, M. 1999. Low temperature-wheat-fungal interactions: a carbohydrate connection. Physiol. Plant. 106:437-444
41 Gaudet, D.A., Laroche, A., Frick, M., Davoren, J., Puchalski, B., Ergon, A. 2000. Expression of plant defence-related (PR-protein) transcripts during hardening and dehardening of winter wheat. Physiol. Mol. Plant Pathol. 57 (1):15-24
42 Godoy, A.V., Lazzaro, A.S., Casalongue, C.A., San-Segundo, B. 2000. Expression of a Solanm tuberosum cyclophilin gene is regulated by fungal infection and abiotic stress conditions. Plant Science Limerick 152 (2):123-134
43 Greensol. www.greensol.com/testresults/pest_control.pdf
44 Hakulinen, J. 1998. Nitrogen-induced reduction in leaf phenolic level is not accompanied by increased rust frequency in a compatible willow (Salix myrsinifolia)-Melampsora rust interaction. Phys. Plant. 102 (1):101-110
45 Hammerschmidt, R., Métraux, J.-P., Loon, L.C. van. 2001. Inducing resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases, Corfu, may 2000. Eur. J. Plant Pathol. 107:1-6
46 Hatcher, P.E., Paul, N.D., Ayres, P.G., Whittaker, J.B. 1994. Interactions between Rumex spp., herbivores and a rust fungus: Gastrophysa viridula grazing reduces subsequent infection by Uromyces rumicis. Functional Ecology 8 (2):265-272
47 Heath, L.S., Ramakrishnan1, N., Sederoff, R, R., Whetten, R.W., Chevone, B.I., Struble, C.A., Jouenne, V.Y., Chen D., Zyl, L. van, Grene, R. 2001. Studying the Functional Genomics of Stress Responses in Loblolly Pine with the Expresso Microarray Experiment Management System. people.cs.vt.edu/~ramakris/papers/Expresso.Pine.pdf
48 Heins, R.D., Wilkins, H.F. 1979. The influence of node number, light source, and time of irradiation during darkness on lateral branching and cutting production in 'bright golden Anne' chrysanthemum. J. Amer. Soc. Hort. Sci.104(2):265-270
49 Herde, O., Cortes, H.P., Wasternack, C., Willmitzer, L., Fisahn, J. 1999. Electric signaling and Pin2 gene expression on different abiotic stimuli depend on a distinct threshold level of endogenous abscisic acid in several abscisic acid-deficient tomato mutants. Plant Phys. 119 (1):213-218
50 Hong, J.K., Hwang, B.K., Kim, C.H. 1999. Induction of local and systemic resistance to Colletotrichum in pepper plants by DL-beta-amino-n-butyric acid. J. Phytopathol. 147 (4):193-198
51 Hugot, K., Aime, S., Conrod, S., Poupet, A., Galiana, E. 1999. Developmental regulated mechanisms affect the ability of a fungal pathogen to infect and colonize tobacco leaves. Plant Journal 20 (2):163-170

52 Hunt, J.E., McNeil, D.L. 1998. Nitrogen status affects UV-B sensitivity of cucumber. Aust. J. Plant Physiol. 25:79-86
53 Hwang, I., Sheen, J. 2001. Two-component circuitry in Arabidopsis cytokinin signal transduction. Nature 413:383-389
54 Jorge, M.A.B., Robertson, A.I., Mashingaidze, A.B., Keogh, E. 2000. How in vitro light affects growth and survival of ex vitro cassava. Ann. Appl. Biol. 137 (3):311-319
55 Juárez, H.S., Amaro, J.R., Rivera, M.D., Párraga, A., Hijmans, R.J. The effect of nitrogen fertilisation on potato late blight in the field. CIP Program Report 1999-2000. Research on potato.
56 Kale, M.C., Choudhary, A.D. 2001. Induction of phenylalanine ammonia-lyase in groundnut cultivars in response to biotic and abiotic stress. Indian Phytopathology 54 (3):288-292
57 Kaundal, G.S., Singh, M. 1989. IBA induced rhizogenesis and periodic metabolic changes in pear. J. of Research, PunjabAgric. Univ.26 (1):47-50
58 Kemmerling, B. 2001. Identifizierung und characterisierung systemisch responsiver gene der Kartoffel (Solanum tuberosum L.) nach inokulation mit dem nichtpathogener bakterium Pseudomonas syringae pv. Maculicola. Thesis. http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/01/02H302/of_index.htm
59 Keniry, C.A., Murphy, A.M., Ashby, A.M. 1998 Analysis of the Pyrenopeziza brassicae-brassica napus interaction: a role for fungal-derived cytokinins? www.bspp.org.uk/icpp98/1.8/46.html
60 Kenton, P., Darby, R.M., Shelley, G., Draper, J. 2000. A PR-5 gene promoter from Asparagus officinalis (AoPRT-L) is not induced by abiotic stress, but is activated around sites of pathogen challenge and by salicylate in transgenic tobacco. Mol. Plant Pathol. 1 (6):367-378
61 Kessler, A., Baldwin, I.T. 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Annu. Rev. Plant Biol. 53:238-299
62 Kobayashi, K., Fukuda, M., Igarashi, D. Sunaoshi, M. 2000. Cytokinin-binding proteins from tobacco callus share homology with osmotin-like protein and an endochitinase. Plant Cell Physiol. 41 (2):148-157
63 Koltunov, E.V., Andreeva, E.M. 1999. The abiotic stress as a factor responsible for gypsy moth outbreaks. J. Applied Entomology 123 (10):633-636
64 Kovtun, Y., Chiu, W.-L., Tena, G. Sheen, J. 2000. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. PNAS 97 (6):2940-2945
65 Krauss, A. 2001. Potassium and biotic stress. www.ipipotash.org/presentn/pabs.html
66 Kuc, J. 1982. Induced immunity to plant diseases. BioScience 32:854-860
67 Kuzniak, E., Urbanek, H. 2000. The involvement of hydrogen peroxide in plant response to stresses. Acta Phys. Plant 22 (2):195-203.
68 Lamattina, L., 2000. Nitric oxide functions as both antioxidant and anti-stress agent in plants. Abstract #451. American Society of Plant Biologist Meeting. rycomusa.com/aspp2000/public/P33/0649.html.
69 Laurie, S., Halford, N.G. 2001. The role of protein kinases in the regulation of plant growth and development. Plant Growth Reg. 34 (3):253-265
70 Lee, G-J., Shin, R., Park, C-J., Yoo, T.H., Paek, K-H. 2001. Induction of a pepper cDNA encoding SAR8.2 protein during the resistance response to tobacco mosaic virus. Mol. Cells 12 (2):250-256
71 Lee, M.W., Qi, M., Yang, Y.N. 2001. A novel jasmonic acid-inducible rice myb gene associates with fungal infection and host cell death. Mol. Plant Microbe Interactions 14 (4):527-535.
72 Lee, Y.H., Yoon, I.S., Suh, S.C., Kim, H.I. 2002. Enhanced disease resistance in transgenic cabbage and tobacco expressing a glucose oxidase gene from Aspergillus niger. Plant Cell Rep. 20:857-863
73 Lin, H.C., Kogan, M., Endress, A.G. 1990. Influence of ozone on induced resistence in soybean to the Mexican beetle (Coleoptera: Coccinellidae). Environmental Entomology 19 (4):854-858
74 Liu, Z.-H., Hsiao, I.-C., Pan, Y.-W. 1996. Effect of naphthaleneacetic acid on endogenous indole-3-acetic acid, peroxidase and auxin oxidase in hypocotyl cuttings of soybean during root formation. Bot. Bull. Acad. Sin. 37 (4):247-253
75 Loon, L.C. van. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. Eur. J. Plant Pathol. 103:753-765
76 Lyon, G.D., Forrest, R.S., Newton, A.C. 1996. SAR- The potential to immunise plants against infection. In: Brighton Crop Protection Conference 1996. Pests & Diseases. Nottingham. Vol 3:939-946
77 Lyon, G.D. and Newton, A.C. 2001. Induced plant resistance. An alternative method of controlling plant diseases. www.scri.sari.ac.uk/TiPP/yeast2.htm
78 Lyon, G.D. 2002. Plant/pathogen interactions at the cellular level. A summary and model. www.scri.sari.ac.uk/TiPP/celltxt.htm
79 Lysine biotech, Inc. Theoretical basis of designing the OHYA (a series of products enhancing plant disease resistance and increasing yield. www.ltbiosyn.com/products/OHYA/OHYA_basis.pdf
80 Mahoney, S.R.,Ghosh, S., Peirson, D., Dumbroff, E.B. 1998. Paclobutrazol affects the resistance of black spuce to high light and thermal stress. Tree physiology 18:121-127.
81 Majada, J.P., Tadeo, F., Fal, M.A., Sanchez-Tames, R. 2001. Impact of culture vessel ventilation on the anatomy and morphology of micropropagated carnation. Plant Cell Tissue and Organ Culture 63 (3):207-214

82 May, M.J., Hammond-Kosack, K.E., Jones, J.D.G. 1996. Involvement of reactive oxygen species, glutathion metabolism, and lipid peroxidation in the Cg-gene-dependent defence response of tomato cotyledons induced by race specific elicitors of Cladosporium fulvum. Plant Phys.110 (4):1367-1379
83 Melan, M.A., Dong, X.N., Endara, M.E., Davis, K.R., Ausubel, F.M., Peterman, T.K. 1993. An Arabidopsis thaliana lipoxygenase gene can be induced by pathogens, abscisic, acid and methyl jasmonate. Plant Phys. 101 (2):441-450
84 Mengiste, T., Chen, X., Salmeron, J., Dietrich, R. 2002. The BOS1 gene encoding an R2R3 MYB transcription factor mediates biotic and abiotic stress response in Arabidopsis. XIII International Conference on Arabidopsis Research, Sevilla, June 28-July 2 2002, poster no 5-6 www.arabidopsis2002.com/pdf/6Responses%20to%20the%20biotic%20environment.pdf
85 Mercier, J., Baka, M., Reddy, B., Corcuff, R., Arul, J., Reddy, B. 2001. Shortwave ultraviolet irradiation for control of decay caused by Botritis cinerea in bell pepper: induced resistance and germicidal effects. J. Amer. Soc Hort. Sci. 126 (1):128-133
86 Metraux, J.-P. 1997. Induced resistance of plants to pathogens: triggering and expression. www.aramis-research.ch/d/6297.html
87 Mhiri, C., Morel, J.B., Vernhettes, S., Casacuberta, J.M., Lucas, H., Grandbastien, M.A. 1997. The promoter of the tobacco Tnt 1 retrotransposon is induced by wounding, and by abiotic stress. Plant Mol. Biol. 33 (2):257-266
88 Michiels, K. cwisdb.cc.kuleuven.ac.be/onderzoek/P/groep/groep261614.htm.
89 Migita, K., Nakata, G. 1978. Effect of the light supply before taking cuttings on rooting of Cryptomeria japonica. J. of Agricultural Science Japan 23 (1):52-58
90 Mitra, S.K., Bose, T.K. 1991. Metabolic changes during adventitious root formation in Ethrel and IBA treated cuttings of lichi. Indian J. Horticulture 48 (2):105-107
91 Mittler, R., Lam, E., Shulaev, V., Cohen, M. 1999. Signals controlling the expression of cytosolic ascorbate peroxidase during pathogen-induced programmed cell death in tobacco. Plant Molecular Biology 39 (5);1025-1035
92 Mucharromah, E., Kuc, J. 1991. Oxalate and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. Crop Protection 10 (4):265-270
93 Mullineaux, P., Ball, L., Escobar, C., Carpinska, B., Creissen, G., Karpinski, S. 2000. Are diverse signalling pathways integrated in the regulation of Arabidopsis antioxidant defence gene expression in response to excess excitation energy? In: Photoprotection of the photosynthetic apparatus: new biochemical methods, papers of a discussion meeting held at the Novartis Foundation, London, UK, 14 April, 2000. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, series B, Biological Sciences 355 (1402):1531-1540
94 Nicola, S., Hoebrechts, J., Fontana, E. 2002. Mechanical conditioning to control stem elongation in commercial greenhouse plant production. XXVIth International Horticultural Congress Toronto, 2002, S23-P-31
95 Nielsen, K.K., Boysen, K., Collinge, D.B., Mikkelsen, J.D. 1994. Induced resistance in sugar beet against Cercospora beticola: induction by dichloroisonicotinic acid is independent of chitinase and B-1,3-glucanase transcript accumulation. Physiol. Mol. Plant Pathol. 45:89-99
96 Nigro, F., Ippolito, A., Lattanzio, V., Venere, D. Di, Salerno, M. 2000. Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. J. Plant Pathol. 82 (1):29-37
97 Nishiuchi, T., Iba, K. 1998. Roles of plastid omega-3 fatty acid desaturases in defense response of higher plants. J. of Plant Res. 111 (1104):481-486
98 N.N. arthritis-research.com/content/3/2/80/abstract
99 N.N. Elicitor proteins and resistance to Phytophtera 2002. www.oardc.ohio-state.edu/phytophtora/elicitors.htm
100 N.N. Gene network on plant interaction with pathogen organisms. wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/papers/goryachkovsky/plant-trrd/pathogen1.htm
101 N.N. Proefstation voor de Bloemisterij, Aalsmeer. Nederland 1975. Jaarverslag
102 N.N. www.ion.ucl.ac.uk/neurochemistry/dept/metabolic.html
103 Noctor, G., Foyer, C.H. 1998. Acsorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.49: 249-279
104 Oerke, E.C., Schonbeck, F. 1986. On the influence of abiotic stress conditions on the growth of barley and beans and their predisposition towards pathogens. Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 93 (6):561-573
105 Oostendorp, M., Kunz, W., Dietrich, B., Staub, T. 2001. Induced resistance in plants by chemicals. Eur. J. Plant Pathol. 107:19-28
106 Orober, M., Siegrist, J., Buchenauer, H. 1999. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by foliar phosphate application. In: Modern fungicides and antifungal compounds II. 12th International Reinhardsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Duitsland, 24-29 mei 1998. (eds: Lyr, H., Russell, P.E. Dehne, H.W.) Intercept Ltd, Andover, UK. 339-348
107 Oyarzun, P.J., Gerlagh, M., Zadoks, J.C. 1998. Factors associated with soil receptivity to some fungal root rot pathogens of peas. Applied Soil Ecology 10 (1/2):151-169
108 Pandey, A., Palni, L.M.S., Bag, N. 2000. Biological hardening of tissue culture raised tea plants through rhizosphere bacteria. Biotech. Letters, 22 (13):1087-1091

109 Park, C.-J., Shin, R., Park, J.M., Lee, G.-j., Yoo, T.H., Paek, K.-H. 2001. A hot pepper cDNA encoding a pathogenesis related protein 4 is induced during the resistance response to tobacco mosaic virus. Molecules and Cells 11 (1):122-127
110 Park, J.M., Park, C.J., Lee, S.B., Ham, B.K., Shin, R., Paek, K.H. 2001. Overexpression of the tobacco Tsi1 gene encoding an EREBP/AP2-type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stress in tobacco. Plant Cell 13 (5):1035-1046
111 Pernas, M., Sanchez-Monge, R., Salcedo, G. 2000. Biotic and abiotic stress can induce cystatin expression in chestnut. FEBS Letters, 467 (2-3):206-210
112 Petersen, M., Brodersen, P., Naested, H., Andreasson, E., Lindhart, U., Johansen, B., Nielsen, H.B., Lacy, M., Austin, M.J., Parker, J.E., Sharma, S.B., Klessig, D.F., Martienssen, R., Mattsson, O., Jensen, A.B., Mundy, J. 2000. Arabidopsis MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. Cell Cambridge 103 (7):1111-1120
113 Pieterse, C.M.J., van Pelt, J.A., Ton, J., Parchmann, S., Mueller, M.J., Buchala, A.J., Métraux, J.-P., van Loon, L.C. 2000. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in Arabidopsis requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. Phys. Mol. Plant Pathol. 57:123-134
114 Pieterse, C.M.J., Ton, J., Loon, L.C. van. 2001. Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden? Agbiotechnet 3:1-8
115 Pocasangre, L., Sikora, R.A., Vilich, V., Schuster, R.P. 2000. Survey of banana endophytic fungi from central America and screening for biological control of the burrowing nematode (Radopholus similis). Infomusa 9 (1):3-5
116 Polavarapu, S. aesop.rutgers.edu/~hamilton/lecture12.htm
117 Polidoros, A.N., Mylona, P.V., Scandalios, J.G. 2001. Transgenic tobacco plants expressing the maize Cat2 gene have altered catalase levels that affect plant-pathogen interactions and resistance to oxidative stress. Transgenic Research 10 (6):555-569
118 Press, C.M., Loper, J.E., Kloepper, J.W. 2001. Role of iron in Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance of cucumber. Phytopathol. 91 (6):593-598
119 Pritchard, S.G., Ju, Z.L., Santen, E. van, Qiu, J.S., Weaver, D.B., Prior, S.A., Rogers, H.H. 2000. The influence of elevated CO2 on the activities of antioxidative enzymes in two soybean genotypes. Austr. J. Plant Phys. 27 (11):1061-1068
120 Punja, Z.K. 2002. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens-a review of progress and future prospects. Can. J. Plant Pathol. 23:216-235.
121 Rakwal, R., Agrawal, G.K., Agrawal, V.P. 2001. Jasmonate, salicylate, protein phosphatase 2A inhibitors and kinetin up-regulate OsPR5 expression in cut-responsive rice (Oryza sativa). J. Plant Phys. 158 (10):1357-1362
122 Ramamoorthy, V., Iswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Protection 20 (1);1-11
123 Rana, H.S. 1996. Mist propagation of plum clonal rootstocks by stem cuttings and their relationship with some biochemical constituents. Advances in Hortic. and Forestry 5:61-68
124 Rana, H.S., Chadha, T.R. 1992. Studies on the clonal propagation of Prunus species and their relationship with some biochemical constituents. Progressive Horticulture 21 (3/4):329-335
125 Rao, M.P., Koch, J.R., Davis, K.R. 2000. Ozone: a tool for probing programmed cell death in plants. Plant Mol. Biol. 44:345-358
126 Raupauch, G.S., Kloepper, J.W. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. Phytopathol. 88 (11):1158-1164
127 Reymond, P., Weber, H., Damond, M., Farmer, E.E. 2000. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis. Plant Cell 12:707-720.
128 Romeis, T., Tang, S.J., Hammond-Kosack, K., Piedras, P., Blatt, M., Jones, J.D.G. 2000. Early signaling events in the Avr9/Cf-9-dependent defence response. Mol. Plant Pathol. 1 (1):3-8
129 Ross, A.F. 1961. Systemic acquired resistance induced by localised virus infections in plants. Virology 14: 340-358
130 Rossetti, S., Bonatti, P.M. 2001. In situ histochemical monitoring of ozone- and TMV-induced reactive oxygen species in tobacco leaves. Plant Physiol. Biochem. 39 (5):433-442
131 Ruiter, H.A. de. 1993. Improving cutting qualityin chrysanthemum by stock plant managemant. Scientia Hort. 56:43-50
132 Ryu, C.-M., Locy, R.D., Reddy, M.S., Kloepper, J.W. Growth promotion and induced resistance of Arabidopsis thaliana by various strains of Rhizobacteria. www.ag.auburn.edu.argentina/pdfmanuscripts/ryu3.pdf
133 Sánchez, E., Soto, J.M., García, P.C., López-Lefebre, L.R., Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Romero, L. 2000. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. Aust. J. Plant Physiol. 27:973-978
134 Sanchez, P., Torres-Zabala, M. de, Grant, M. 2000. AtBI-1, a plant homologue of Bax Inhibitor-1, suppresses Bax-induced cell death in yeast and is rapidly upregulated during wounding and pathogen challenge. Plant Journal 21 (4):393-399

135 Schenk, P.M., Kazan, K., Wilson, I., Anderson, J.P., Richmond, T., Somerville, S.C., Manners, J.M. 2000. Coordinated plant defence responses in Arabidopsis revealed by microarray analysis. PNAS 97 (21):11655-11660
136 Schmitz, G., G. Schutte. 2000. Plants resistant against abiotic stress. Universiteit Hamburg. Internet: www.gtz.de/biotech/dokumente/biotech6.pdf
137 Schweizer, P., Buchala, A., Dudler, R., Métraux, J.-P. 1998. Induced systemic resistance in wounded rice plants. The Plant Journal 14 (4):475-481
138 Schweizer, P., Buchala, A., Dudler, R., Metraux, J.P. 1998. Wounded rice induces systemic resistance. Rice Biotechnology Quarterly 35: 20
139 Sharma, S.K., Arya, S.R., Chaukiyal, S.P. 1990. Effect of gamma rays on the growth of poplar. Indian Forester. 116 (7):572-576
140 Siegrist, J., Orober, M., Buchenauer, H. 2000. Beta-aminobutyric acid –mediated enhancement of resistance in tobacco to tobacco mosaic virus depends on the accumulation of salicylic acid. Phys. Mol. Plant Pathol. 56 (3):95-106
141 Singh, P.J., Nagra, P., Mehrota, R.S. 1981. *Effect of organic amendments on root rot of grain (Cicer arietinum L.)* and their influence on plant growth. Plant and Soil 63 (2):199-208
142 Sinha, P.P., Verma, J.P. 1983. Role of phylloplane bacteria in bacterial blight disease of cotton. International Journal of Tropical Plant Diseases 1 (2):125-133
143 Smirnoff, N. (organiser). Abstracts sessie P2: The function and regulation of antioxidants and reactive oxygen species. Anual Meeting SEB, Canterbury, UK, april 2001
144 Steve in Steve's Place – SAR plant resistance.www.steve.gb.com/science/sar.html
145 Stewart, K.J., Gurr, S.J. 2000. Abiotic stress and the breakdown of mlo-resistance to barley powdery mildew. Poster 372, American Society of Plant Biologists meeting 2000. rycornusa.com/aspp2000/public/P33/0008.html
146 Sticher, L., Mauch-Mani, B., Métraux, J.P. 1997. Systemic Acquired Resistance. Annu. Rev. Phytopathol. 35:235-270
147 Stoop, J.M.H., Williamson, J.D., Pharr, D.M. 1996. Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. Trends in Plant Science 1 (5):139-144
148 Stratmann, J.W., Stelmach, B.A., Weiler, E.W., Ryan, C.A. 2000. UV-B/A radiation activates a 48 kDa myelin basic protein kinase and potentiates wound signaling in tomato leaves. Photochem. Photobiol. 71 (2):116-123
149 Stratmann, J. 2002. Stress signal transduction and the role of MAP kinases in tomato leaf cells. www.biol.sc.edu/faculty/stratmann.html
150 Tanaka, S., Ito, T., Someya, Y., Hirabayashi, T. 2000. Effect of nitrogen concentrations of nutrient solution on the occurrence and development of downy mildew in susceptible and resistant cucumber cultivars. J. Jap. Soc. Hort. Sci 69 (3):339-345
151 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/aber.htm
152 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/celldeath.html
153 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/oxidative.html
154 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth ,UK. 2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/potentiation.html
155 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/promotor.html
156 The Molecular Plant Pathology Group, University of Wales, Aberystwyth, UK.2002. www.aber.ac.uk/plantpathol/sar.html
157 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/projects/p4.htm;
158 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja1.htm;
159 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja2.htm
160 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja3.htm
161 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja4.htm
162 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja5.htm
163 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ja6.htm

164 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ck2.htm
165 The Plant Cell Signalling Group, University of Wales, Aberystwyth, UK. 2002. users.aber.ac.uk/pkk/research/ck4.htm
166 Timmusk, S., Wagner, E.G.H. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacterium paenibacillus polymyxa induces changes in Arabidopsis thalliana gene expression – a possible connection between biotic and abiotic stress responses. www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/timmusk.pdf
167 Ton, J. 2001. thesis Utrecht The Netherlands
168 Ton, J., Pelt, J.A. van, Loon, L.C. van, Pieterse, C.M.J. 2002. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in Arabidopsis. Molecular Plant Microbe Interactions 15 (1):27-34
169 Tronsmo, A.M., Parlevliet, J.E. 1993. Resistance to snow mold fungi (Microdochium nivale and Typhula ishikariensis) in grasses and cereals.In: Durability-of-disease-resistance; Current plant science and biotechnology in agriculture vol. 18:353. (ed. Jacobs, T.). Kluwer; Dordrecht; Netherlands
170 Tuzun, S. 2001. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenetic (horizontal) resistance in plants. Eur. J. Plant Path. 107 (1):85-93
171 Tyuterev-SL; Nebieridze-GI; Ksendzova-EN; Dorofeeva-TB. 1994. Physiologico-biochemical specificity of cucumber resistance to powdery mildew as affected by biological inducers. Sel'skokhozyaistvennaya-Biologiya.1994 (1):110-117.
172 Walter, J.C., Adams, R.E. 1976. Reducing seedling losses in forest tree nurseries. Proc. American Phytopathol. Soc. 2:129
173 Wasternack, C., Atzorn, R., Cortes, H.P., Parthier, B., 1996. Alteration of gene expression by jasmonate and ABA in tobacco and tomato. J. Plant Physiol. 147 (5):503-510
174 Wees, S.C.M. van, Swart, E.A.M. de, Pelt, J.A. van, Loon, L.C. van, Pieterse, C.M.J. 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in Arabidopsis thaliana. PNAS 97 (15):8711-8716
175 Weigend, M., Lyr, H. 1996. The involvement of oxidative stress in the pathogenesis of Botrytis cinerea on Vicia faba leaves. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 103 (3):310-320
176 Wilkinson, S. 1999. PH as a stress signal. Plant Growth Regulation 29:87-99
177 Wojtaszek, P. 1997. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. Biochem. J. 322:681-692
178 Xing, T., Malik, K., Martin, T., Miki, B.L. 2000. Activation of tomato PR and wound-related genes by mutagenized tomato MAP kinase kinase. res2.agr.ca/winnipeg/txingpos1.pdf
179 Xiong, L., Schumaker, K.S., Zhu, J.-K. 2002. Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress. The Plant Cell, S165–S183, Supplement 2002, www.plantcell.org © 2002 American Society of Plant Biologists
180 Xu, H.L., Wang, R., Nakagawara, T., Aryal, U.K., Umemura, H., Alfoldi, T. (ed), Lockeretz, W. (ed), Niggli, U. 2000. Powdery mildew resistance of a cucumber variety bred in nature farming conditions. IFOAM 2000: the world grows organic. Proceedings 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel, Switserland, 28 to 31 August, 2000, 227
181 Yang, X.H. 1983. Internal factors affecting the rooting and effect of accelerators on root formation in mulberry cutting. Science of Sericulture Canye Kexue 9 (3):127-133
182 Yu, G.H., Sung, S.K., An, G. 1998. The nopaline synthase (nos) promoter is inducible by UV-B radiation through a pathway dependent on reactive oxygen species. Plant Cell Environm. 21 (11):1163-1171
183 Zhang, Q.W., Li, P., Wang, G., Cai, Q.N. 1998. On the biochemical mechanisms of induced resistance of cotton bollworm by cutting off young seedlings at plumular axis. Acta Phytophylacica Sinica 25 (3):209-212.
184 Zhang, S., Reddy, M.S., Burelle, N.K., Wells, L.M., Nightengale, S.P., Kloepper, J.W. 2001. Attempts to induce sytemic resistance in peanut to leaf spot diseases by plant growth promoting rhizobacteria and chemical inducers. www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/000012/01/00001200161.html
185 Zimmerli, L., Jakab, G., Metraux, J.P., Mauch-Mani, B. 2000. Potentation of pathogen-specific defense mechanisms in Arabidopsis by beta-aminobutyric acid. PNAS 97 (23):12920-12925.