Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA)
http://dare.uva.nl/document/346238

File ID	346238
Filename	Samenvatting

SOURCE (OR PART OF THE FOLLOWING SOURCE):

Type	Dissertation
Title	Isomers of green leaf volatiles in Nicotiana attenuata and their role in plant-insect interactions
Author	S. Allmann
Faculty	Faculty of Science
Year	2012
Pages	182

FULL BIBLIOGRAPHIC DETAILS:
http://dare.uva.nl/record/402438

Copyright

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other then for strictly personal, individual use.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (http://dare.uva.nl)

SAMENVATTING

Planten gebruiken vluchtige stoffen zoals wij onze stem gebruiken; om te communiceren. We kunnen zachtjes of luid spreken, met een vriendelijke of agressieve ondertoon en we gebruiken veranderingen in klank om verschillende woorden te vormen en informatie over te dragen. Op eenzelfde manier kunnen planten hun geur aanpassen door de emissie van verschillende vluchtige stoffen te variëren in samenstelling en hoeveelheid. Op deze wijze kunnen ze informatie over hun fysieke staat of het type plaaginsect wat hen belaagt afgeven aan hun omgeving. Omdat planten voortdurend blootgesteld worden aan aanvallen van schadelijke insecten hebben ze geavanceerde verdedigingssystemen ontwikkeld. Sommige strategieën hebben een direct effect op de aanvallers, zoals de productie en ophoping van gif- en/of afweerstoffen in hun weefsels, terwijl een andere strategie bestaat uit het produceren van geurstoffen waardoor de natuurlijke vijanden van het plaaginsect worden aangetrokken. Dit laatste is een voorbeeld van een indirect verdedigingssysteem. Een belangrijke groep van plantgeproduceerde vluchtige stoffen voor de indirecte verdediging zijn de zogenaamde 'Green Leaf Volatiles' (GLVs). GLVs worden gevormd in bladeren vanuit vetzuren zodra planten beschadigd worden door vraat of mechanische schade, waardoor er direct een signaal aan de omgeving wordt afgegeven. Veel herbivoren, met name degene die op bladmateriaal kauwen (zoals rupsen), produceren al etend speeksel (orale secretie, OS) dat de samenstelling van de door de plant afgegeven geur kan veranderen. Het speeksel bevat chemische substanties en enzymen die door de plant worden herkend zodra ze in contact komen met beschadigd bladmateriaal. Hierop worden specifieke verdedigingsmechanismen in de plant in werking gesteld, waaronder de emissie van herbivoor-geïnduceerde vluchtige stoffen.

In dit proefschrift beschrijf ik de biosynthese van GLVs in wilde tabak (*Nicotiana attenuata*), hoe deze wordt beïnvloed door vraat van de rups van *Manduca sexta* en welke gevolgen deze vraat-geïnduceerde veranderingen in GLV samenstelling hebben voor de herbivoor en zijn natuurlijke vijand.

GLVs worden gevormd via de oxylipin biosynthese route. Deze biochemische route splitst zich op in verschillende takken. Een van de takken leidt naar de formatie van GLVs terwijl de andere tak leidt tot de productie van het plantenhormoon jasmonzuur (JA). Beide routes worden van substraat voorzien door het lipogygenase (LOX) enzym via oxidatie van vetzuurketens. Planten kunnen meerdere lipoxygenases hebben en interessant genoeg kunnen deze specifiek zijn voor één van beide takken. Wij hebben aangetoond dat in wilde tabak twee

LOX enzymen, NaLOX2 en NaLOX3, specifieke biosynthese routes van substraat voorzien. NaLOX3 activiteit is noodzakelijk voor de synthese van JA, terwijl NaLOX2 essentieel is voor de vorming van GLVs. Deze conclusies zijn gebaseerd op werk met transgene tabaksplanten waarin de expressie van dan wel het *NaLOX2* (ir-*lox2*) gen of het *NaLOX3* (ir-*lox3*) sterk verlaagd was. Hoewel verlaging van *NaLOX2* expressie gerelateerd was aan een sterk verlaagde productie van GLVs, bleek de formatie van JA en de overige metabolieten in die biosynthese route onveranderd. Anderzijds bleek verminderde *NaLOX3* expressie te leiden tot een aanzienlijk verlaging in de productie van JA, terwijl de biosynthese van GLVs onaangetast bleef (**Hoofdstuk 2**).

GLVs zijn een klasse van geurstoffen die bestaan uit een keten van zes koolstofatomen als skelet. (*Z*)-3-hexenal is de meest abundante GLV die afgegeven wordt door tabak. (*Z*)-3-hexenal is een aldehyde die kan worden omgezet naar een corresponderende alcohol of ester, maar het kan ook worden geconverteerd tot het overeenkomstig (*E*)-isomeer. Hoewel (*E*)-2-hexenal dezelfde moleculaire formule heeft als (*Z*)-3-hexenal, is de structuurformule anders. We hebben laten zien dat mechanisch verwonde bladeren van wilde tabak grote hoeveelheden (*Z*)-GLVs en kleine hoeveelheden (*E*)-GLVs emitteren. Echter, bij vraat door de op tabaksplant gespecialiseerde rups *M. sexta*, of na aanbrengen van *M. sexta* speeksel op mechanisch verwond weefsel, bleek de verhouding van de verschillende isomeren drastisch te verschuiven van (*Z*)- naar (*E*)-GLVs. Hoewel beide isomeren dezelfde structuurformule hebben, verschillen de geuren enorm van elkaar. (*Z*)-3-hexenal bepaalt voor het grootste gedeelte de karakteristieke geur van vers gemaaid gras, terwijl (*E*)-2-hexenal een scherpe, fruitige geur heeft. In veldexperimenten bleek dat de natuurlijke vijand van de *M. sexta* rups, de 'big-eyed bug' *Geocoris*, een wantssoort die zich voedt met *Manduca* eitjes en jonge larven, onderscheid kan maken tussen (*Z*)- en (*E*)-GLVs en tussen verschillende (*Z*)/(*E*)-ratios. Deze wants gebruikt dus de door de herbivoor geïnduceerde veranderingen in het vluchtige stoffen profiel van de plant, om zijn prooi te lokaliseren. Tijdens gedetailleerd onderzoek in het laboratorium bleek vervolgens dat de omzetting van (*Z*)-GLVs naar (*E*)-GLVs wordt gekatalyseerd door enzymen die aanwezig zijn in het speeksel van de rups. Verbazingwekkend genoeg blijkt dus dat niet de plant, maar het insect zelf zijn aanwezigheid op de plant verraad (**Hoofdstuk 3**).

Niet alleen 'big-eyed-bug' *Geocorus* kan onderscheid maken tussen de isomeren, maar ook de *M. sexta* vrouwtjesmotten gebruiken deze informatie om een geschikte waardplant te vinden voor hun nageslacht. We hebben aangetoond dat (*Z*)- en (*E*)-GLVs verschillende regio's in de hersenen (antennale kwabben) van het mottenvrouwtje stimuleren. De mot legt

meer eitjes op planten die alleen, of voornamelijk, (Z)-GLVs emitteren (**Hoofdstuk 4**). Op deze manier kunnen motten planten vermijden die al bevolkt zijn door rupsen en wier verdedigingssysteem al geïnduceerd is.

De eerste stappen richting de identificatie van het enzym dat verantwoordelijk is voor de omzetting van (*Z*)-3- naar (*E*)-2-hexenal in het speeksel van de *M. sexta* rups, zijn gezet. We hebben grote hoeveelheden speeksel van de rups verzameld en via verschillende biochemische fractionerings- en opzuiveringstechnieken hebben we een actieve component geïsoleerd, die binnen een brede pH range actief is en een massa van groter dan 50kDa heeft (**Hoofdstuk 5**). Ik ben ervan overtuigd dat we binnenkort, als de genomische en transcriptionele databanken van *M. sexta* beschikbaar zijn, het verantwoordelijke isomerase in het speeksel van de rups zullen identificeren.