



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Shape up your root

*Novel cellular pathways mediating root responses to salt stress and phosphate starvation*

Kawa, D.

#### Publication date

2017

#### Document Version

Other version

#### License

Other

[Link to publication](#)

#### Citation for published version (APA):

Kawa, D. (2017). *Shape up your root: Novel cellular pathways mediating root responses to salt stress and phosphate starvation*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

#### General rights

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 than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

## Samenvatting

Toenemende verzilting draagt jaarlijks bij aan een wereldwijde afname in landbouwgrond en maakt de omstandigheden voor het groeien van planten moeilijk. De meeste gewassen zijn gevoelig voor zoutstress, wat nadelig is voor hun groei en productiviteit. Bodemverzilting leidt tot afname in de beschikbaarheid van anorganisch fosfaat (Pi), een essentiële voedingsstof voor plantengroei en ontwikkeling. Dit betekent in het veld dat planten die last hebben van zoutstress tegelijk te maken hebben met Pi-beperking. De wortel is het eerste orgaan dat veranderingen in bodemcondities waarneemt, en kan zich in vorm aanpassen aan de omstandigheden. Hoofdstuk 1 gaat over het belang van wortelstelselarchitectuur (RSA) voor plantresponsen op stress en onderdelen van signalering die RSA-veranderingen aansturen, waarbij de invloeden van zout en Pi-tekort centraal staan. Tevens worden de laatste inzichten in de effecten van multifactoriële stressen samengevat, en de vorderingen gepresenteerd in het gebruik van natuurlijke variatie om genetische factoren in stressresponsen te ontrafelen.

Veranderingen in RSA zijn de fenotypische output van een complex netwerk van stress-sigtaalroutes. Een belangrijke stap in stressresponsen is de modulatie van genexpressie, wat kan plaatsvinden door activatie of remming van transcriptie, maar ook, op post-transcriptioneel niveau, door het regelen van pre-mRNA splicing of mRNA-afbraak. Hoofdstuk 2 presenteert een overzicht van de componenten van de mRNA metabolisme-routes die betrokken zijn bij responsen op osmotische en zout stress. Deze machinerie is gericht op een stress-specifieke subset van transcripten en we vermoeden dat de fosforyleringstoestand van onderdelen van het 5' mRNA decapping complex verantwoordelijk is voor deze selectiviteit. In Hoofdstuk 3 presenteren we de identificatie van VCS, een onderdeel van het mRNA decapping complex, als een direct substraat voor fosforylatie door SnRK2.4 en SnRK2.10 proteïne kinases, essentiële onderdelen van vroege zoutstress-signalering. Aangezien ook andere SnRK2 proteïne kinases in staat waren VCS te fosforyleren, suggereren we dat er in de SnRK2 kinase-familie tenminste gedeeltelijke functionele redundantie bestaat. Mutanten van eiwitten in 5' mRNA-afbraak, en van SnRK2.4 en SnRK2.10 lieten veranderingen in wortelgroei bij zout zien, wat het verband tussen deze twee routes ondersteunt. Analyse van zoutgeïnduceerde veranderingen in het transcriptoom identificeerde PIP2,5 aquaporin en het lokale auxine biosynthese enzym CYP79B2 als potentiële downstream componenten van de SnRK2.4 en SnRK2.10 signaleringsroute, die werkt door modulatie van mRNA turnover.

De complexiteit van de omgeving van planten noodzaakt tot onderzoek van het effect van meerdere gelijktijdige stressen. Het idee dat voedingsstoffen van invloed zijn op het effect van zoutstress bestaat al lang. In Hoofdstuk 4 richten we ons op het effect van Pi op zoutresponsen van de wortel. Allereerst hebben we de dynamiek van wortelgroei bekeken. Een Pi-tekort verkleinde het effect van milde zoutstress op de groeisnelheid van hoofd- en zijwortels, terwijl

in hoge zoutconcentraties dit effect alleen werd waargenomen bij zijwortels. Om een meer compleet beeld te krijgen van de interactie tussen zoutstress en Pi-tekort hebben we een gedetailleerde quantificering gemaakt van de veranderingen in RSA onder invloed van zout, Pi-tekort en een combinatie van die twee (dubbelstress) op één tijdstip. Net als in de studies van de dynamiek, reageerden hoofd- en zijwortels verschillend. Het effect van Pi-tekort werd gemaskeerd door zoutstress in alle kenmerken die de zijwortels beschrijven, terwijl de combinatie van Pi-tekort en zoutstress een additief effect had op de hoofdwortel.

Bodemcondities verschillen wereldwijd en versterken de natuurlijke selectie en genetische aanpassingen van planten, wat wordt gezien als oorzaak van fenotypische diversiteit tussen soorten. Natuurlijke variatie voorziet in waardevol genetisch gereedschap om genetische componenten te ontdekken die interacties met de omgeving aansturen en veredelingsprogramma's mogelijk maken. We hebben natuurlijke variatie waargenomen in *Arabidopsis* in de modulatie van RSA onder zoutstress, Pi-tekort en hun combinatie (Hoofdstuk 4 en 5). Het model van de integratie van signalen van zoutstress en Pi-tekort was representatief voor een zeer groot aantal *Arabidopsis* accessies, maar tegelijkertijd hebben we accessies gevonden met extreme responsen, waarbij bijvoorbeeld de respons van zijwortels op Pi-tekort voorrang kreeg op de zoutrespons (Hoofdstuk 4).

Onderzoek van de genetische basis van natuurlijke variatie in stressresponsen kan ons helpen de evolutie van fenotypische plasticiteit beter te begrijpen, en kan gebruikt worden bij het vinden van loci die stressresponsen reguleren. De RSA-data verzameld in Hoofdstuk 4 en 5 zijn gebruikt voor Genome Wide Association Studies (GWAS). Een aantal genetische loci is geïdentificeerd als mogelijke componenten van de responsen van wortels op zoutstress, Pi-tekort en de combinatie. Geselecteerde kandidaatgenen zijn geverifieerd door hun mutante lijnen te onderzoeken en accessies met een extreme expressie van deze genen. Sequentiepolymorfisme in de promoterregio van CIP111 bepaalde de expressie van dit gen, en die was gecorreleerd met de zijwortellengte onder zoutstress. LBD16 is geïdentificeerd als zoutstress-specifieke transcriptiefactor die alleen in de wortel tot expressie komt, en die zijwortelvorming in aanwezigheid van zout bevordert.

Responsen op een combinatie van zout en lage Pi-beschikbaarheid waren gedeeltelijk afhankelijk van de fenotypische responsen op de individuele effecten van NaCl en Pi-tekort, die zelf gecorreleerd waren met de basale ontwikkeling van de wortel onder controle-condities (Hoofdstuk 4 en 5). Onze resultaten suggereren dat stressresponsen gecontroleerd worden door dezelfde genetische componenten als ontwikkelingsprocessen; dit betekent dat de interacties van de plant met zijn omgeving aanpassingen vergen van basale ontwikkelingsprocessen.

In Hoofdstuk 6 worden de resultaten van dit proefschrift kritisch besproken in een kader voor verder onderzoek en in het perspectief van de lacunes in het huidige begrip van plantresponsen op stresscondities.