

CRISPR-Cas om groentes te verbeteren

Hoe kunnen we planten weerbaarder maken?

Elysa Overdijk, mei 2019

Leerstoelgroepen Fytopathologie en Celbiologie, Wageningen Universiteit





2019

7 miljard



2050

10 miljard

Hoe kunnen we de voedselproductie verhogen
zonder de natuur te veel te verstoren?

Plantenziekten zorgen voor 20% voedselverlies



Voorbeelden van 'beroemde' plantenziekten

Aardappelziekte *Phytophthora*



Panamaziekte





Plantweerbaarheid verhogen!



Inhoud lezing

- Hoe werkt het afweersysteem van planten?
- Hoe kunnen we het afweersysteem verbeteren?
 - Veredeling
 - Genetische modificatie en CRISPR-Cas techniek
- Debatteren

Afweersysteem van planten

Veel verschillende soorten plant-belagers

Insecten



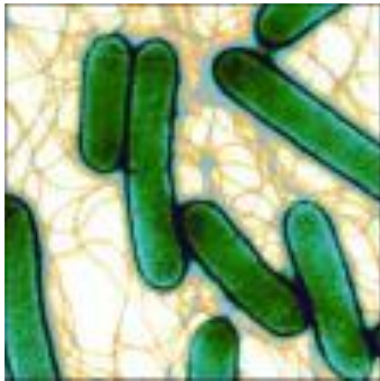
Schimmels



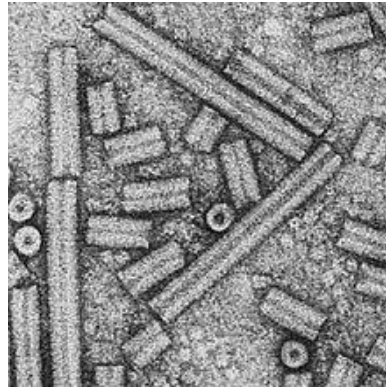
Oömyceten



Bacteriën



Virussen



Nematoden

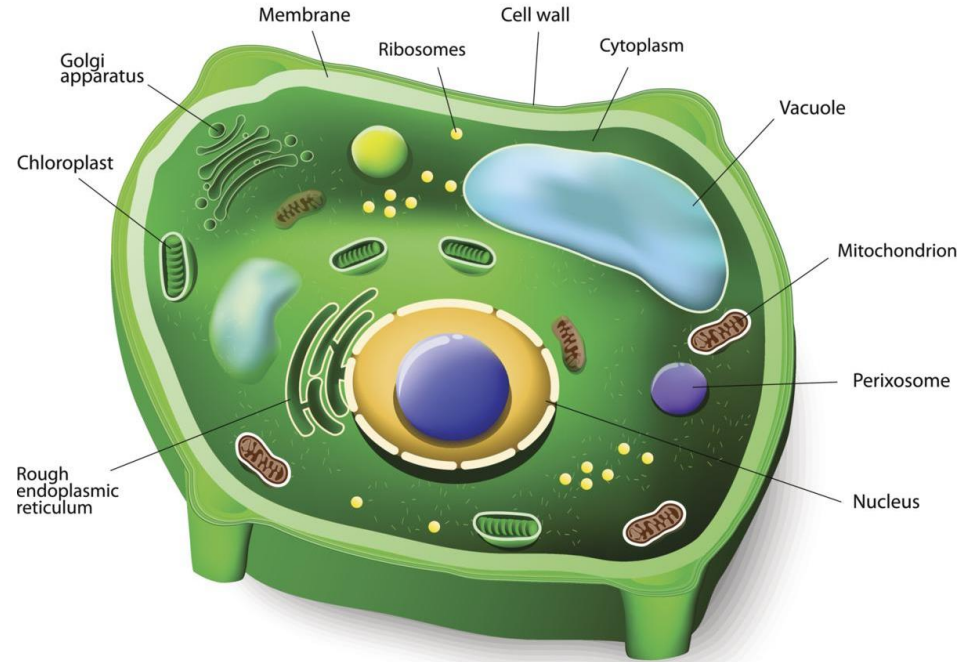
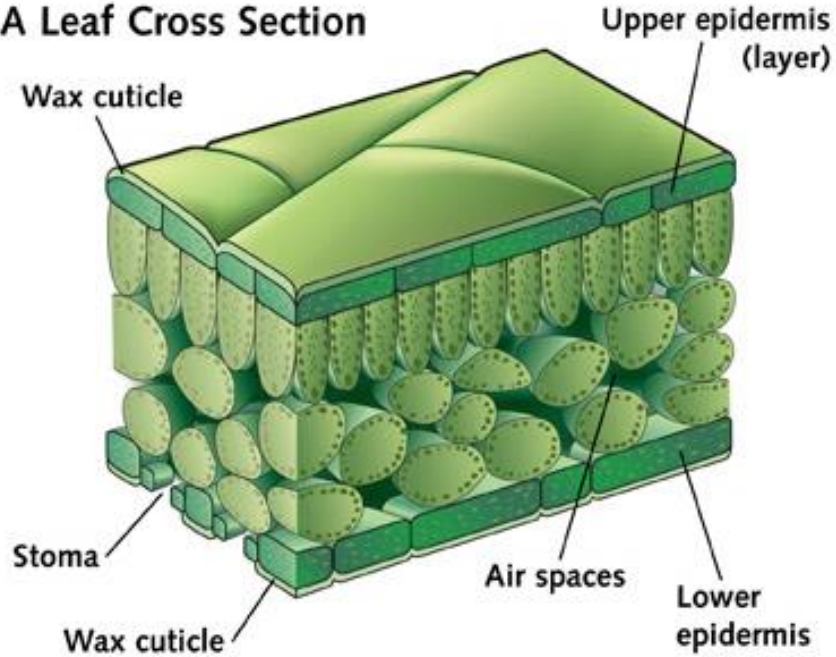


Hoe kom je als pathogeen een plant binnen?

Hoe kom je een plantencel binnen?

Plantencel heeft een dikke celwand

A Leaf Cross Section



Directe penetratie van de celwand dmv appressorium

- Structuur van schimmels en oömyceten
- Extreem hoge druk (80 bar)

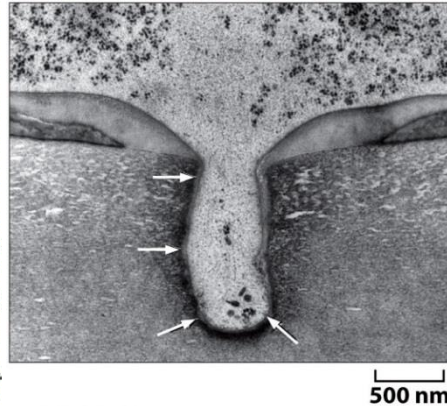
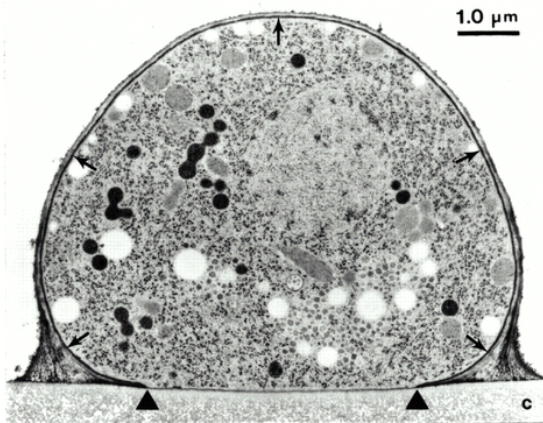
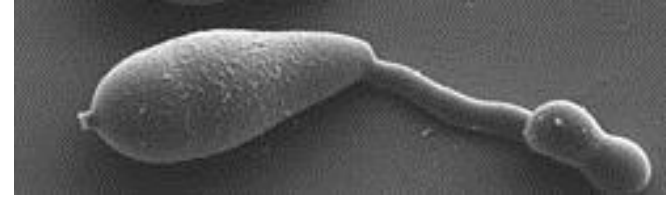
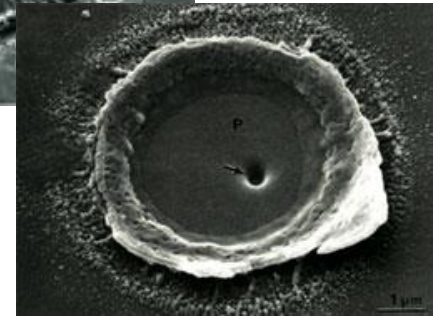
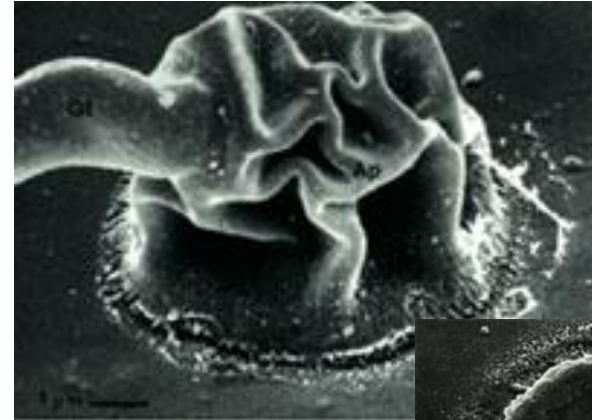
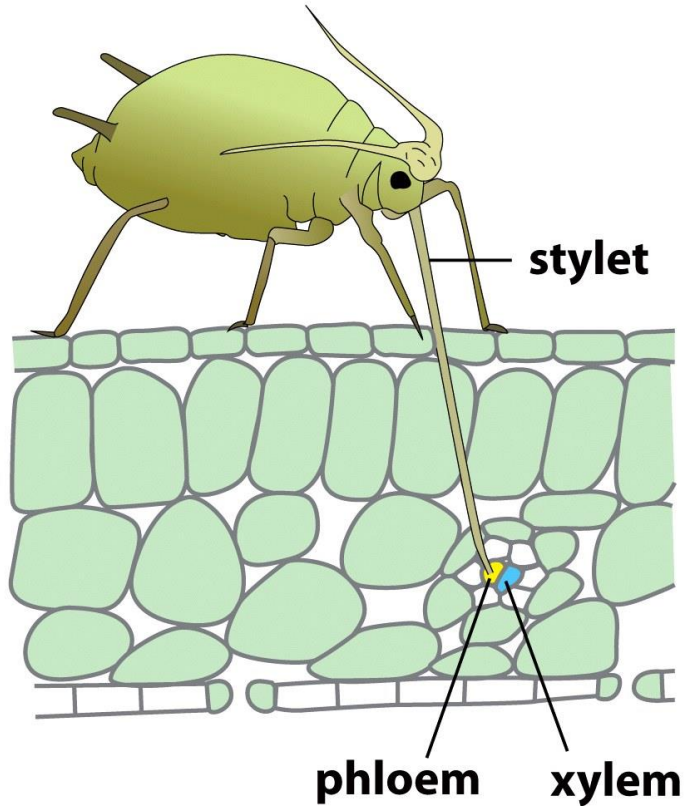


Figure 8-6c Plant Biology (© Garland Science 2010)



Bladluizen en nematoden gebruiken een stekel



Voedingsstructuur in de plantencel - haustorium

Echte meeldauw

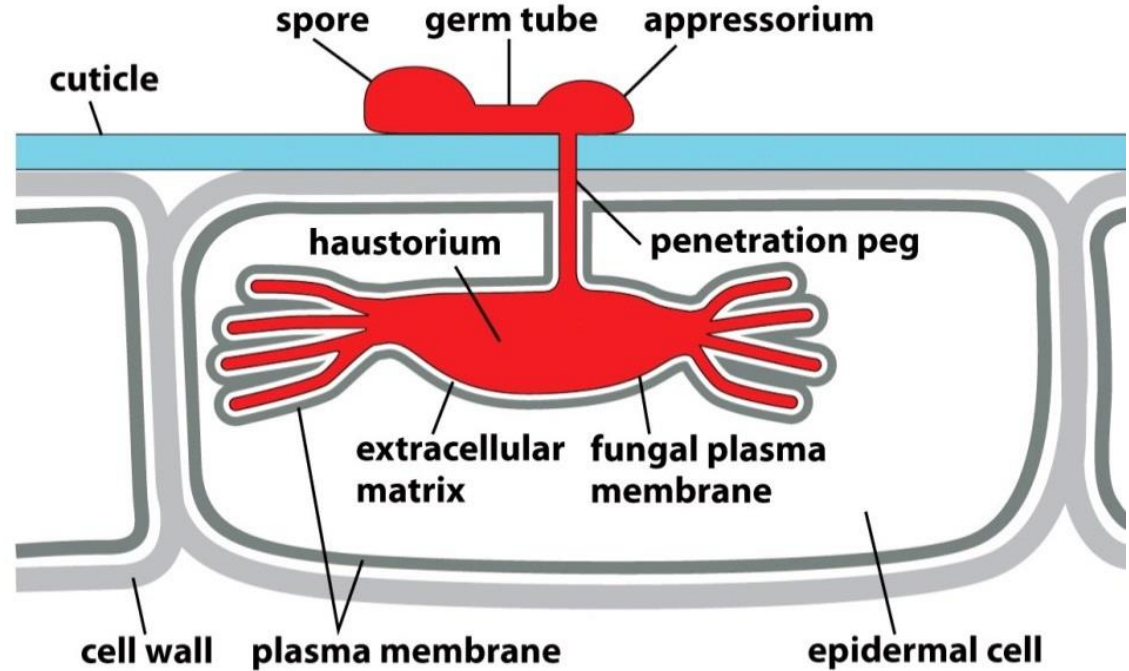
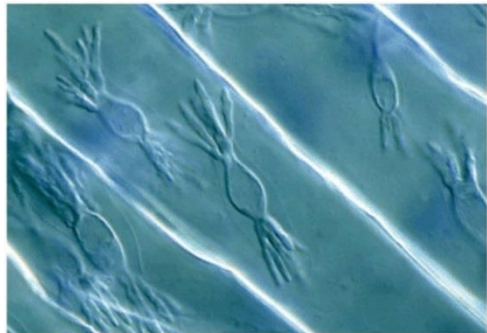
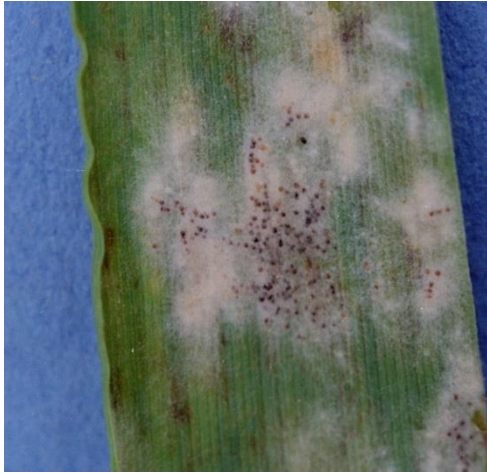
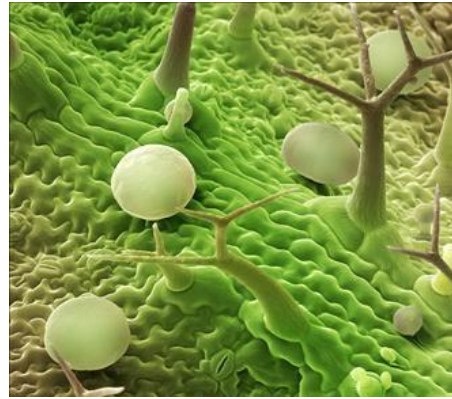


Figure 8-7a Plant Biology (© Garland Science 2010)

Afweersysteem van planten

■ Altijd aanwezige afweer

- Haren
- Doorns en stekels



- Secundaire metabolieten met antimicrobiële werking

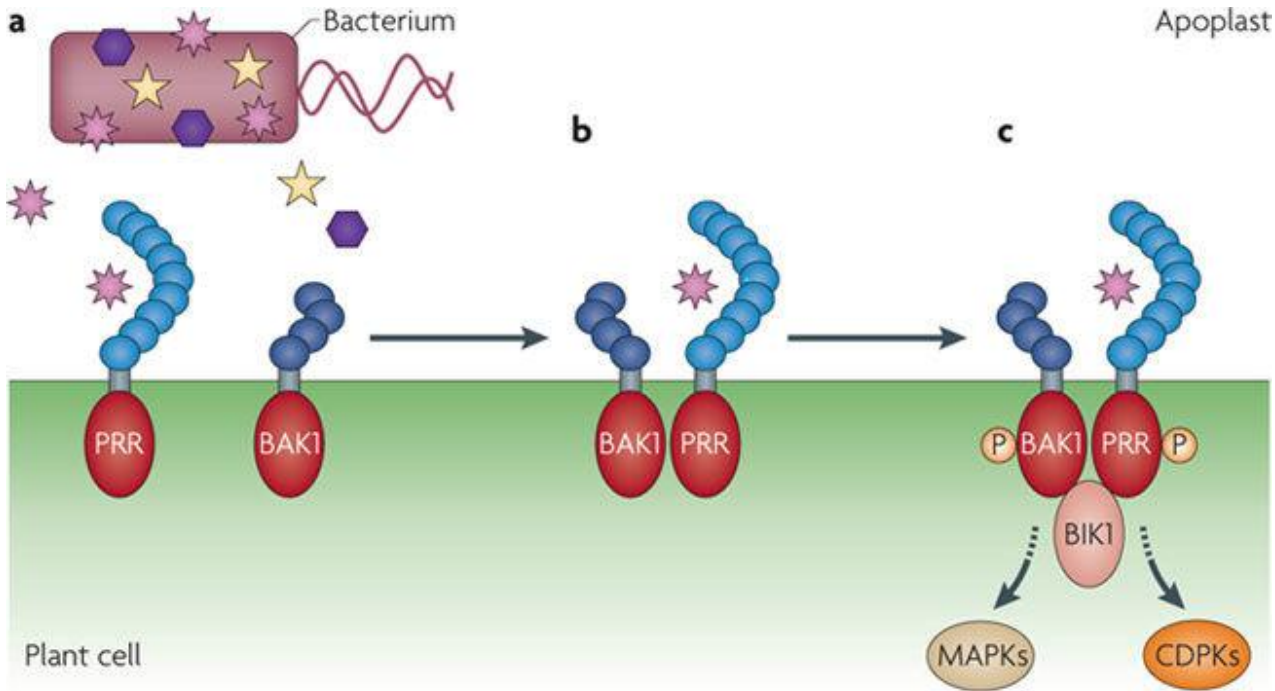
■ Geïnduceerde afweer



Hoe kan een plant een ziekteverwekker herkennen?

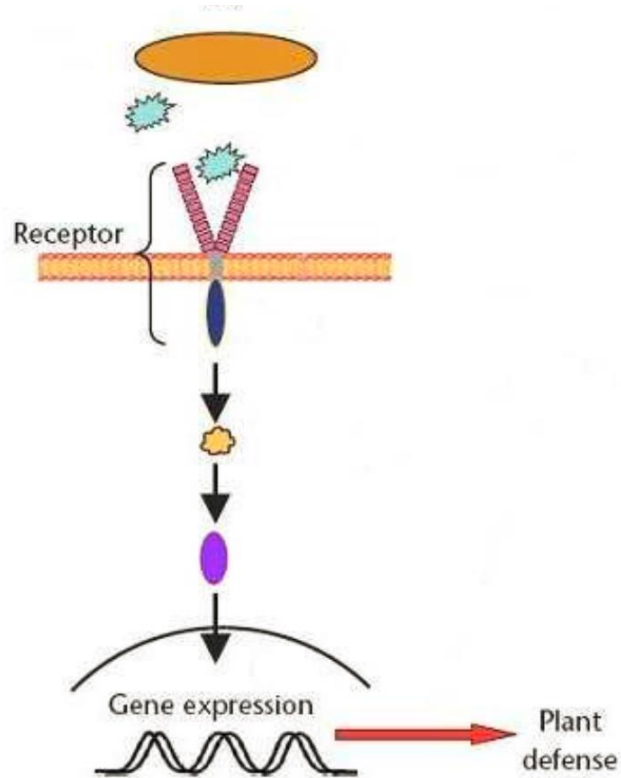
Speciale receptoreiwitten aan buitenkant van de cel

- Herkennen deeltjes van de ziekteverwekker



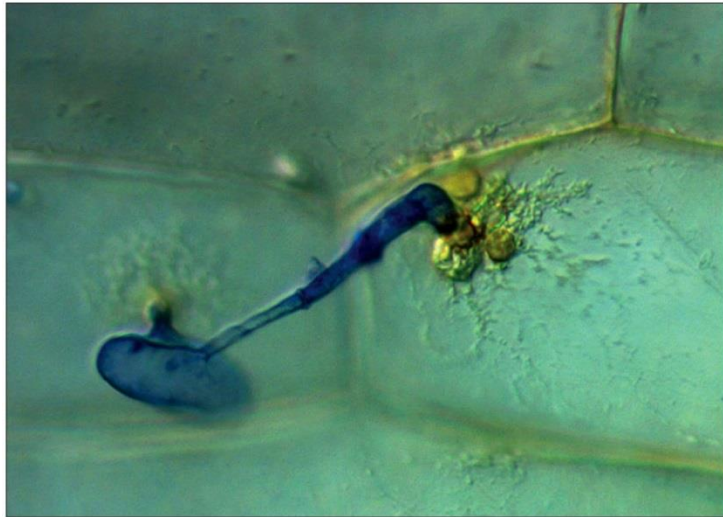
Snelle geïnduceerde verdediging

- Productie van zuurstofradicalen
- Enzymen worden actief
- Genen worden aangezet



Verstevigen van de celwand

- Aanbrengen van een dikke prop callose



12 μm

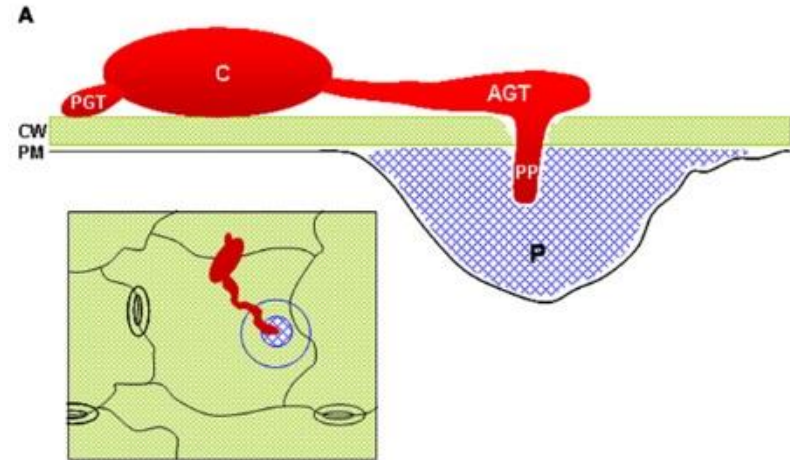
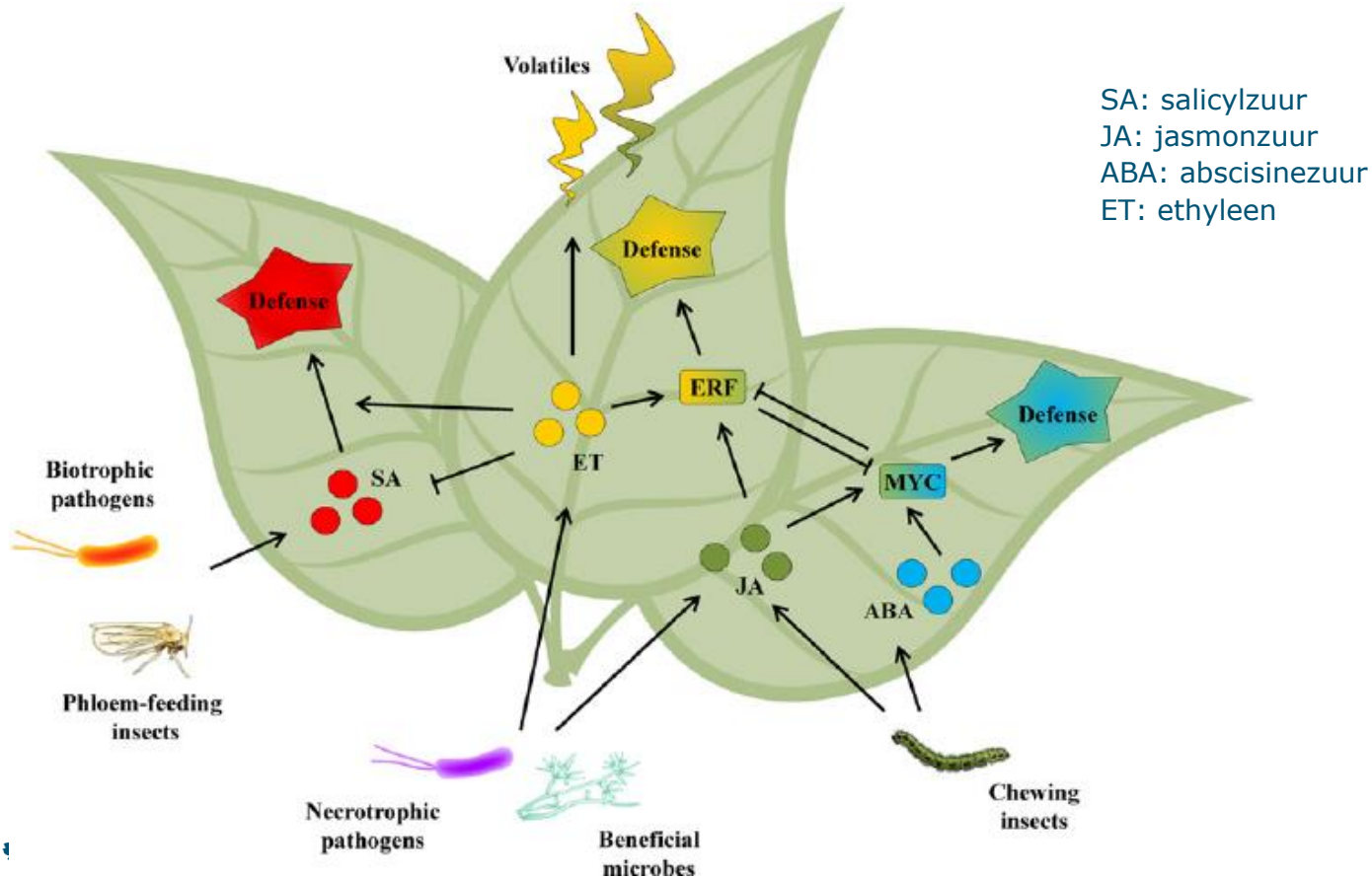


Figure 8-40 Plant Biology (© Garland Science 2010)

Hormonen betrokken bij afweer: complexe interacties

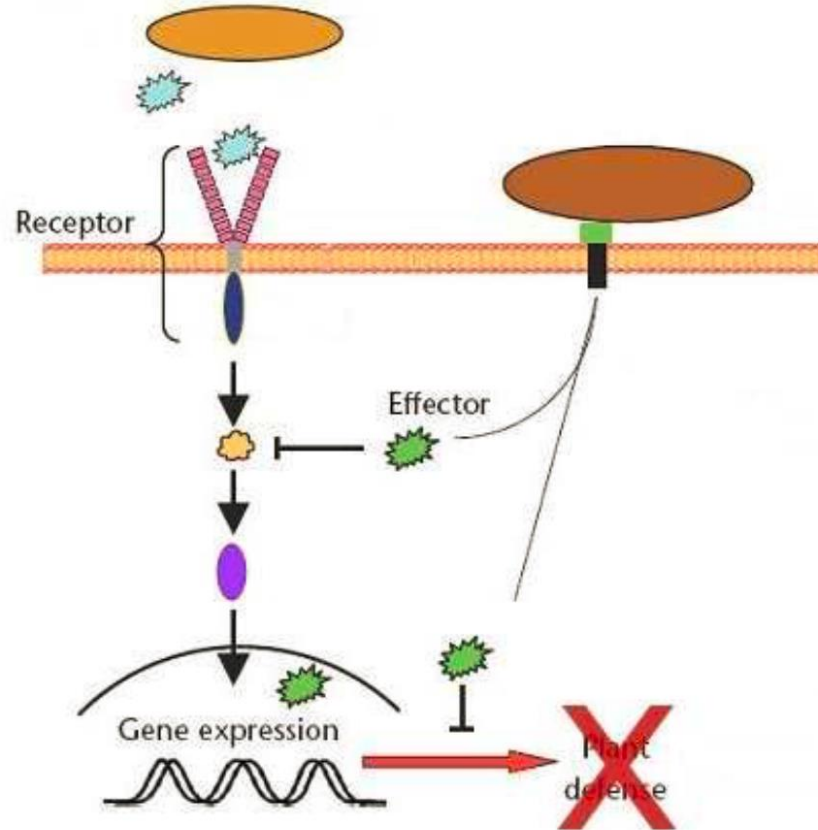


En dan... plant heeft pathogeen herkend en afweer
aangezet

Pathogeen vecht terug!



Effectoreiwitten die plantenafweer onderdrukken



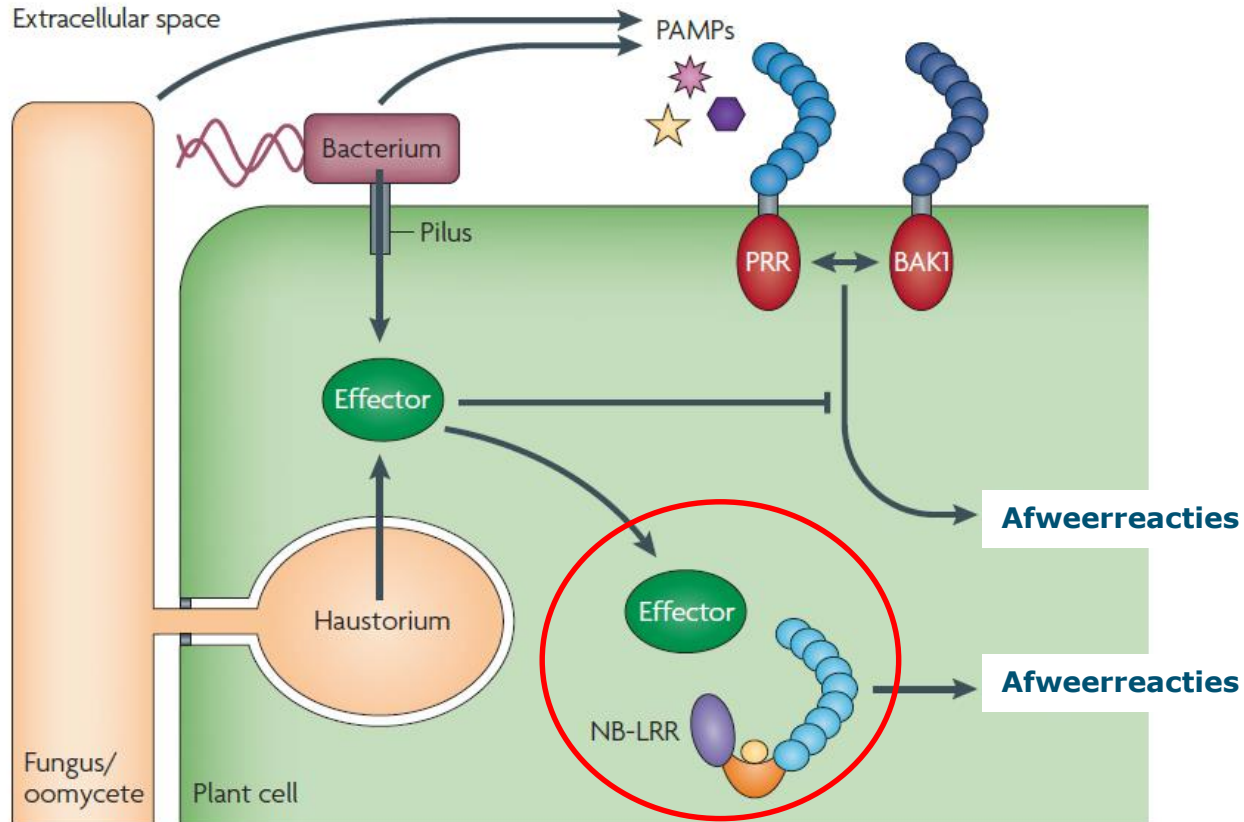
Voorbeeld van een effector in actie

- AVR1 effector van aardappelziekte *Phytophthora infestans*
- Onderdrukt afweer: grotere lesies



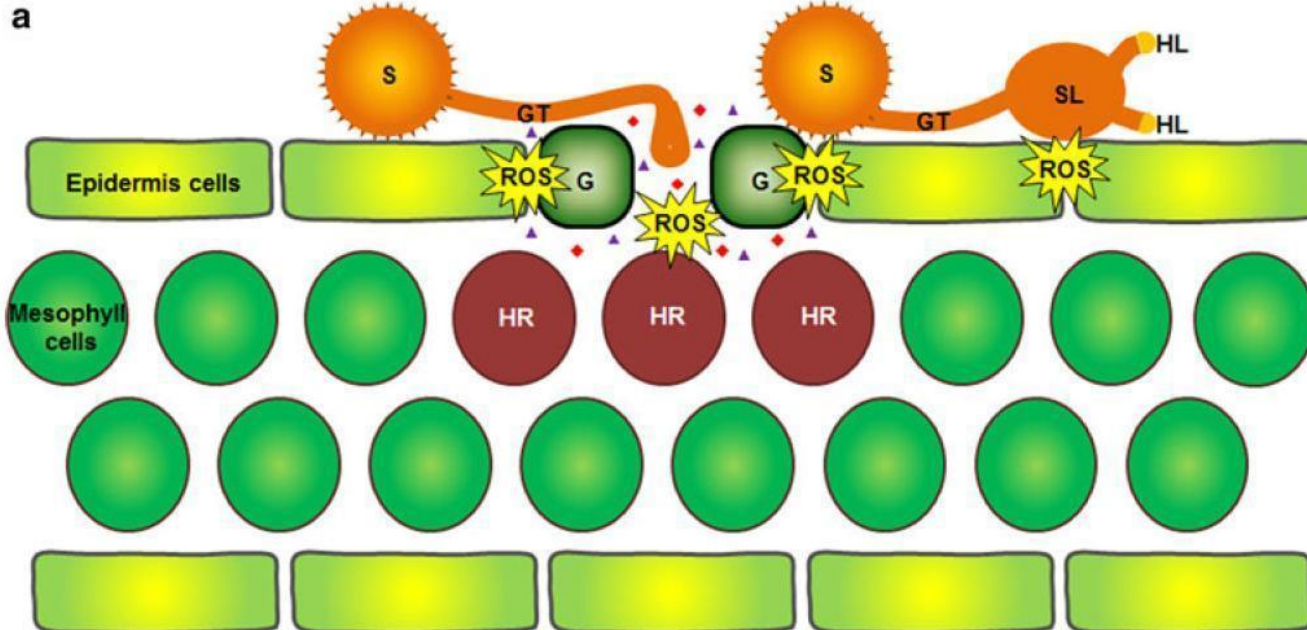
Door effectoren die afweer van de
plant onderdrukken lijkt de
pathogeen te winnen....

Receptoren in de cel die effectoren herkennen: **resistentie-eiwitten**



Resistentie-eiwitten activeren afweer

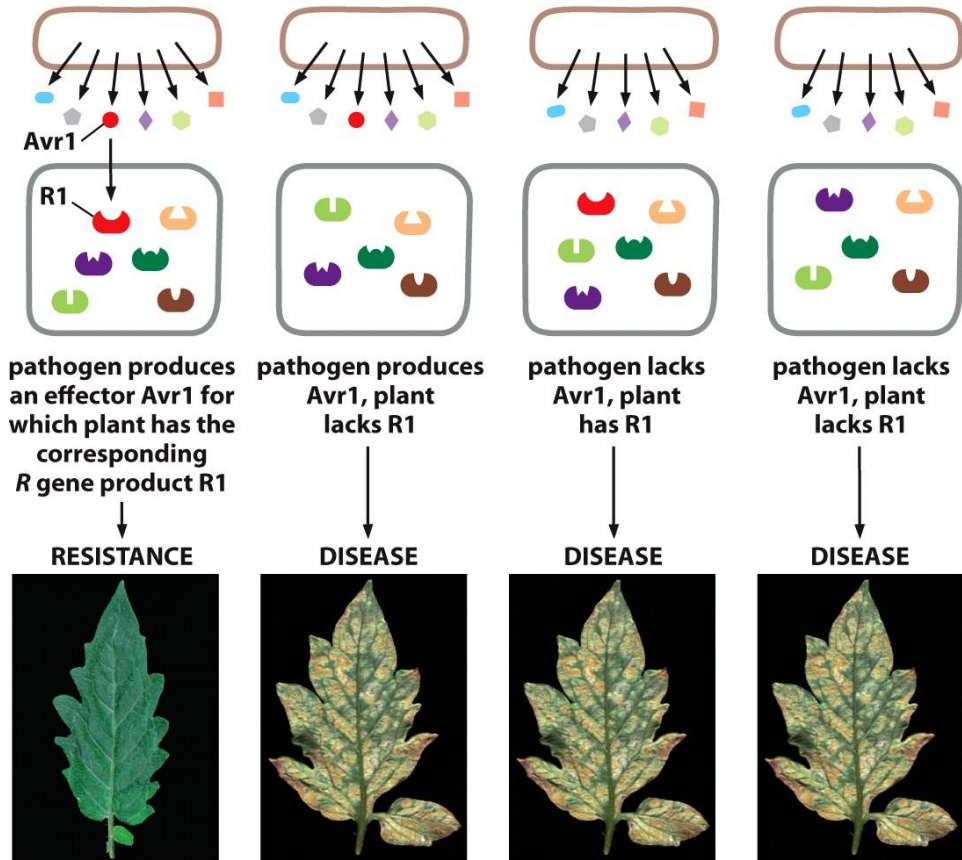
- Hypersensitieve reactie → lokale zelfmoord van cellen



Gele roest op tarwe

Gen-om-gen interactie = sleutel-slot principe

- Resistentie-eiwit is heel specifiek



Samenvatting geïnduceerde plantenafweer

2 lagen van verdediging:

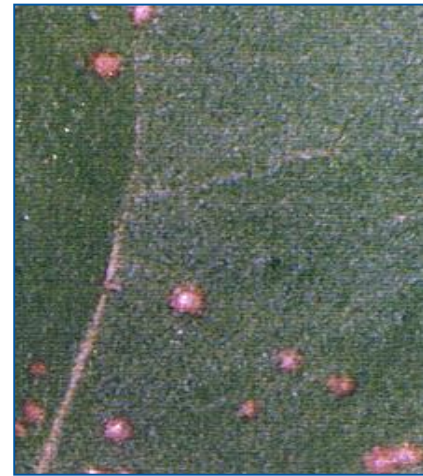
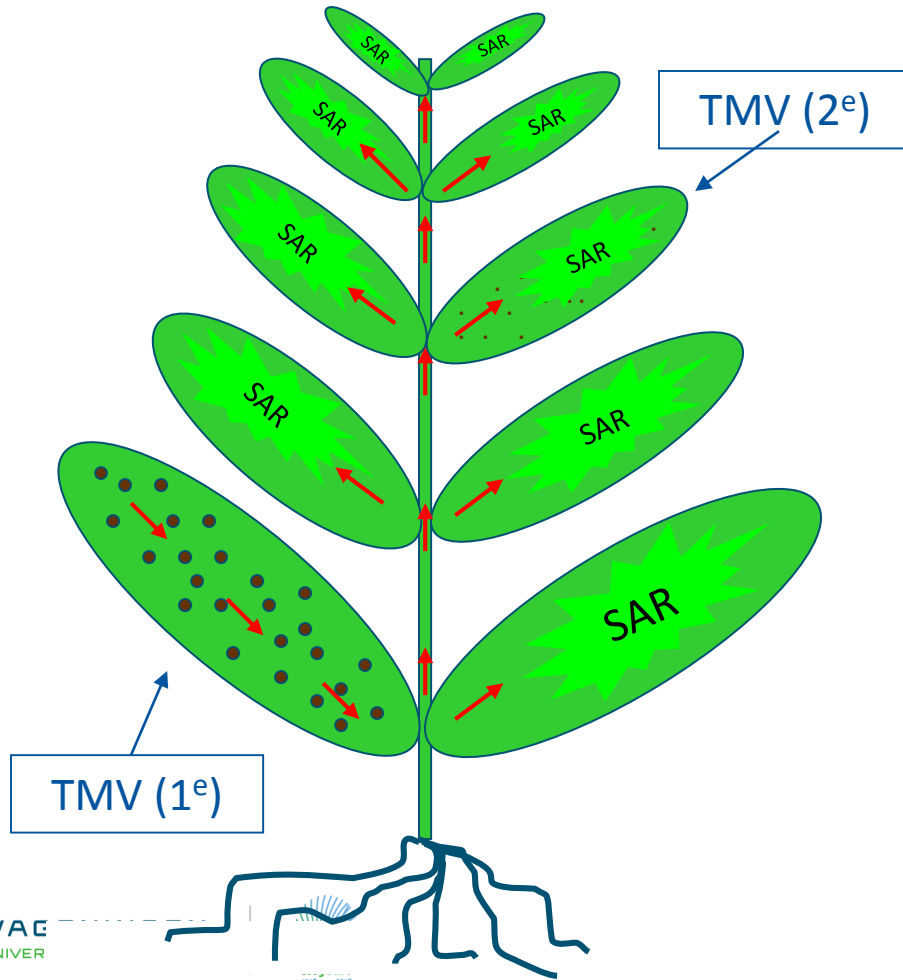
1. Receptoren aan de buitenkant van de cel

- Herkennen deeltjes van de pathogeen
- Zwakke, maar algemene afweer wordt aangezet

2. Receptoren in de plantencel = resistentie-eiwitten

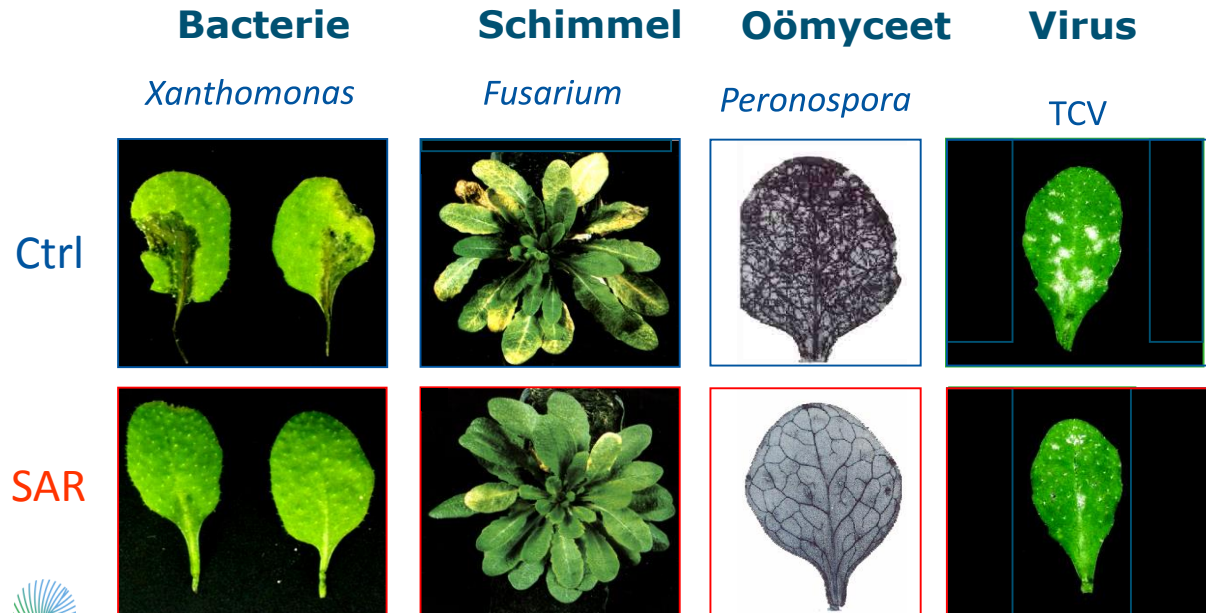
- Herkennen effectoreiwitten van de pathogeen
- Specifieke, maar sterke afweer wordt aangezet (lokale celdood)

Plantenafweer heeft ook een 'geheugen'



SAR - Systemische afweer

- Na infectie door biotrofe ziekteverwekker
- Actief tegen verschillende typen ziekteverwekkers



Ook door niet-pathogene bodembacteriën

Radijs
Fusarium infectie

Pseudomonas fluorescens

+

-



Plantenafweer is vergelijkbaar met onze eigen afweer

- Receptoreiwitten die ziekteverwekker herkennen
- Geïnduceerde afweer (specifiek en algemeen)
- 'Geheugen'



Hoe kunnen we de afweer van planten verbeteren?

- Bodemverbetering
 - Meer micro-organismen
- Veredeling



Veredeling van resistente gewassen

- Inkruisen van resistentiegenen
 - Verhogen van algemene afweer
 - Uitschakelen van vatbaarheidsgenen
-
- Duurzaamheid van de resistentie is erg belangrijk!
 - Constante wapenwedloop

Aardappelziekte *Phytophthora*



Bronnen van resistentie-eiwitten

- (Wilde) verwante soorten
- Mutaties
 - Vaak geïnduceerd via chemicaliën of straling

- Genetische modificatie

Klassieke veredeling

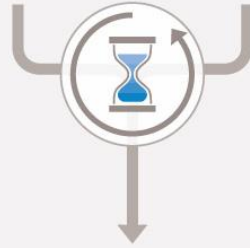
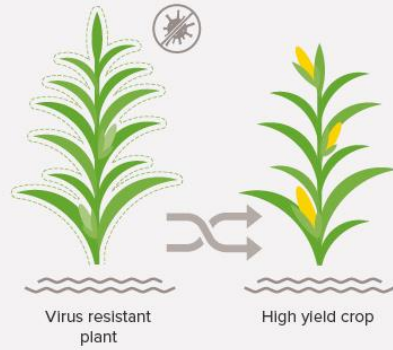
GMO

Klassieke veredeling versus GMO

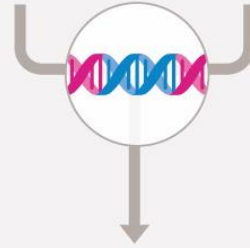
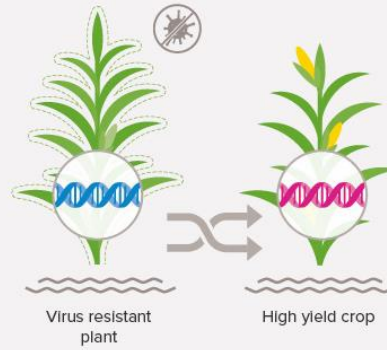
- Klassieke veredeling: kruisen van verwante soorten om zo te selecteren voor gunstige eigenschappen (indirect DNA veranderen)

- Gebruik van GMO: DNA direct veranderen
 - Gen toevoegen van verwante soort of ongerelateerd organisme

Conventional breeding



Genetic modification

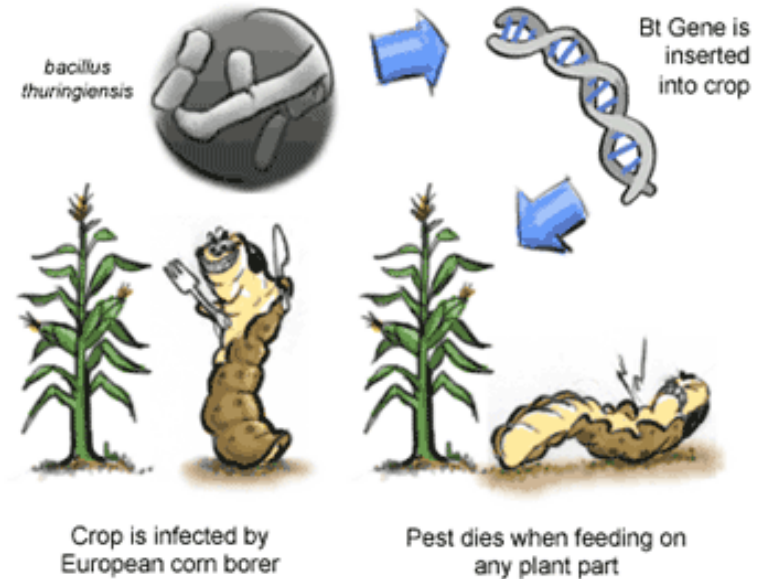


Verschillende soorten GMO

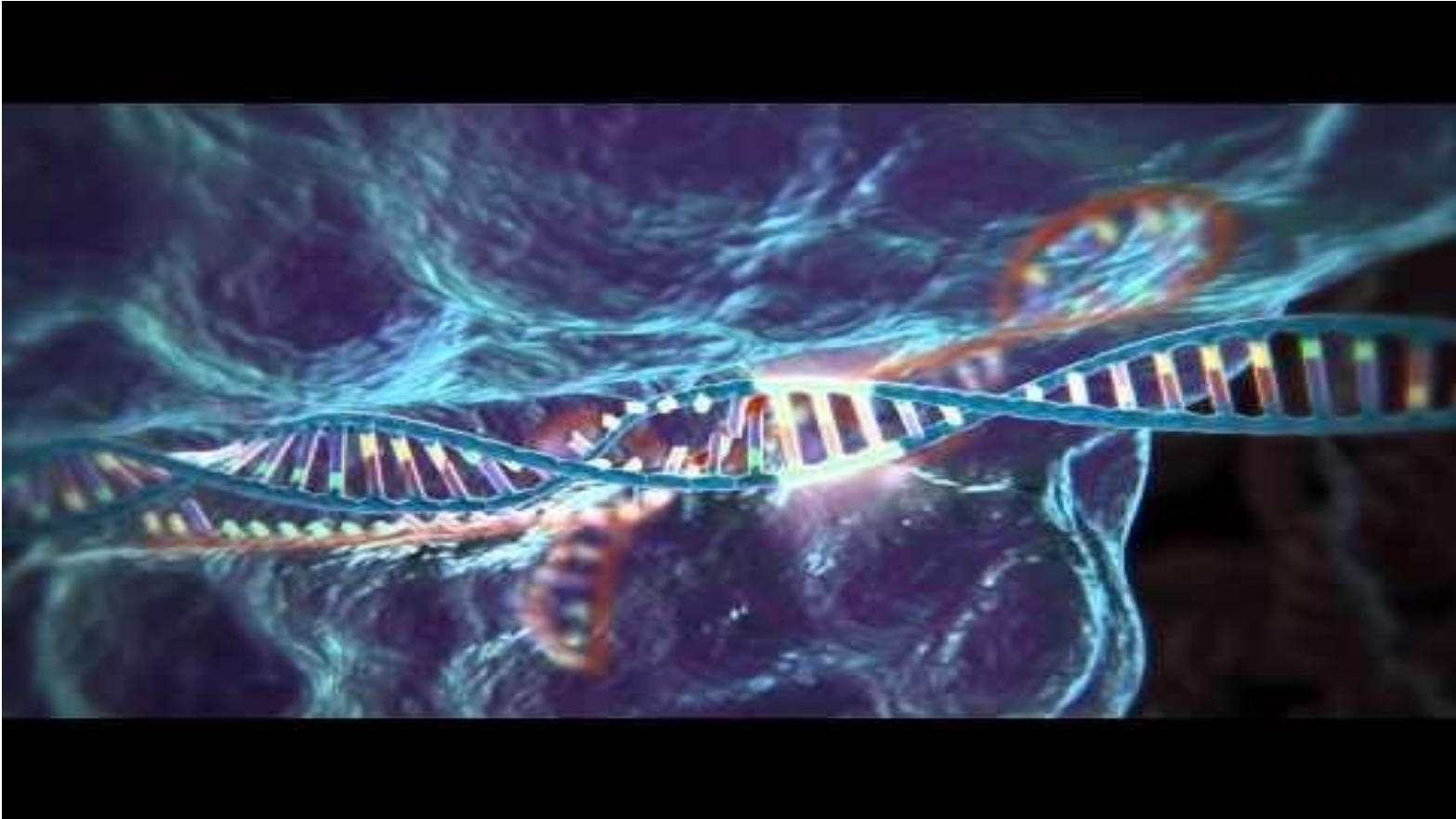
- **Transgeen:** gen uit een andere soort toevoegen
 - Bijvoorbeeld uit een bacterie
- **Cisgeen:** gen uit dezelfde plantensoort
 - Handig voor planten die moeilijk te kruisen zijn (aardappel)
- **Subgeen:** gen uitschakelen in plaats van toevoegen

Voorbeelden meest gebruikte GMO resistenties

- Bt toxine: insectresistentie
 - Bacterieel gen voor giftige stof
- Herbicide (Glyfosfaat/Roundup) resistentie

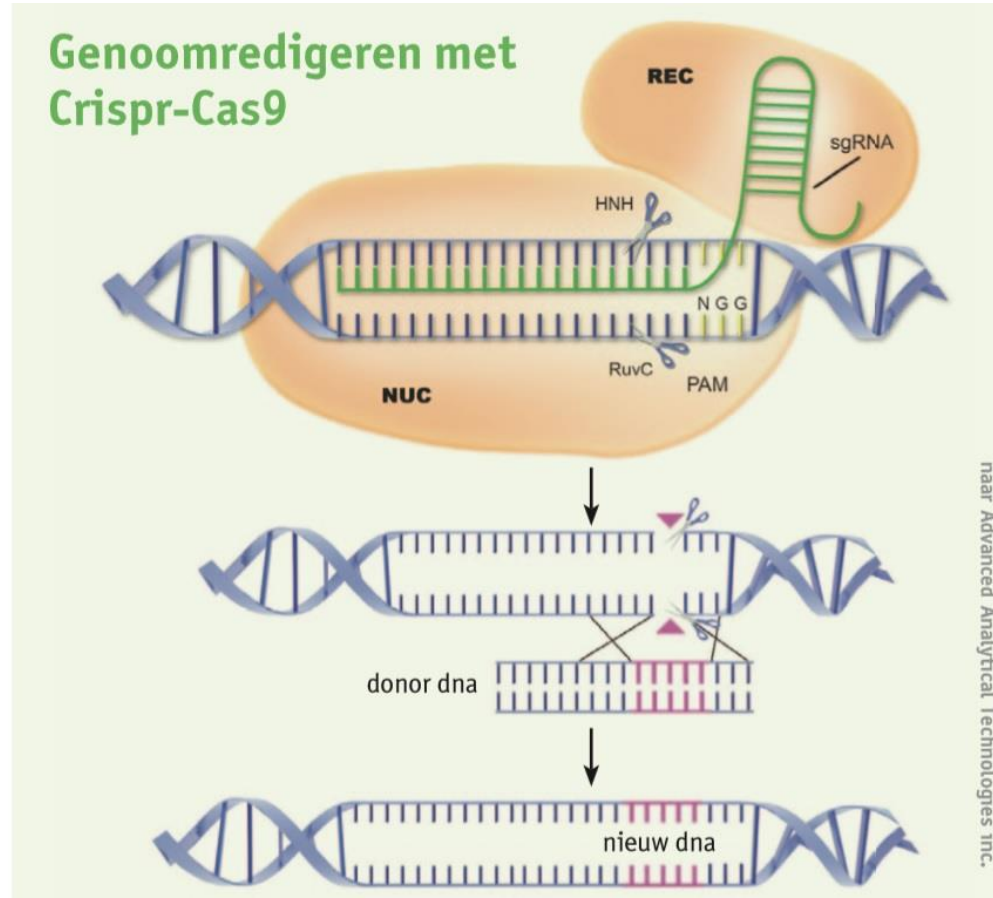


Nieuwste GMO techniek: CRISPR-Cas



CRISPR-Cas9

- Eenvoudig en precies DNA aanpassen
 - Moleculaire zoekmachine en schaar
- Komt geen vreemd DNA mee
- Simpelere video in NL: Knutselen met DNA, Het LAB



Europese regelgeving

- Dus, we **kunnen** veel, maar **willen** we dit ook?
- Europees Hof 2018: CRISPR-Cas valt onder strenge GMO-procedure
 - uitgebreide toelatingsprocedure nodig (bvb in VS, Japan, Australië niet)
- Meeste consumenten zijn huiverig voor GMO's

Debat in de klas – Lagerhuisvorm erg toegankelijk

- Iedereen kan meedoen
- Veel interactie

- Regels:
 - Opstaan als je het woord wil
 - Pas spreken als de debatleider je het woord geeft
 - Laat elkaar uitpraten
 - Elkaar niet kwetsen of persoonlijk aanvallen

Debat over GMOs en CRISPR-Cas

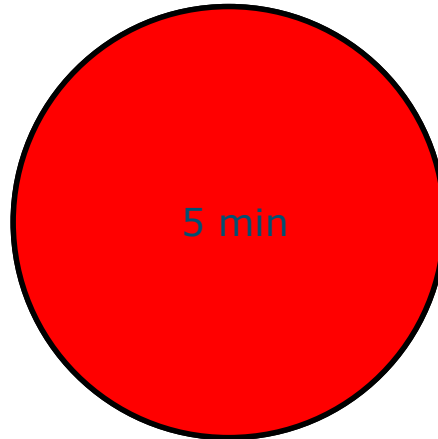
- 3 stellingen
- 5 minuten voorbereiding
- 5 minuten debat per stelling

Voor

Tegen

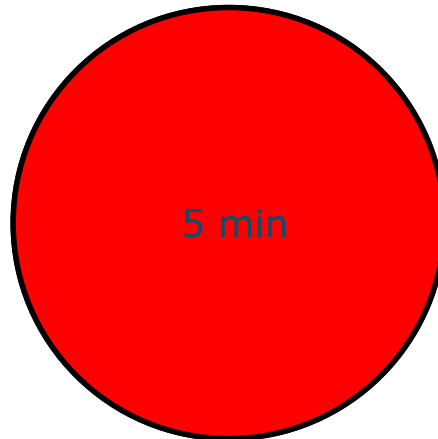
Stelling 1

De CRISPR-Cas techniek moet in Europa niet onder de strenge GMO-regelgeving vallen



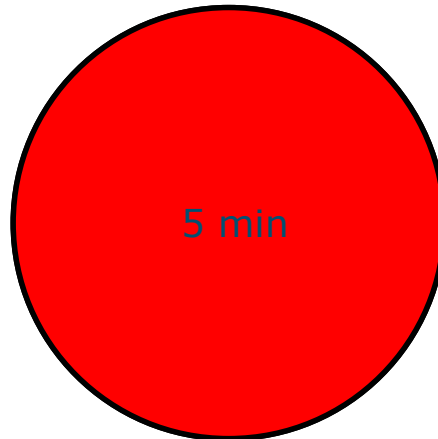
Stelling 2

Het genetisch modificeren van gewassen moet
verboden worden



Stelling 3

De CRISPR-Cas techniek mag wel toegepast worden op planten, maar niet op mensen



Mogelijke risico's van GMOs

- Wat is de invloed op mens en milieu op langer termijn?
- Is het veilig om GMOs te eten?
- Kan het 'nieuwe' DNA zich verspreiden?
- Misbruik van macht door multinationals

Variaties voor in de klas

- Thuis laten voorbereiden
- Leerling het debat laten leiden
- Vrije rollen: leerlingen mogen hun eigen mening verdedigen
- Overloopdebat: van kant wisselen als je van mening veranderd

Take home messages

- Planten zijn niet saai!
- Ze hebben net als wij een complex afweersysteem.
- CRISPR-Cas techniek biedt veel mogelijkheden, maar maatschappelijk debat is erg belangrijk
- Website speciaal voor scholieren: www.plantenziektekunde.nl