

VIRUS ALS VRIEND EN VIJAND

Rede

uitgesproken op 11 juni 1987
in de Aula van de Landbouwniversiteit

door
dr. R.W. Goldbach

bij de aanvaarding van het ambt van
gewoon hoogleraar in de virologie
aan de Landbouwniversiteit Wageningen

*Mijnheer de Rector Magnificus,
Dames en Heren,*

Bij de aanvaarding van een leeropdracht is het immer de bedoeling om de inhoud en grenzen van het te bewerken onderzoeksgebied aan te geven. Voor mijn leeropdracht, de virologie, is dat voorwaar geen overbodige luxe omdat het hier een vakgebied betreft van zeer ruime afmetingen. Dit vloeit voort uit het feit dat voor bijna elk levend organisme, van bacterie tot primate, inmiddels virussen bekend zijn. Men kan rustig stellen: waar leven is zijn virussen.

Iedereen is zich tegenwoordig bewust van het voorkomen van virussen en van de ziekteverschijnselen die zij opwekken. Wat betreft de virussen van de mens hoef ik slechts het griepvirus, het poliovirus, het human immunodeficiency virus (HIV, of - populair gezegd - het AIDS virus), de tumorveroorzakende retrovirussen of - niet te vergeten - de verkoudheidsvirussen te noemen, en u zult het met mij eens zijn dat virussen uitermate capabel zijn om zich ten koste van een gastheer te vermenigvuldigen en in stand te houden.

Omdat mijn werkzaamheden zich afspelen binnen het onderwijs- en onderzoeksterrein van de Landbouwniversiteit zult u - om in stijl te blijven - met de klompen aanvoelen dat wij ons bij de vakgroep Virologie vooral concentreren op virussen en virusziekten die belangrijk zijn voor de landbouw. En dit is altijd zo geweest. Mijn leeropdracht is namelijk niet nieuw maar vormt een voortzetting van het werk van professor Thung, de eerste hoogleraar Virologie aan de toenmalige Landbouwhogeschool (aangesteld in 1957) en van professor Van der Want, zijn opvolger. De

geschiedenis van de Virologie in Wageningen gaat in feite zelfs nog verder terug dan het bestaan van de vakgroep Virologie (30 jaar inmiddels) en reikt tot in de vorige eeuw. Reeds in 1882 publiceerde Adolf Mayer, leraar landbouwscheikunde aan de toenmalige Rijkslandbouwschool, de voorloper van de LH en de huidige LU, over de besmettelijke mozaïekziekte in tabak. Later werd door Beijerinck, eveneens werkzaam geweest aan de Rijkslandbouwschool, aangetoond dat deze ziekte niet door een bacterie of schimmel veroorzaakt werd maar door een smetstof, waarvoor hij de naam filterbaar virus introduceerde (1). Hiermee kan Wageningen, mondiaal gezien, in feite beschouwd worden als de bakermat van de virologie. Het is daarom voor mij van bijzondere betekenis om juist hier in Wageningen de virologie als leeropdracht gekregen te hebben en ik zie het persoonlijk als een morele verplichting om de internationale faam die Wageningen op virologisch gebied bezit, te continueren.

Wat zijn virussen?

Voordat ik aangeef hoe, in mijn visie, de virologie zich in Wageningen zal moeten ontwikkelen is het nodig om stil te staan bij een aantal intrinsieke eigenschappen van virussen. Een ieder heeft een redelijk goed voorstellingsvermogen van bacteriën of andere eencellige organismen. Wanneer het echter gaat om virussen dan krijgen de verhalen al gauw iets mysterieus. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat virussen niet eenvoudig zijn waar te nemen, zelfs niet met een goede lichtmicroscop (enige uitzonderingen daargelaten). Zij voldoen bovendien niet aan de definitie van levend organisme. Virussen zijn inderdaad uiterst kleine structuren, in grootte variërend van 20 tot 2000 nanometer. Zij

bestaan in de meeste gevallen uit een summier stukje nucleïnezuur (DNA of RNA) als genetisch materiaal, omgeven door een eiwitmantel, en zijn slechts waarneembaar met behulp van geavanceerde technieken, zoals de elektronenmicroscopie. Ook voor de viroloog zelf bezitten virussen - gelukkig - nog veel mysterieuze aspecten. Zo is er nog heel weinig bekend over hun ontstaan en evolutie. Regelmatig komen wij voor grote verrassingen te staan. Het is bijvoorbeeld nog maar enkele jaren geleden dat gevonden is dat sommige virussen van planten zodanig genetisch verwant zijn aan virussen van dieren, dat wij moeten denken aan gemeenschappelijke voorouders waaruit deze verwante virussen vrij recentelijk ontstaan zijn (2).

Uiteindelijk moeten alle virussen voortgekomen zijn uit het erfelijk materiaal van de gastheer. Minimale stukjes nucleïnezuur moeten ooit het vermogen hebben gekregen om zich los van het chromosomale materiaal van de gastheer (en egoïstisch) te vermenigvuldigen.

Sinds Mayer en Beijerinck heeft de virologie zich met grote sprongen ontwikkeld. Belangrijke doorbraken werden verkregen dankzij de ontwikkeling van elektronenmicroscopische, serologische en scheidingstechnieken en de laatste jaren vooral door de ontwikkeling van recombinant-DNA technieken. Thans is van een vrij groot aantal virussen de moleculair-genetische structuur grotendeels opgehelderd. Wat betreft de plantevirussen kan de ontwikkeling van de virologie geïllustreerd worden aan de hand van het cowpea-mozaïekvirus. Dit virus heeft hier in Wageningen jarenlang, zowel bij de vakgroep Virologie als bij de vakgroep Moleculaire Biologie, gefungeerd als modelvirus. Het cowpea-mozaïekvirus is een bolvormig virus, 28 nanometer in doorsnede, waarvan het erfelijk materiaal bestaat uit twee kleine RNA moleculen (3).

In ruste, d.w.z. als ingepakte RNA-moleculen, lijkt dit virus de eenvoud zelve. Echter, bij binnendringen van een geschikte waardplant treedt ontmanteling op en zal het zich zeer duidelijk en efficiënt als parasiet manifesteren. Dan blijkt dat de beperkte hoeveelheid nucleïnezuur van het virus voldoende is om de gehele intracellulaire organisatie van de gastheer aan te wenden voor de aanmaak van een grote hoeveelheid nieuw virus. Doordat het virus in tal van aspecten gebruik maakt van gastheerfuncties (ribosomen bij de vertaling van het nucleïnezuur in eiwit; nucleotiden en specifieke eiwitten bij de replicatie van het nucleïnezuur, etc.) en de gastheer, in casu de plant, daar in meer of mindere mate last van ondervindt, zullen symptomen van virusziekte gaan ontstaan. Zo kan een cowpea-plant bij infectie met verschillende stammen van het cowpea-mozaïekvirus na enige tijd mild mozaïek, hevig mozaïek en bladvervorming, of zelfs afsterfingsverschijnselen vertonen, afhankelijk van de virulentie van de infecterende virustam. Indien wij nu willen begrijpen hoe een virus als pathogeen functioneert dan moeten wij in eerste instantie het nucleïnezuur van het virus doorgronden en trachten na te gaan welke coderende en regulerende eigenschappen het bezit die een rol kunnen spelen in de pathogenese. Door de volledige nucleotidenvolgorde van het virale genoom vast te stellen en na te gaan voor welke viruseiwitten dit nucleïnezuur codeert zouden wij wellicht het infectieproces kunnen ontrafelen en daar mee mogelijk de virulentie van het virus begrijpen.

Voor een beperkt aantal virussen, waaronder het tabaksmozaïekvirus, het luzernemozaïekvirus, het cowpea-mozaïekvirus en het tabaksratelvirus, is reeds de volledige nucleotidenvolgorde van het genoom bepaald en kan een tamelijk volledige genetische kaart worden opgesteld. Indien wij zo'n genenkaart in ogen-

schouw nemen lijkt het alsof wij al erg veel weten over het functioneren van plantevirussen. Echter, niets is minder waar. De bepaling van volgorden van nucleotiden in virale nucleïnezuren, d.w.z. van de letters en woorden van de erfelijke boodschap, is slechts "the end of the beginning", want daarmee weten wij bijvoorbeeld nog steeds niet welke eigenschappen van het virus ten grondslag liggen aan het ziekteproces, dat uiteindelijk zoveel schade aan plant en gewas veroorzaakt.

Schade door plantevirussen

Dit brengt mij ertoe om stil te staan bij de schade die virussen in landbouwgewassen aanrichten. In een natuurlijk ecologisch systeem zullen plantevirussen niet veel schade veroorzaken. Maar in landbouwgewassen, die grootschalig en meestal in monocultuur worden geteeld, kan de schade veroorzaakt door virussen zeer dramatisch zijn. In aardappelen, bijvoorbeeld, komt minstens een vijftal verschillende virussen voor dat, indien wij niet de juiste maatregelen zouden nemen, grote schade kan veroorzaken. Deze virussen zijn het aardappelvirus Y (een potyvirus), het aardappelbladrolvirus (een luteovirus), de aardappelvirussen M en S (beide carlavirussen) en het aardappelvirus X (een potexvirus). Van deze virussen veroorzaakt het aardappelbladrolvirus, mondiaal gezien, de meeste schade. Indien een perceel zwaar geïnfecteerd raakt, worden oogstverliezen tot 80% vastgesteld. In Nederland gaat de meeste aandacht uit naar het aardappelvirus Y. Van dit virus veroorzaakt stam Y^O de hevigste symptomen en de grootste verliezen (tot 70 à 80% opbrengstverlies), terwijl stam Y^N minder duidelijke symptomen en minder schade (ongeveer 10% opbrengstverlies) teweegbrengt.

In een ander belangrijk landbouwgewas, suikerbieten, komen minstens vier verschillende virussen voor die, vanwege hun schadelijkheid, economisch belangrijk zijn te noemen. Dit zijn, in volgorde van belangrijkheid, het rhizomanievirus (een furovirus), het bietevergelingsvirus (een closterovirus), het zwakke vergelingsvirus van de biet (een luteovirus) en het bietemozaïekvirus (een potyvirus).

Soortgelijke opsommingen kunnen ook gegeven worden voor belangrijke tuinbouwgewassen, zoals komkommer, tomaat en boon, en voor belangrijke bolgewassen zoals tulp en iris. Het zal daarom duidelijk zijn dat bestrijding van plantevirussen van essentiële betekenis is. Vanouds gebeurt deze bestrijding door het nemen van cultuurmaatregelen, zoals het opruimen van potentiële besmettingsbronnen, bestrijding van vectoren (de organismen die zorgdragen voor de overdracht van het virus van plant tot plant) zoals bladluizen, het produceren van virusvrij voortplantingsmateriaal en door de resistentie van het gewas te verhogen. Voor dit alles is echter een grondige kennis van de virussen, hun verspreiding en de bijbehorende virusziekten noodzakelijk. Ook in die gevallen waarin wij besmettingen met virussen aardig onder contrôle denken te hebben, zoals bij de aardappelteelt, is het zaak om alert te blijven. Nederland exporteert immers 500.000 ton pootaardappelen per jaar, ter waarde van maar liefst 300 miljoen gulden. Willen wij op dit gebied exportland nummer één blijven dan zullen wij te allen tijde virusvrij pootgoed dienen te produceren. In ogenschouw genomen dat vrijwel alle Nederlandse aardappelrassen vatbaar zijn voor zowel het Y^N virus als het Y^O virus dan begrijpt u hoe kwetsbaar onze exportpositie zou zijn indien er geen virologen waren. Daarbij komt nog dat

door de snelle vermenigvuldiging van virussen steeds weer nieuwe varianten kunnen ontstaan die in staat zijn om bijv. pas ingebouwde resistenties te doorbreken, of die door veranderde symptomen aan de aandacht ontsnappen.

In andere gevallen staan wij nog volkomen machteloos tegenover virusziekten. Zo breidt het rhizomanievirus, dat grote schade aan de suikerbietenteelt toebrengt, zich nog steeds uit. Tegen dit virus, dat zo'n 20 jaar geleden voor het eerst in Italië werd gevonden en recentelijk ook in ons land is aangetroffen, is nog steeds geen afdoende bestrijding mogelijk. Het rhizomanievirus, dat bovengronds meestal slechts lichte vergeling veroorzaakt, heeft ondergronds een dramatisch effect. Infectie leidt tot sterke toename en uitgroei van zijwortels en drastische reductie van de grootte van de biet. Bij ernstige aantasting valt de opbrengst per hectare terug tot 30% van de normaal haalbare opbrengst en daalt het suikergehalte zelfs tot 10% van de normale waarde (4). Het agressieve karakter van vele plantevirussen en hun vermogen om door snelle evolutie zich steeds aan te passen aan veranderde omstandigheden maakt dat plantevirussen in de landbouw altijd een belangrijke economische factor zullen blijven vormen en dwingt ons ertoe om onverminderd aandacht eraan te blijven besteden.

Moleculaire ecologie van virussen

Zoals ik al eerder opmerkte leken wij - in eerste oogopslag - met de opheldering van de nucleotidenvolgorde van het erfelijk materiaal en met de informatie die daaruit is af te leiden al veel van sommige plantevirussen te begrijpen. Echter, dit is slechts schijn. Hoewel wij nu voor een aantal virussen weten welke virale

eiwitten hoogstwaarschijnlijk betrokken zijn bij de replicatie van het RNA en zelfs welk eiwit hoogstwaarschijnlijk betrokken is bij het cel-tot-celtransport van het virus, impliceert dit nog niet dat wij het werkingsmechanisme van deze eiwitten kennen en zeer zeker nog niet welke specifieke interacties tussen componenten van virus en waardplant ten grondslag liggen aan het ziekteproces. Ook weten wij nog niet welke factoren de specifieke relaties bepalen die er bestaan tussen plantevirussen en hun vectoren. En hier liggen voor nu en in de toekomst de uitdagingen voor ons! Indien wij zouden weten welke virale genen en genproducten betrokken zijn bij de interacties tussen virus, vector en waardplant - en op welke wijze - dan zouden wij een zeer belangrijke stap verder zijn. Hiermee bevredigen wij dan niet louter onze wetenschappelijke en intellectuele drijfveren, maar tevens zullen wij, door het op fundamenteel niveau ontrafelen van de interacties tussen het virus en zijn biologische omgeving, inzicht verkrijgen over te volgen methoden om virussen zeer selectief te bestrijden. Een dergelijk werkterrein zou men kunnen aanduiden met de term moleculaire ecologie. In Fig. 1 is schematisch weergegeven wat mijns inziens de belangrijkste factoren hierbij zijn en welke reeds nu, of in de zeer nabije toekomst, zonder omwegen kunnen worden bestudeerd.

Wat betreft de interactie tussen het virus en zijn waardplant zijn dit:

1. Het gastheerbereik. Hoe komt het dat een bepaald virus (bijv. het bonerolmozaïekvirus) een zeer klein aantal gastheren heeft terwijl een verwant virus (bijv. bonescherpmozaïekvirus) daarentegen een zeer ruim gastheerbereik heeft? (5)

Kennelijk heeft het ene virus zich wat betreft het gebruik

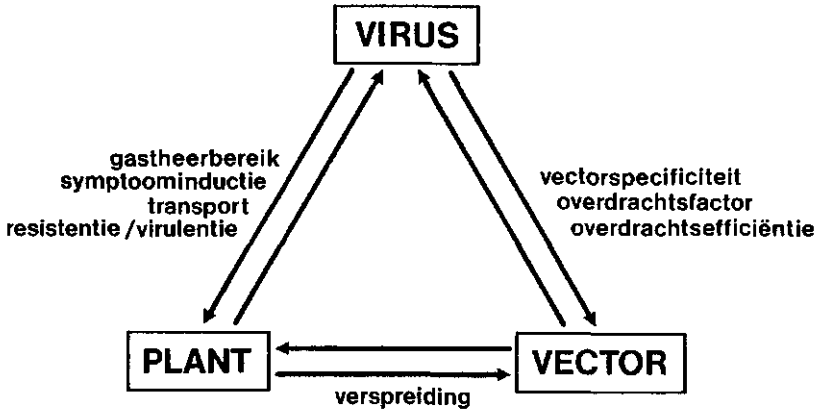


Fig. 1 Moleculaire ecologie van een plantevirus. De factoren en processen die van betekenis zijn en welke zich lenen voor gerichte, moleculaire aanpak zijn weergegeven.

van door de gastheer gecodeerde functies erg eenzijdig gericht op een bepaalde plantesoort terwijl een ander virus de flexibiliteit heeft ingebouwd om ook van andere plantesoorten deze functies te kunnen benutten. Het vaststellen van de specifieke gastheerfactoren (eiwitten, enzymen, andere biomoleculen), die nodig zijn voor virusvermeerdering zal een bijdrage tot opheldering geven. Aanknopingspunten voor dergelijk onderzoek zijn er legio. Zo is voor een aantal deelprocessen van de virusvermenigvuldiging een rol van gastheerfuncties aangetoond of wordt deze vermoed (bijv. ribosomen bij ontmanteling, gastheereiwitten in het virale RNA-replicatiecomplex (6, 7).

2. De symptoominductie. Hoe komt het dat het ene virus(-isolaat) necrose veroorzaakt en het andere virus(-isolaat) bijvoorbeeld vergeling? Ook hier liggen enige mooie modelsystemen voor de greep. Zo hebben wij de beschikking over varianten van het cowpea-mozaïekvirus, die onderling zeer sterk in symptoominductie verschillen. Gezien alle gegevens die wij al over dit virus hebben verzameld zal onderzoek naar de bijdrage van virale functies bij de inductie van symptomen in de toekomst mogelijk zijn. Onlangs hebben onderzoekers in de Verenigde Staten voor het bloemkoolmozaïekvirus aangetoond dat het product van één bepaald gen (gen VI), het z.g. insluitseiwit, verantwoordelijk is voor de symptoomexpressie in de waardplant. Dit is vastgesteld door, gebruikmakend van het Agrobacterium tumefaciens Ti-plasmide systeem, dit gen over te brengen in het chromosomale DNA van de gastheer. Daarbij bleek dat in de transgene nakomelingen symptomen ontwikkeld werden zonder dat er sprake was van virusinfectie (8). Dergelijke proeven laten zien dat middels recombinant-DNA technieken deelprocessen van de toch nog zeer ingewikkelde virusvermenigvuldigingscyclus apart onderzocht kunnen worden om aldus de moleculaire basis van het ziekteproces, dat uiteindelijk tot schade leidt, te achterhalen.
3. Transport. Bij transport van het virus door de plant moet onderscheid gemaakt worden tussen transport van cel tot cel (binnen een blad) en transport via het vaatsysteem ("long distance" transport). Het is duidelijk dat een goed begrip van de verspreiding van het virus door de geïnfecteerde plant van grote betekenis is. Goede kennis ervan zal potentieel kunnen leiden tot selectief indammen van virusinfecties. Voor diverse virussen is inmiddels vastgesteld dat het transport

van cel tot cel, dat via de plasmodesmata moet plaatsvinden, een actief proces is. Zo heeft men voor het tabaksmozaïekvirus aangetoond dat een door dit virus gecodeerd eiwit van 30,000 dalton betrokken is bij dit transport (9, 10). Het werkingsmechanisme van dergelijke transporteiwitten is echter nog volslagen onbekend. Evenmin weet men in welke hoedanigheid (als geassembleerd deeltje? als naakt nucleïnezuur?) het virus wordt getransporteerd. Kortom dit is een welhaast braakliggend terrein, waar wij als virologen nochtans de komende jaren veel kunnen gaan oogsten. Het zal duidelijk zijn dat bij dit onderzoek de elektronenmicroscopie in combinatie met immunologische detectietechnieken een doorslaggevende rol zal spelen.

4. Resistentie/virulentie.

Het is bij lange na nog niet bekend waarop onvatbaarheid of resistentie tegen virussen, die men in diverse cultivars en verdelingslijnen van land-en tuinbouwgewassen heeft geïntroduceerd, berust. Vergaren van fundamentele kennis hierover is in feite van zeer groot belang, temeer omdat virussen steeds opnieuw in staat zijn om bestaande resistenties te doorbreken en aldus hun virulentie terugkrijgen. Het zal duidelijk zijn dat zodra wij onderzoek aan afweermechanismen zullen verrichten wij nauwe samenwerking zullen zoeken met de vakgroepen Fytopathologie en Plantenveredeling. Wat betreft resistentieonderzoek zullen wij voornamelijk de klemtoon leggen op een nieuwe, veelbelovende techniek om via recombinant-DNA technologie bescherming tegen virussen in te bouwen. Hierbij wordt, via het Agrobacterium tumefaciens Ti-plasmide systeem, het manteleiwitgen van een virus ingebouwd in het gastheergenom. Aldus wordt, zoals inmiddels aangetoond voor

het tabaks- en het luzernemozaïekvirus (11, 12), een hoge mate van resistentie verkregen tegen het homologe virus. Reeds dit voorjaar zijn wij daarom in nauwe samenwerking met twee instituten ressorterend onder de Directie Landbouwkundig Onderzoek (DLO), het I.P.O. en de Stichting ITAL, gestart met het bereiden en kloneren van DNA-kopieën van de manteleiwitgenen van de twee belangrijkste aardappelvirussen, het aardappelvirus Y en het aardappelbladrolvirus, met het oogmerk deze in te bouwen in een aantal aardappelrassen. Wij hebben hiervoor met succes steun aangevraagd bij het Innovatiefonds Plantenveredeling (In-Pla-fonds). Niet alleen zullen wij hiermee kansrijk zijn wat betreft het maken van virus-resistente aardappelen, tevens zullen wij een interferentieproces kunnen bestuderen, dat onder de anglicistische naam cross-protectie bekend staat. Hierbij verhindert infectie met een zwakke stam van een virus superinfectie met een tweede, mogelijk meer virulente stam van hetzelfde virus. Het mechanisme van de cross-protectie is nog volslagen onbekend maar vertoont dezelfde karakteristieken als de bescherming in planten die voorzien zijn van viraal manteleiwitgen.

Wat betreft de interacties tussen virus enerzijds en vector anderzijds spelen vectorspecificiteit en overdrachtsefficiëntie een voorname rol. Deze parameters bepalen - naast de activiteit van de vector - voor een belangrijk deel hoe het virus zich in het veld verspreidt. De belangrijkste vectoren treft men aan onder de insecten en mijten. Bij de overdracht door bladluizen, verreweg de meest prominente virusverspreiders, kan dan onderscheid gemaakt worden tussen persistente en non-persistente virusoverdracht. Ons onderzoek op de vakgroep zal erop gericht moeten zijn om inzicht te verkrijgen in het mechanisme van beide.

Bij non-persistente overdracht, waarbij de vector het virus

slechts gedurende zeer korte tijd (minuten) bij zich draagt, is voor enige virus-vector combinaties aangetoond dat een viraal eiwit, de z.g. overdrachtsfactor of helpercomponent, een essentiële rol speelt. Een dergelijk eiwit is bijv. aangetoond bij caulimovirussen (13) en de belangrijke groep der potyvirussen (14, 15). Deze virussen worden slechts dan overgebracht door bladluizen indien zij in staat zijn dit eiwit in de geïnfecteerde plant te produceren. Ook andere factoren zullen ongetwijfeld een rol spelen. Nauwgezette karakterisering van mutanten, defect in hun transmissie, zal hier inzicht kunnen verschaffen. Deze kennis kan in de toekomst wellicht worden aangewend om zeer selectief verspreiding van virussen tegen te gaan zonder dat het milieu daarbij ernstige schade wordt berokkend. Potyvirussen zullen daarbij een goed modelsysteem zijn omdat zij met meer dan 100 verschillende virussen verreweg de grootste en schadelijkste plantevirusgroep vormen. Door hun wereldwijde verbreiding en hun gezamenlijke gastheerbereik vormen de potyvirussen een bedreiging voor vrijwel alle land- en tuinbouwgewassen en zijn zij verantwoordelijk voor het leeuwendeel van de hierin door virussen veroorzaakte schade (16, 17). Dit is een niet onbelangrijke reden voor ons om meer aandacht dan voorheen aan deze virusgroep te besteden.

Bij persistente overdracht passeert het virus na opname door de vector de darmwand, om via de hemolymfe de speekselklieren te bereiken. Met het speeksel kan het virus dan weer aan een gezonde plant afgegeven worden. Het zal duidelijk zijn dat de verspreiding van persistente virussen in het veld geheel anders verloopt dan die van non-persistente virussen. Door hun langere verblijftijd in de vector kunnen persistente virussen over afstanden van soms wel honderden kilometers vervoerd worden. Voor-

beelden van dergelijke virussen zijn de luteovirussen, waaronder het aardappelbladrolvirus en het zwakke bietevergelingsvirus die beiden worden overgebracht door de groene perzikluis (Myzus persicae). Aan beide virussen wordt op onze vakgroep onderzoek verricht, zowel in het veld (in samenwerking met de vakgroep Theoretische Teeltkunde) als in het laboratorium, om enerzijds de verspreiding ervan bij bladluisinvasies te kunnen voorspellen en om anderzijds fundamenteel inzicht te krijgen in het overdrachtsmechanisme.

Veelbelovend is ook het werk aan het tomatebronsvlekkenvirus, een uniek plantevirus. Dit virus verliest bij een reeks van achtereenvolgende, kunstmatige besmettingen van waardplanten reeds na enige passages het vermogen om door thripsen overgedragen te worden. Dit verlies gaat gepaard met het optreden van specifieke deleties in één van de virale RNAs en het ontbreken van een of beide membraaneiwwitten (18). Aldus vormt dit virus met zijn defecte stammen een goed modelsysteem om juist die kenmerken van het virus te leren kennen die ontwikkeld zijn om persistente overdracht mogelijk te maken.

Als tussenconclusie van mijn betoog kan, in het licht van de aanknopingspunten die ik zoal opgesomd heb, worden gesteld dat de tijd rijp is om de moleculaire basis van de ecologie van virussen te ontrafelen. Uiteraard kunnen wij daarbij niet op één been staan en zullen de beoogde proeven hand in hand moeten gaan met overdrachtsstudies in kas en proefveld.

Virussen en Biotechnologie

Tot dusver heb ik gesproken over virussen als pathogeen, als vijand. In het vervolg van mijn betoog zou ik aandacht willen

schenken aan het andere deel van de titel van mijn voordracht: virussen als vriend. Door de relatief vergevorderde kennis omtrent sommige virussen liggen er immers tal van mogelijkheden om viruseigenschappen te exploiteren. Deze activiteit is een belangrijk aspect van wat men thans als biotechnologie aanduidt. En het biotechnologisch toepassen van virussen zullen wij zeker niet nalaten! Ik heb al eerder gememoreerd hoe gekloneerde genen van plantevirussen, hoe paradoxaal dit ook mag klinken, tegen deze pathogenen zèlf ingezet kunnen worden door ze via genetische manipulatie in te bouwen in het chromosomale DNA van hun gastheer. Dit is slechts één toepassing. Hier zijn wij inmiddels voor wat betreft het aardappelbladrolvirus en het aardappelvirus Y mee begonnen.

Onder het hoofdstuk biotechnologie zou ik ook willen plaatsen het construeren van infectieuze DNA-kopieën van RNA-plantevirussen, iets dat voor zowel het tomatelongsplekkenvirus als voor het aardappelbladrolvirus voor ons in het verschiet ligt. Met behulp van dergelijke kopieën zullen wij in staat zijn om gericht mutaties aan te brengen op van te voren vast te stellen plaatsen om daarna te onderzoeken wat het effect op het virus fenotype is. Door middel van deze aanpak, wel aangeduid met "reverse genetics", zullen wij in staat zijn om de voor de ecologie van het virus belangrijke genen te identificeren.

In het kader van biotechnologie verrichten wij ook onderzoek aan een belangrijke groep van invertebratenvirussen, de baculovirussen. Sinds het begin van de zestiger jaren wordt er op onze vakgroep aandacht aan deze virussen besteed. Thans hebben zich enkele onderzoekslijnen uitgekristalliseerd waarvan er twee biotechnologisch van belang zijn. Ten eerste kunnen deze virussen ingezet worden bij de biologische bestrijding van bepaalde schadelijke

insekten in land-, tuin- en bosbouw. Dit is inmiddels aangetoond voor de Floridamol, een ware plaag in Nederlandse kassen (19). Ten tweede kunnen baculovirussen toegepast worden als z.g. expressievector. D.w.z. met behulp van baculovirussen kunnen door genetische manipulatie ook andere, niet-virale eiwitten gemaakt worden. Voordat ik hier meer over zal zeggen, wil ik eerst de baculovirussen als biologisch bestrijdingsmiddel bespreken. De meeste baculovirussen hebben elk een klein gastheerbereik. Vaak infecteren zij niet meer dan één of enkele insectesoorten. Dit is een belangrijk voordeel omdat daardoor zeer selectief tegen een enkele insectesoort opgetreden kan worden. Voor biologische bestrijding is, uiteraard, de produktie van grote hoeveelheden virus noodzakelijk. Dit kan op conventionele wijze gebeuren via insectelarven, met alle nadelen van dien wanneer grote aantallen van deze dieren moeten worden gekweekt. Inmiddels hebben wij in samenwerking met de sectie Proceskunde van de vakgroep Levensmiddelentechnologie laten zien dat het Autographa californica kernpolyedervirus (AcMNPV) in principe ook biotechnologisch op grote schaal te verkrijgen is door daarvoor insectecellen te produceren in bioreactoren (20). Voor de meeste baculovirussen ligt dat echter wat moeilijker. Sommige virussen, welke juist grote mogelijkheden bieden voor biologische bestrijding, kunnen wij (nog) niet in insectecelcultures vermeerderen. Eén van onze onderzoekslijnen zal zich dan ook bezighouden met de moleculaire processen die ten grondslag liggen aan de virusvermenigvuldiging. Inzicht in dit proces geeft ons wellicht de gelegenheid om te zijner tijd d.m.v. gerichte recombinatie en genetische manipulatie virussen te construeren waarin nuttige eigenschappen van twee of meer baculovirussen (waaronder het vermogen tot vermenigvuldiging in celcultures) verenigd

zijn. Dat combinatie van eigenschappen van verschillende baculovirussen op deze wijze mogelijk is hebben wij onlangs laten zien door het polyhedrine gen van het Mamestra brassicae kernpolyedervirus via heterologe recombinatie in te bouwen in het genoom van het Autographa californica kernpolyedervirus (21). De uitdaging ligt nu in het maken van andere nuttige recombinant virussen welke ingezet kunnen worden in de biologische bestrijding van plaaginsekten, waarbij het inbouwen van insektendodende toxines tot de mogelijkheden behoort. De toekomst zal leren in hoeverre wij hierin zullen slagen.

Hiermee is wat betreft de toepassingen van baculovirussen het verhaal nog lang niet af. Zoals ik al opmerkte kunnen deze virussen ook gebruikt worden als expressie-vector. Baculovirussen bezitten in hun DNA genoom namelijk een aantal zeer sterke promoters, waaronder die voor het polyhedrinegen. Dit is geen toeval want het polyhedrine, de bouwsteen van de z.g. kernpolyeders waarin de virusdeeltjes groepsgewijs worden ingepakt, moet laat in de infectiecyclus op zeer grote schaal aangemaakt worden. Om een indruk te geven: een insectorlarve kan wel eenderde van zijn lichaamsgewicht aan polyeders bevatten (enige honderden miljoenen polyeders per larve) en deze polyeders bestaan weer voor 95% uit dit ene eiwit. De promotor van het polyhedrinegen zorgt er dus voor dat dit gen zeer efficiënt tot expressie komt. Omdat inmiddels aangetoond is (22) dat baculovirussen, althans in insectorcelkweken en onder laboratoriumcondities, in staat zijn om zich ook zonder de aanmaak van het polyhedrine eiwit en de vorming van polyeders te vermenigvuldigen kan deze promotor geëxploiteerd worden voor de aanmaak van andere, economisch en wetenschappelijk interessante eiwitten. Hiertoe verwijderd men simpelweg de DNA volgorde die voor het

polyhedrine codeert en vervangt men dit stukje DNA door een ander gen ("your favourite gene"), dat daarmee onder de controle komt van de sterke polyhedrine promotor. Infectie met dergelijke recombinant baculovirussen kan in insectecellen leiden tot fantastisch grote hoeveelheden aan gewenst produkt. Bovendien worden de geproduceerde eiwitten geglycosyleerd en gefosforyleerd, hetgeen van belang kan zijn voor de biologische activiteit ervan. Wij hebben inmiddels laten zien dat met dit baculovirus-vectorsysteem een goede produktie is te verkrijgen van het enzym β -galactosidase (Escherichia coli). Momenteel zijn wij doende om ook het int eiwit van mouse mammary tumor virus (in samenwerking met het Nederlands Kanker Instituut), het rhodopsine, een lichtabsorberend pigment uit de retina van de koe (in samenwerking met het Laboratorium voor Biochemie in Nijmegen), en manteleiwit VP2 van poliovirus (t.b.v. vaccinbereiding; in samenwerking met TNO in Rijswijk) via het baculovirussysteem te produceren. Verder brengen wij, in samenwerking met het Animal Virus Research Institute in Pirbright (Engeland) en gesteund vanuit de derde geldstroom, de manteleiwit-coderende gebieden van het mond- en klauwzeervirus genoom in het baculovirus DNA om aldus een veilig vaccin tegen dit alom gevreesde virus te bereiden. Ook de resultaten van andere onderzoeksgroepen laten zien dat het baculovirussysteem momenteel tot de beste eukaryote vectorsystemen behoort en uit mijn betoog zal duidelijk zijn dat wij het toepassen van baculovirussen als genvectoren zo efficiënt mogelijk zullen uitbuiten, vooral daar waar het gaat om het oplossen van virologische vraagstukken. Zo zullen wij in staat moeten zijn om ook door plantevirussen gecodeerde eiwitten, die vaak in zeer minieme hoeveelheden in de geïnfecteerde plant te vinden zijn, grootschalig te produceren om vervolgens hun functies te kunnen bestuderen.

Hoewel wij in Wageningen mondiaal gezien een der eersten waren die baculovirussen als vectorsysteem wisten te exploiteren en hiermee nog steeds een unieke positie in Nederland bezitten, dreigen wij momenteel echter door gebrek aan menskracht internationaal achterop te raken. En dat is jammer. Ik vond het dan ook spijtig dat dit voorjaar een aanvraag voor een universitair docent, die het baculovirussysteem biotechnologisch krachtdadig ter hand zou kunnen nemen, tijdens het vacatureoverleg niet voldoende weerklank vond.

Wellicht dat, na het definitief vaststellen van de SKG-nota en de inmiddels uitgevoerde selectieve krimp in eigen huis, wij als vakgroep binnenkort alsnog op dit punt aan onze trekken kunnen komen.

Aan het einde van mijn rede gekomen hoop ik duidelijk gemaakt te hebben dat wij met de virologie een opwindende en boeiende tijd tegemoet gaan. Ik ben ervan overtuigd dat wij met de omschreven doelstellingen niet alleen meer zullen gaan begrijpen van het gedrag van virussen maar dat wij hiermee bovendien aanknopingspunten zullen vinden om selectief en verantwoord virusziekten in land- en tuinbouw te beheersen.

Tevens laat ons lopende onderzoek aan baculovirussen zien dat wij door het vergaren van de juiste gegevens virussen zodanig naar onze hand kunnen zetten dat zij een positieve bijdrage aan onze economie en volksgezondheid kunnen leveren. Vandaar de titel van mijn voordracht: *virus als vriend en vijand*.

Geachte leden van bestuursorganen, structuur- en benoemingsadviescommissies,

U allen ben ik zeer erkentelijk voor het in mij gestelde vertrouwen. Deze erkentelijkheid betreft met name de benoemingsadviescommissie, als deskundigen, en het College van Bestuur, dat uiteindelijk de beslissing nam. Ik zal mijn best doen dit vertrouwen niet te beschamen. Tevens spreek ik de verwachting uit dat u mij de middelen zult verschaffen die nodig zijn om de door mij geschetste ontwikkelingen te realiseren.

Zeer gewaardeerde leermeesters,

Het is mijn overtuiging dat voor menig vakgebied de biologiestudie een zeer goede vooropleiding is. Mijn ervaring is dat dit zeer zeker ook geldt voor de virologie. Ik ben er daarom nog steeds blij om dat ik toentertijd voor een degelijke biologiestudie in Utrecht gekozen heb. Daar is de basis gelegd voor mijn latere werk.

Hooggeleerde Van der Zeijst, beste Ben, jou wil ik met name bedanken voor de introductie in de moleculaire biologie zelfs voordat deze discipline bij naam bestond.

Zeergeleerde Borst, beste Piet, jij hebt mij tijdens mijn promotietijd in Amsterdam geleerd om wetenschappelijk zindelijk te denken. Tevens heb jij mij, met jezelf als voorbeeld, aardig geleerd wat aanpakken is en daar ben ik je nog steeds zeer dankbaar voor.

Hooggeleerde Van Kammen, beste Ab, uiteindelijk ben jij degene geweest die mij op het spoor van virussen heeft gezet. Het is

een groot voorrecht geweest om op jouw vakgroep te hebben mogen werken. Voor mij ben jij altijd het menselijke gezicht van de wetenschap geweest. Jij hebt de condities geboden die het voor mij mogelijk gemaakt hebben om mij tot echt zelfstandig onderzoeker en docent te ontwikkelen.

Dames en heren, leden van de vakgroep Virologie

Wij werken inmiddels zo'n dik half jaar samen en ik dacht te mogen concluderen dat wij in die nog korte periode al veel samen tot stand hebben gebracht hebben. Dit sterkt mij in de overtuiging dat wij het in de toekomst ook wel zullen klaren.

Dames en heren, leden van de andere Binnenhavenvakgroepen en van de Gecombineerde Diensten,

Samen zullen wij sterk zijn! Ik zie inderdaad grote mogelijkheden om de onderlinge banden en daarmee de sector Gewasbescherming nog sterker te maken. Het initiatief tot het nieuwe onderwijs-element "Biotechnologie in de Gewasbescherming", waarin alle Binnenhavenvakgroepen en ook twee DLO-instituten participeren, en ons initiatief om onder het thema "Plant-pathogene interacties" gezamenlijk als BION-werkgroep te opereren, zijn daar enige voorbeelden van.

Inmiddels heb ik mogen ervaren dat de bundeling van een aantal faciliteiten tot de Gecombineerde Diensten een gouden greep is geweest. Ik wil er toe bijdragen dat de formule van de Gecombineerde Diensten ook in de toekomst zo optimaal mogelijk zal functioneren.

Dames en heren, leden van de overige vakgroepen van de Landbouwniversiteit,

De mogelijkheden tot hechtere samenwerking met een aantal andere vakgroepen zijn groot te noemen. Zo biedt het onderzoek op de vakgroepen Plantenfysiologie, Moleculaire Biologie, Moleculaire Fysica, Theoretische teeltkunde en de sectie Proceskunde van de vakgroep Levensmiddelentechnologie goede aanknopingspunten voor creatieve samenwerking. Dit geldt voor wat betreft het resistentieonderzoek ook voor de vakgroep Plantenveredeling. Ik spreek de wens uit dat wij, daar waar ook maar enigszins mogelijk, zullen samenwerken en van elkaars kennis zullen profiteren.

Dames en heren, leden van DLO-instituten

Het is mijn streven om ook met een aantal instituten zeer nauw samen te werken. Voor wat betreft het IPO en de Stichting ITAL is deze samenwerking reeds gestructureerd door onze gezamenlijke aanpak om via genetische manipulatie virusresistente aardappelen te verkrijgen.

Dames en heren studenten

In feite gaat het allemaal om u. Hoewel ik vandaag vooral over onderzoek heb gepraat is de Landbouwniversiteit voor u primair een onderwijsinstelling. Zoals uit het voorafgaande moge blijken: inhoudelijk verantwoord onderwijs kan slechts enthousiast gegeven worden als het steunt op onderzoek dat aansluit bij de huidige nationale en internationale ontwikkelingen. Uw rol zowel

in het onderwijs als bij het onderzoek van de vakgroep acht ik zeer belangrijk. Ik hoop en vertrouw erop dat uw betrokkenheid ertoe zal bijdragen dat er een voortdurende vernieuwing en aanpassing van onderwijselementen zal plaatsvinden. Wij van de vakgroep Virologie zullen ons inspannen om u een stuk opleiding mee te geven waarmee u goede kansen zult hebben in de planten en animale virologie of in de biotechnologie.

Beste familie, vrienden en overige aanwezigen

Ik wil jullie bedanken voor jullie aanwezigheid en blijk van belangstelling. Ik hoop met mijn rede ook de niet-viroloog duidelijk gemaakt te hebben wat wij als virologen trachten na te streven.

Ik dank u allen voor uw aandacht.

LITERATUUR

1. Historische gegevens over het virologisch onderzoek in Wageningen zijn te vinden in *Gewasbescherming* 13 (4/5), 1982, met de tekst van voordrachten gehouden op het symposium getiteld 100 Jaar Virologie in Wageningen, april 1982.
2. R.W. Goldbach, 1986. Molecular evolution of plant RNA viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 24, 289-310.
3. R.W. Goldbach & A. van Kammen, 1985. Structure, replication and expression of the bipartite genome of cowpea mosaic virus. In: *Molecular Plant Virology*, Vol. II (J.W. Davies, ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 83-120.
4. *Vlugschrift voor de Landbouw*, nr. 405, 1986. Rhizomanie, een gevaarlijke ziekte van de suikerbiet. Ministerie van Landbouw en Visserij.
5. K.M. Smith, 1972. A textbook of plant virus diseases. Longman, London, pp. 684.
6. T.M.A. Wilson, 1984. Cotranslational disassembly of tobacco mosaic virus in vitro. *Virology*, 137, 255-265.
7. A. van Kammen, 1985. The replication of plant virus RNA. *Microbiological Sciences*, 2, 170-174.
8. Deze experimenten, uitgevoerd door R.J. Shepherd en medewerkers, werden besproken tijdens het Ciba Foundation Symposium no. 133, getiteld Plant Resistance to Viruses, London, april 1987.
9. D.A. Leonard & M. Zaitlin, 1982. A temperature-sensitive strain of tobacco mosaic virus defective in cell-to-cell movement generates an altered viral protein. *Virology*, 117, 416-424.

10. D. Zimmern & T. Hunter, 1983. Point mutation in the 30-K open reading frame of TMV implicated in temperature-sensitive assembly and local lesion spreading of mutant Ni2519, *EMBO J.*, 2, 1893-1900.
11. P. Powell Abel, R.S. Nelson, Barun De, N. Hoffman, S.G. Rogers, R.T. Fraley & R.N. Beachy, 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232, 738-743.
12. C.P.M. van Dun, J.F. Bol & L. van Vloten-Doting, 1987. Expression of alfalfa mosaic virus and tobacco rattle virus coat protein genes in transgenic tobacco plants. *Virology*, in press.
13. C.J. Woolston, S.N. Covey, J.R. Penswick & J.W. Davies, 1983. Aphid transmission and a polypeptide are specified by a defined region of the cauliflower mosaic virus genome. *Gene*, 23, 15-23.
14. D.A. Govier & B. Kassanis, 1974. A virus-induced component of plant sap needed when aphids acquire potato virus Y from purified preparations. *Virology*, 61, 420-426.
15. D.W. Thornbury, G.M. Hellman, R.E. Rhoads & T.P. Pirone, 1985. Purification and characterization of potyviral helper component. *Virology*, 144, 260-267.
16. R.E.F. Matthews, 1982. Classification and Nomenclature of Viruses. Fourth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology*, 17, 1-199.
17. M. Hollings & A.A. Brunt, 1981. Potyviruses. In: Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis (E. Kurstak, ed.), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, pp. 731-807.

18. F.N. Verkleij, 1982. Characterization of a defective form of tomato spotted wilt virus. Proefschrift Wageningen.
19. P.H. Smits, 1987. Nuclear polyhedrosis virus as biological control agent of Spodoptera exigua. Proefschrift Wageningen.
20. J. Tramper & J.M. Vlak, 1987. Bioreactor design for growth of shear-sensitive mammalian and insect cells. In: Advances in Biotechnological Processes (A. Misrahi & A.L. van Wezel, eds.). Alan R. Liss, Inc., New York, in press.
21. J. Roosien, M. Usmany, E.C. Klinge-Roode, P.H.S. Meijerink & J.M. Vlak, 1986. Heterologous recombination between baculoviruses. In: Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology (R.A. Samson, J.M. Vlak & D. Peters, eds.). Foundation of the Fourth International Colloquium of Invertebrate Pathology, Wageningen, The Netherlands, pp. 389-392.
22. G.E. Smith, M.J. Fraser and M.D. Summers, 1983. Molecular engineering of the Autographa californica nuclear polyhedrosis virus genome: deletion mutants within the polyhedrin gene. J. Virol., 46, 584-593.