

# Gewasbescherming met oog voor de toekomst: meer grip door genactiviteitsmetingen

## Introductie NSure

Peter Balk<sup>1</sup>, Theo Aanhane<sup>2</sup>, Frank Hoerberichts<sup>3</sup> & Nathalie Verhoef<sup>3</sup>

NSure is een spin-off van Wageningen University & Research. Sinds de oprichting door onderzoekers Monique van Wordragen en Peter Balk in 2006, is het bedrijf volledig geconcentreerd op het analyseren van de activiteit van genen ten behoeve van de agrosector. Door een lopend onderzoek raakten zij al snel overtuigd van de enorme praktische mogelijkheden van genactiviteitsmetingen. Samen met een aantal investeerders zijn zij NSure gestart. Nu, ruim tien jaar later, is het voordeel van deze metingen overduidelijk. Op dit moment bestaat NSure uit twaalf medewerkers en is het bedrijf wereldwijd actief.

NSure

<sup>1</sup> CTO

<sup>2</sup> CEO

<sup>3</sup> projectleider

## Achtergrond van de toegepaste technologie **Mogelijkheden**

Bijna iedere verandering in de omgeving, wordt door een plant opgemerkt. Effecten van die veranderingen zijn als eerste waarneembaar op het niveau van de genen. Niet de genen zelf veranderen, maar hun activiteit verandert. Een geactiveerd gen produceert (meer) specifieke RNA-moleculen. NSure meet de toe- en/of afname van deze RNA-moleculen. Lang voordat structurele veranderingen in de fysiologie van de plant waarneembaar zijn, is de activiteit van genen al veranderd. Met de huidige technologie is het mogelijk om de activiteit van alle aanwezige genen op ieder gewenst moment in kaart te brengen. Geen enkele verandering in genactiviteit ontsnapt aan deze analyse.

Nu verandert de activiteit van genen voortdurend, ook ten gevolge van de ontwikkeling van de plant. Het is de uitdaging van het team moleculair biologen van NSure, juist die genen te selecteren waarvan de activiteit gekoppeld is aan een specifieke gebeurtenis. Soms hebben opdrachtgevers van NSure voldoende aan de kennis betreffende die genen, maar NSure kan deze kennis ook inzetten om testen te ontwikkelen. Als het gaat om inzicht in de precieze werking van bijvoorbeeld een biostimulant, dan is het inzicht in het soort genen dat door het middel wordt beïnvloed vaak voldoende. Om dat inzicht te krijgen wordt het effect van het middel op alle genen onderzocht. Voor het optimaliseren van de toepassing van dezelfde biostimulant, kan routinematige screening worden toegepast. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een specifieke test waarbij de activiteit van een beperkt aantal relevante genen wordt gemeten. Testen die de activiteit van specifieke genen meten, worden ingezet om de teler te helpen bij belangrijke teeltbeslissingen. Eventueel in combinatie met andere parameters bepaalt de teler welk besluit er wordt genomen.

Maar wat zijn nu de mogelijkheden als het gaat om gewasbescherming? Die mogelijkheden zijn er, en ze zijn ruwweg onder te verdelen in twee categorieën.

In de ene categorie gaat het om vroegtijdige waarschuwing voor infecties. Planten staan continu bloot aan allerlei ziekteverwekkers. Hoe gaan ze daarmee om? Zijn ze gezond en voldoende weerbaar, dan trekken ze zich er niets van aan. Of zijn ze kwetsbaar en komen ze onder druk te staan? Vanaf het moment dat ziekteverwekkers stress in de plant veroorzaken, is het zaak om actie te ondernemen.

Met behulp van genactiviteitsmetingen kan worden aangetoond of een willekeurige plant stress ervaart. Lang voordat symptomen van infecties zichtbaar worden, laat de activiteit van specifieke genen al zien dat de plant reageert op ziektedruk. Met behulp van dit inzicht, kunnen biologische gewasbeschermingsmiddelen vroegtijdig, en dus effectiever, worden ingezet. Deze categorie middelen heeft immers over het algemeen een minder sterk curatief effect dan traditionele gewasbeschermingsmiddelen, en worden daarom vaak preventief ingezet.

*Een voorbeeld van deze benadering wordt beschreven in de case StoreNSure Peen. Hierbij gaat het om een test voor bewaarpeen, waarbij vroegtijdige herkenning van het risico op de ontwikkeling van zwarte vlekken belangrijk is voor de planning van de afzet van de partij.*

Bij de tweede categorie draait het om werkingsmechanismen en effectiviteit van gewasbeschermingsmiddelen. Genactiviteitsmetingen kunnen gebruikt worden om de precieze werking van een gewasbeschermingsmiddel inzichtelijk te maken. Ook kan aangetoond worden welk stadium van

### Biostimulant bevordert wondheling in tomaat

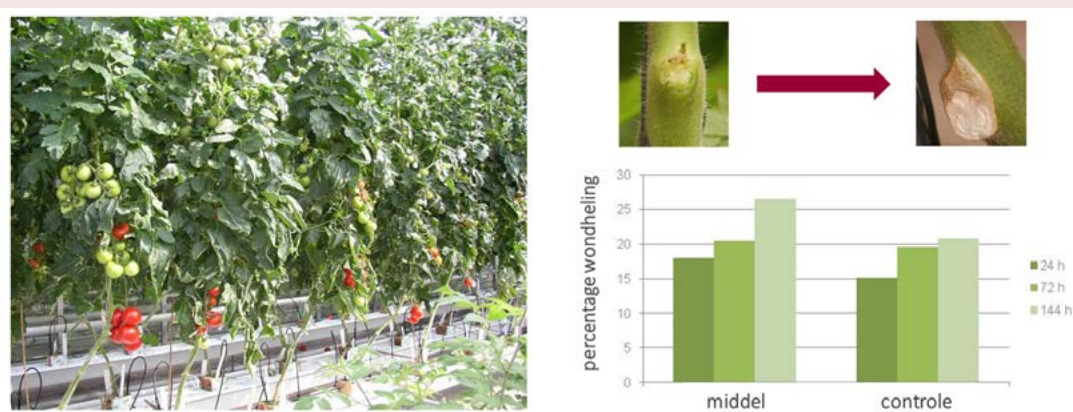
In de dagelijkse praktijk van de tomatenteelt, worden planten van overvloedige bladeren ontdaan. Ieder blad dat afgebroken wordt, veroorzaakt een wond en daarmee een potentiële ingang voor een ziekteverwekker. Hoe sneller de wond geneest, hoe kleiner de kans op infecties. Een klant van NSure, die een middel ter bevordering van wondheling aanbiedt, kwam met de vraag of deze claim ook onderbouwd zou kunnen worden. NSure heeft vervolgens onderzocht welke genen beïnvloed worden door het toegepaste middel.

Zes uur na behandeling van de tomatenplanten met het middel, is de activiteit van alle genen met behulp van Next Generation Sequencing in kaart gebracht. Vervolgens is het resultaat vergeleken met onbehandelde planten. Daarnaast zijn de planten gevolgd in de tijd en is de mate van wondheling vastgesteld.

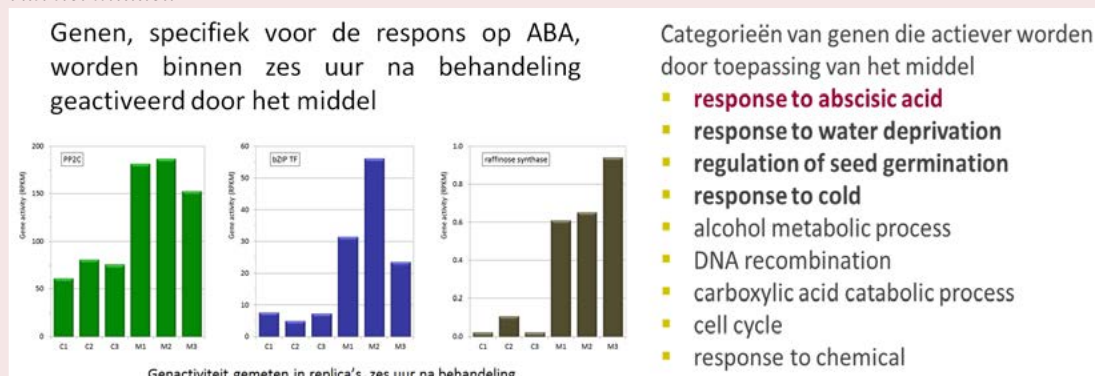
In dit experiment bleek het middel inderdaad een positief effect te hebben op wondheling (Figuur 1.).

Van de 20.000 actieve genen, bleken tenminste 300 genen significant beïnvloed te zijn door het toegepaste middel. Bij grofweg 10 procent van deze genen bleek de activiteit onderdrukt te worden als gevolg van de toepassing van het middel. De rest, 90 procent, werd juist actiever en produceerde dus meer RNA-moleculen.

Onderzoek naar de aard van deze genen leverde interessante gegevens op. NSure gebruikt voor dergelijke analyses haar omvangrijke eigen database en maakt aanvullend gebruik van openbare databases. Een opsomming van de categorieën genen die significant beïnvloed werden door het middel, is weergegeven in Figuur 2. Een flink aantal genen bleek betrokken bij de respons op abscisinezuur, een plantenhormoon dat een rol speelt bij verdediging tegen infecties door, onder meer, bevordering van wondheling. Aangezien duidelijk gemaakt kon worden dat het middel dit soort genen activeert, beschikt de klant over een goede verklaring voor het wondheling-bevorderende effect van zijn middel.



Figuur 1. Tomatenplanten die ontbladerd worden, vertonen snellere wondheling door toepassing van het middel.



Figuur 2. Verschillende soorten genen worden specifiek door het middel geactiveerd, waaronder genen betrokken bij de ABA-respons (PP2c, bZIP TF, raffinose synthase). Deze respons is onder meer belangrijk voor wondheling. C: controle, M: middel, 1-3: herhalingen; categorieën zijn gerangschikt op relevantie met betrekking tot de verwachte werking van het middel.

toepassing en welke formulering of dosering van het middel tot het optimale effect leidt. Genactiviteitsmetingen geven vaak ondubbelzinnig antwoord op deze vragen. Steeds meer bedrijven beseffen dat dit inzicht in de werkwijze van hun producten, noodzakelijk is om hun producten een plaats op de markt te laten veroveren.

De actuele status of conditie van de plant is vanzelfsprekend ook van invloed op de effectiviteit van een behandeling met gewasbeschermingsmiddelen. Middelen die niet effectief zijn, hebben geen toegevoegde waarde. Je kunt (of moet) je afvragen waarom ze niet effectief zijn. Misschien zijn ze niet op het juiste moment of in de juiste dosering toegepast. Genactiviteitsmetingen kunnen het inzicht vergroten in de gevoeligheid van de plant in relatie tot de effectiviteit van een middel.

*Een voorbeeld van deze invalshoek wordt beschreven in de case over een biostimulant die wondheling bevordert in tomaat. De analyse*

*van NSure levert inzicht in en bewijs van de werking. De duidelijkheid die dit oplevert, stelt de gebruiker in staat keuzes te maken uit het grote aanbod aan nieuwe, vaak alternatieve, gewasbeschermingsmiddelen.*

### Samenvattend

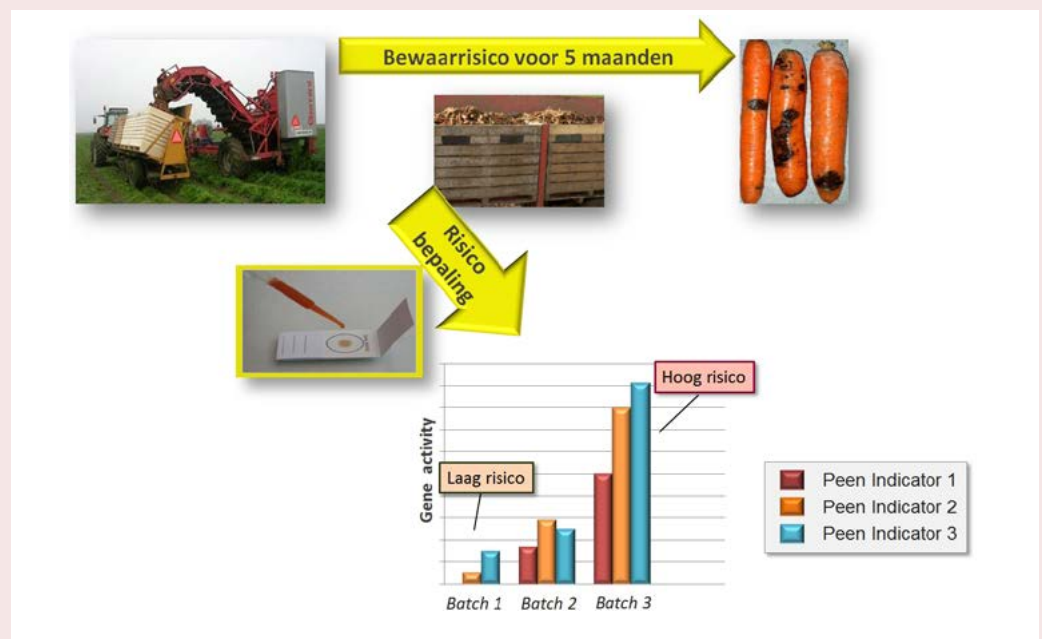
De door NSure toegepaste technologie kan bijdragen aan een wereld waarin het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen onder druk staat maar ook waarin voedselverspilling door bewaarziekten zoveel mogelijk moet worden tegen gegaan. Inzetten van gewasbeschermingsmiddelen is alleen nodig en nuttig als de middelen ook echt werken, dus als de conditie van de plant erom vraagt. Maar ook voor geoogst product waar op enig moment alleen maar de keuze is, 'nu verkopen' of 'nog langer bewaren' kunnen genactiviteitsmetingen beslissingen ondersteunen. Zo worden onvoorziene verliezen in de keten zoveel mogelijk tegen gegaan.

### StoreNSure Peen – Vroege waarschuwing is winst

Telers van bewaarpeen hebben regelmatig te maken met de gevolgen van aantastingen door verschillende schimmels. Deze veroorzaken zogenaamde zwarte vlekken, waardoor partijen extra gesorteerd moeten worden of zelfs onverkoopbaar worden. Dit leidt vanzelfsprekend tot grote verliezen.

NSure heeft, samen met Agrifirm en een aantal telers van bewaarpeen, een test ontwikkeld waarmee vroeg in de bewaring inzicht verkregen kan worden in het risico dat een partij loopt op het optreden van zwarte vlekken. Maanden voordat de zwarte vlekken zichtbaar worden, zijn in de peen al genen actief die betrokken zijn bij de weerstand

tegen de infectie. Naarmate dit soort genen actiever zijn, staat de desbetreffende partij peen meer onder druk (Figuur 3). Met de uitslag van de test is de teler beter in staat zijn bewaring en verkoop te plannen. Door vroegtijdig inzicht in het risico op bewaarziekten, worden verliezen verderop in de keten beperkt.



*Figuur 3. Op basis van een analyse van de activiteit van een set relevante genen vroeg in de bewaring, bepaalt NSure het risico op het ontstaan van zwarte vlekken veroorzaakt door tenminste vijf verschillende schimmels.*