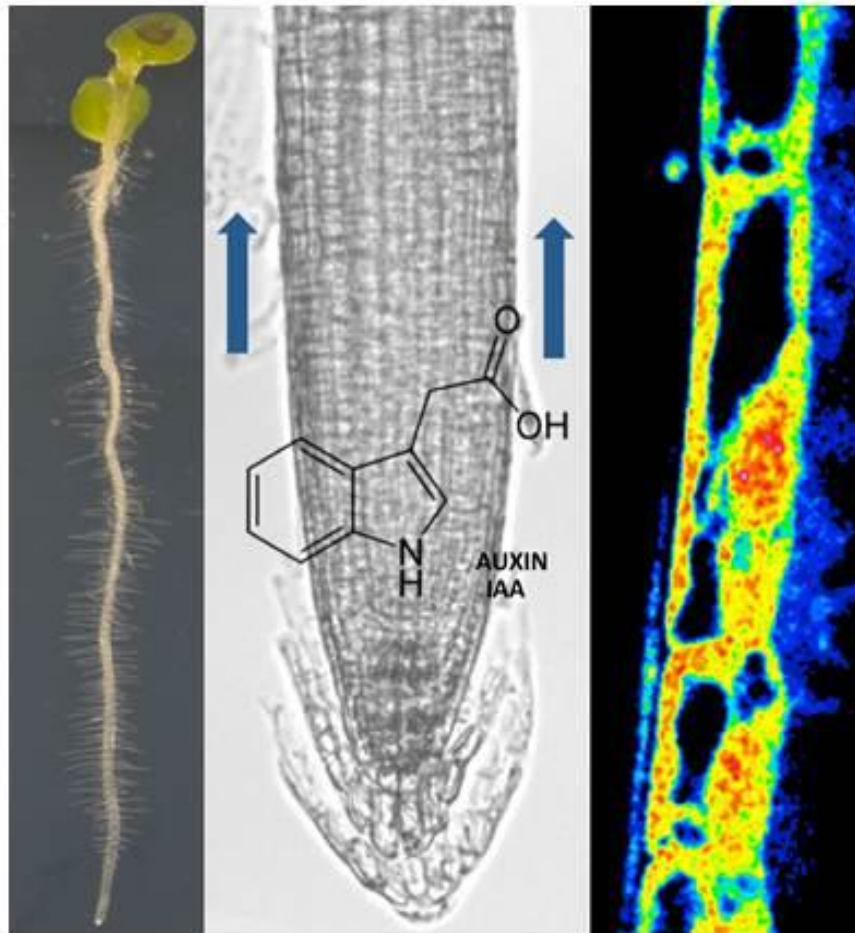


Plantengroei in een ruimtestation?

De rol van het plantenhormoon auxine



Désirée den Os d.den.os@pl.hanze.nl

Plantengroei in een ruimtestation

De rol van het plantenhormoon auxine

Désirée den Os – Docent plantenbiologie Hanzehogeschool Groningen
Institute for Life Science and Technology, Biologie en Medisch
Laboratoriumonderzoek

- Doelgroep:** Bovenbouw HAVO/VWO
Werkvorm: Inleiding, lesmateriaal testen/ practicum uitvoeren, nabespreking
Materiaal: Lesmateriaal
Sleutelwoorden: planten, signaaltransductie, wortelgroei, zwaartekracht, auxine, plantenhormoon

Voorkant

- Links:* Vijf dagen oude *Arabidopsis thaliana* plant gegroeid op agar
Midden: wortelpunt van *Arabidopsis thaliana* met wortelkap (die loskomt van de wortelpunt). In de wortelpunt liggen de columella cellen. Dat zijn cellen met amyloplasten die betrokken zijn bij de waarneming van de zwaartekracht. De amyloplasten zijn de zwarte bolletjes in de onderste lagen van de wortelpunt.
Rechts: Epidermiscellen in de strekkingszone van de wortel. In het cytoplasma van de cellen zit de calcium-indicator YellowCameleon 3.6. Rood betekent een hoge calciumconcentratie, blauw een lage. De calcium is verhoogd in deze cellen na een stimulatie met auxine.

© alle foto's van en/ of de experimenten uit deze handleiding en bijlages zijn gemaakt/ uitgevoerd/ ontwikkeld door Désirée den Os, tenzij anders vermeldt.

Voorwoord

Beste docenten en andere geïnteresseerden,

Voor de NIBI onderwijsconferentie in januari 2016, heb ik deze workshop ontwikkeld over de gravitropische response van plantenwortels. Ik hoop jullie interesse te wekken voor deze illustratieve plantenreactie waar veel aan te ontdekken en onderzoeken valt met leerlingen.

De verschillende experimenten kunnen los van elkaar uitgevoerd worden en al naar gelang uitgebreid, gecombineerd of veranderd worden.

Hoewel deze workshop gericht is op docenten van de bovenbouw van HAVO/VWO zitten er ook experimenten tussen die in de onderbouw of het VMBO gebruikt kunnen worden.

Hopelijk geeft deze handleiding jullie de nodige handvatten om samen met leerlingen experimenten met planten uit te voeren. Mocht je onverhoopt vragen hebben naar aanleiding van een experiment of de opzet, aarzel dan niet om mij te e-mailen. Maar voor nu hoop ik dat jullie met plezier aan deze workshop deelnemen.

Met vriendelijke groet,
Désirée den Os, d.den.os@pl.hanze.nl
Docent (planten)biologie Hanzehogeschool Groningen

Inhoudsopgave

Voorwoord	5
Inleiding	7
De gravitropische response van plantenwortels	
1. Waarnemen van zwaartekracht door de plant	8
Exp. 1. Waar neemt de plant zwaartekracht waar?	8
Groei van de wortel	10
Gravitropische response	10
Exp. 2. Verplaatsen de amyloplasten zich?	12
Exp. 3. Onder welke hoek van de wortel neemt de plant zwaartekracht waar?	13
Exp. 4. Hoe lang duurt het voordat de wortel zich aanpast aan de zwaartekracht?	14
2. Het doorgeven van het zwaartekrachtssignaal door de plant, signaaltransductie, voor groeiaanpassing	16
Planthormonen en auxine	16
Asymmetrische groei van de wortel, gravitropische response	17
Exp. 5. Welk deel van de wortel groeit (asymmetrisch)?	19
Hoe zorgt auxine voor de remming van de strekingsgroei van de epidermiscellen in de wortel?	
De rol van cytoplasmatisch calcium.	21
Exp. 6. De signaaltransductieketen van auxine naar de gravitropische response onderbreken	22
Terug naar het ruimtestation	24
Bijlage 1: Het opkweken van planten voor de experimenten	25
Ontkiemen van tuinkers op filterpapier in verticale Positie	25
Ontkiemen van tuinkers op een ontkiemingsplaat in verticale positie	26
Ontkiemen van sojaboon op vermiculiet	26
Referenties	27
Presentatie gegevens tijdens workshop	29

Inleiding

Planten vormen de basis van bijna al het leven op aarde. En hoewel we er vaak aan voorbij gaan, bezitten planten vele mechanismes om variabele omstandigheden te overleven. Want dat is wat planten doen, ze passen zich voortdurend aan aan veranderende omstandigheden. Ze zijn immers sessiel, dat wil zeggen, ze hebben een vaste standplaats, en dus moeten ze in staat zijn zich aan een voortdurend veranderende omgeving aan te passen. Behalve zwaartekracht zijn alle omstandigheden die planten op aarde kunnen tegen komen variabel!

De ruimtevaart realiseert zich maar al te goed dat planten als voedselbron essentieel zijn om voor langere termijn buiten de aarde te verblijven in een ruimtestation. ESA (European Space Agency) en NASA (National Aeronautic and Space Administration) hebben dan ook beide wetenschappelijke plantonderzoeksprogramma om op termijn zogenaamde *space gardens* te ontwikkelen. Een andere onverwachte eigenschap van het groeien van planten op een verafgelegen locatie zonder natuurlijk plantengroei, zoals een ruimtestation, maar ook onderzoeksstations op de zuidpool, is dat de aanwezigheid en het werken met van planten rustgevend werkt voor de betrokken onderzoekers.

Voordat het plantenonderzoek in een ruimtestation uitgevoerd kan worden, is het belangrijk om eerst goed te onderzoeken hoe de plantreactie op aarde plaatsvindt. Het onderzoek dat vandaag de dag uitgevoerd wordt in ISS borduurt voort op de kennis afkomstig van aards onderzoek gecombineerd met kennis verkregen in ruimteonderzoek. In deze workshop gaan jullie aan de slag met experimenten waarbij de gravitropische response (het naar beneden groeien) van de wortels nader onderzocht wordt. Hierbij zijn experimenten gericht op het **waarnemen (sensing)** van zwaartekracht door de plant, het **doorgeven (transductie)** van het signaal in de plant, en uiteindelijk het aanpassen van wortelgroei van de plant (**response**).

Waarom zijn plantenexperimenten in International Space Station (ISS) belangrijk? (video in engels):

http://www.esa.int/Our_Activities/Human_Spaceflight/Research/Plants

Planten groeien en eten in ISS (video in engels):

<http://news.wisc.edu/growing-plants-in-space/>

De gravitropische response van plantenwortels

1. Waarnemen van zwaartekracht door de plant

Aan het einde van de 19^e eeuw beschreven Darwin en zijn zoon de gravitropische response van wortels, dat toen nog geotropische response werd genoemd (*geo* van groei naar de aarde gericht)⁶. Een gravitropische response kan *positief* zijn, dat betekent groei richting de zwaartekracht, bijvoorbeeld wortelgroei. Of een response kan *negatief* gravitropisch zijn, bijvoorbeeld stengelgroei omhoog, van de zwaartekracht af (Fig. 1).



Fig 1. Tuinkers plant met positieve gravitropische response van de wortel, en negatieve gravitropische response van de stengel. Door de plant horizontaal te plaatsen en een dag te wachten, kan je de responsen duidelijk zien. De plant past zijn groei patronen aan.

Darwin onderzocht onder andere, **waar** de plant de zwaartekracht waarneemt. Hiervoor sneed hij kleine stukjes van de wortelpunt af om te kijken of de gravitropische response nog steeds plaats vond.

Experiment 1 Waar neemt de plant zwaartekracht waar?

Benodigheden

- Ontkiemde sojabonen met ongeveer 1,5 cm lange wortel
- Binoculair
- Nieuw scherp scheermesje
- Geplastificeerd karton met spelden omhoog er door heen geprikt
- Afgesloten bak met hoge luchtvochtigheid (bijv. door natte tissue op de bodem te leggen).

Uitvoering

- Leg de sojaboon voorzichtig onder de binoculair en zoem zo ver mogelijk in zodat je de punt goed ziet.
- Snij een klein puntje van de worteltip af, bijvoorbeeld 1 mm. Probeer het scheermesje zo vertikaal mogelijk door de wortelpunt te snijden.

- Prik de sojaboon voorzichtig maar stevig op de naald zo dat de wortel horizontaal ligt (Fig. 2).

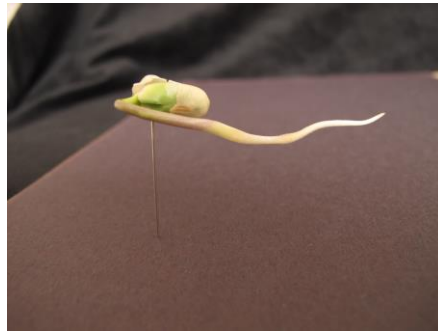


Fig. 2 Ontkiemde sojaboon op naald

- Herhaal de procedure met een volgende plant, maar snij daar bijv. 2 mm af
- Herhaal deze procedure totdat er 5 mm vanaf is gesneden.
- Zorg dat je de planten goed labelt zodat je later nog weet hoeveel er bij die plant vanaf gesneden is.
- Neem ook een controle plant mee waar je niets van afsnijdt.
- Laat de wortels net zo lang in de afgesloten bak met luchtvochtigheid staan totdat de wortelpunt van de controle plant weer vertikaal naar beneden groeit. Dit kan enkele uren tot een dag duren.

Let op

- Let er op dat je tijdens het snijden alle sojabonen vertikaal laat staan! Binnen enkele minuten wordt de gravitropische response ingezet, dat wil je voorkomen omdat dan je experiment niet meer klopt. Dus alleen de sojaboon die je aan het snijden bent horizontaal leggen.
- Schrijf het tijdstip op waarop je de sojabonen horizontaal plaats op de speld.
- Zorg er voor dat de planten tijdens het snijden en het groeien op de speld niet uitdrogen, houd het goed vochtig. Wortels hebben geen beschermende vetlaag.

Uitwerking

- Maak een foto van het eindresultaat. Een zwart papier achter de wortels helpt vaak om een duidelijke foto te krijgen. Een goede foto maken is vaak lastig, neem hier even de tijd voor.
- Maak een tabel waarin je aan geeft of de wortel een gravitropische response laat zien.

Tabel 1. Resultaten afgesneden wortelpunt

Afgesneden van wortelpunt	Gravitropische response
1 mm	Ja/ nee
<i>Etc.</i>	

- Wat kan je uit deze tabel concluderen? In welk deel van de wortel neemt de plant de zwaartekracht waar?
- Waar zie je het buigpunt in de wortel vanwaar de wortel naar beneden groeit?
- Vindt het waarnemen van de zwaartekracht door de plant en de reactie van de plant op de zwaartekracht plaats in dezelfde cellen? Wat kan je hieruit concluderen?

Groei van de wortel

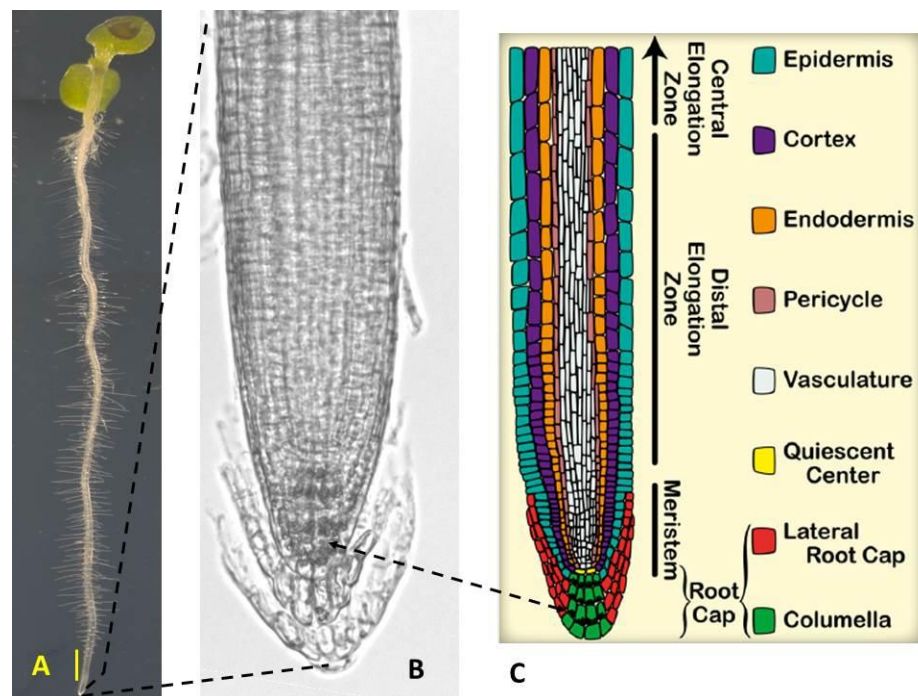
De wortelpunt is opgebouwd uit een aantal verschillende celtypes die in figuur 3C te zien zijn. De lengtegroei van de wortel start vanuit het *quiescent center*. Dit quiescent center bevat de 'stam' cellen van de wortelpunt en zorgt voor de aanmaak van nieuwe cellen. Deze nieuwe cellen beginnen met delen waardoor er weinig lengtegroei van de wortel plaatsvindt, maar wel nieuwe cellen aangemaakt worden. Dit gebied van de wortel wordt *meristeeem* genoemd. Geleidelijk aan ontwikkelen deze cellen zich en in de *distale elongatiezone (DEZ)* beginnen de cellen met strekken (elongatie). Het strekken van de cellen zorgt wèl voor de lengtegroei van de wortel, met name in de *centrale elongatiezone (CEZ)*. In de *proximale elongatiezone (PEZ)*, niet in Fig. 3C te zien) stopt de strekking van de cellen en beginnen zich wortelharen te ontwikkelen wat uiteindelijk de *differentiatiezone* vormt.

Gravitropische response

Voor de gravitropische response spelen de *columella* cellen met de *amyloplasten* een belangrijke rol. De columella cellen hebben een relatief open celstructuur met een kleine *vacuole*. De amyloplasten zijn zetmeelrijke korrels. In **experiment 1** hebben jullie geprobeerd om de columella cellen weg te snijden. Als deze eenmaal weggesneden zijn dan is de wortel niet meer in staat om de zwaartekracht waar te nemen en zal dus horizontaal blijven groeien. Dit betekent dat in deze cellen de zwaartekracht wordt waargenomen. Hoewel de waarneming in deze cellen plaats vindt, vindt de aanpassing van de wortelgroei verder van de wortelpunt plaats in de distale elongatie zone. Er gaat dus een

signaal van de columella cellen richting de bladeren. De *epidermiscellen* spelen hierbij een belangrijke rol, maar daar later meer over.

De open celstructuur in columella cellen en de knikkerronde amyloplasten zorgen ervoor dat de zwaartekracht om gezet kan worden in een *biochemisch* signaal. Maar hoe doen de amyloplasten dat? Net zoals kniekers in een bak naar de zijkant rollen als je de bak op de zijkant legt, zo verplaatsen de amyloplasten zich richting de zijkant van de cel en starten daar reacties. Wat er exact gebeurt is nog niet bekend, maar er wordt vermoed dat het drukken van de amyloplasten op de *celmembraan* drukgevoelige kanalen beïnvloedt waardoor de signaaloverdracht in gang gezet wordt.



Figuur 3. Overzicht van de bouw van de wortelpunt.

- A. *Arabidopsis thaliana* plant van 5 dagen oud. De wortel is ongeveer 100 μm dik. Bij de wortelpunt is de zone (in geel) aangeven waarin de strekkingsgroei plaats vindt.
- B. Foto ingezoomd op een *Arabidopsis thaliana* wortelpunt met hierom heen de wortelkap (die loskomt van de wortelpunt). In de wortelpunt liggen de columella cellen. Dat zijn cellen met amyloplasten die betrokken zijn bij de waarneming van de zwaartekracht. De amyloplasten zijn de zwarte bolletjes waar de pijl naar wijst.
- C. Overzicht van de verschillende celtypen in de wortelpunt. Belangrijk bij de gravitropische response zijn de columella cellen met de amyloplasten (groen) en de epidermiscellen (aquamarijn) in de distale elongatiezone (DEZ). Baldwin et al. 2013

Experiment 2 Verplaatsen de amyloplasten zich?

De amyloplasten zijn zetmeelrijke korrels. Van deze eigenschap kan gebruik gemaakt worden om ze beter zichtbaar te krijgen onder de microscoop. Immers zetmeel kan je kleuren met jood (bijvoorbeeld jodium op een wondje waar je vervolgens een tissue op legt. De tissue kleurt blauw omdat het zetmeel aangekleurd wordt).

Benodigdheden

- Enkele petrischalen met filter met hier op ontkiemde tuinkers van 1 dag oud (of liever nog planten met wortels die kleiner zijn, bijv. *Arabidopsis thaliana*, zandraket)
- Objectglaasjes
- Dekglaasjes 32mm x 18 mm
- Gesmolten was (= het beste) Pas op: heet!!, Alternatief nagellak
- Kwastje (geen synthetische haren) om de was aan te brengen
- Pincet met kleine punt
- Jodium/ Jood-Jood-Kali (JJK) oplossing/ kleuring
- Microscoop die op zijn rug gelegd kan worden zodat de plant vanaf de zijkant bekeken wordt. (Doe dit niet zelf vraag de TOA of docent om dit te doen!!). De objecttafel staat nu dus in een verticale positie. Zet de objecttafel vast zodat deze niet naar onder zakt. En werk heel voorzichtig met deze opstelling. Als de microscoop omvalt is deze hoogstwaarschijnlijk stuk.

Uitvoering

- Pak een objectglas en kijk of deze schoon is
- Breng een druppel water op het objectglas.
- Leg voorzichtig een plantje in de druppel water
- Dek het plantje af. Dit is lastig want het is eigenlijk te dik.
- Leg de bladeren niet onder het dekglas.
- Voeg een paar goede druppels JJK oplossing toe voordat alles dicht gekit wordt met de vloeibare was.
- Breng het preparaat zo snel mogelijk in positie (horizontaal). Schrijf het tijdstip op waarop je dit doet.
- Kijk of je de gekleurde amyloplasten in de wortelpunt kan vinden.
- Kijk ook of de de celwanden kan zien zodat je kan zien waar de amyloplasten zich in de cel bevinden.
- Schrijf ook het tijdstip op waarop de amyloplasten weer onder in de cel (is nu zijkant) liggen.
- Voer ook een controle experiment uit waarbij de wortel vertikaal gehouden wordt.
- Indien mogelijk, maak duidelijke foto's waarop de colummella cellen en de amyloplasten te zien zijn.

Uitwerking

- Geef in de foto of tekening de columella cellen en de amyloplasten aan.
- Kan je ook cellen van de wortelkap zien? Zo ja geef deze ook in je tekening aan.
- En epidermiscellen, zijn die te zien? Zo ja, geef ook deze aan.
- Hoe lang duurt het voordat de amyloplasten op de bodem liggen?
- Vind je dit een snelle of een langzame plantreactie?

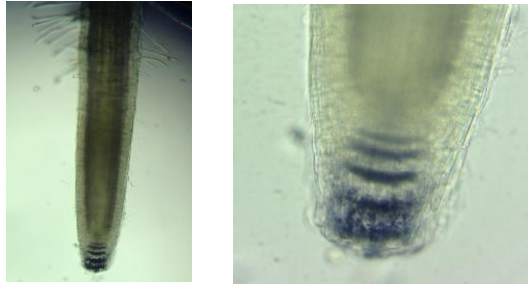


Fig. 4. Wortelpunt met JJK kleuring dat amyloplasten kleurt. De verschillende lagen columella cellen worden hierdoor zichtbaar.

Experiment 3 Onder welke hoek van de wortel neemt de plant zwaartekracht waar?

Het is ook interessant om te kijken onder welke wortelhoek de plant de zwaartekracht gaat waarnemen, dus wanneer gaan de amyloplasten zich verplaatsen. Want zal de plant zijn groei onder elke kleine hoek al gaan vertonen?

Benodigheden

- Enkele petrischalen met filter met hier op ontkiemde tuinkers van 1-1,5 dag oud
- Dunne watervaste stift

Uitvoering

- Trek met een dunne watervaste stift een verticale middellijn op de bodem van petrischaal, parallel aan de wortels.
- Trek een tweede middellijn, maar deze staat onder een hoek van 5° op de eerste middellijn.
- Plaats de petrischaal met de tweede middellijn exact vertikaal zodat de wortel onder een hoek komt te liggen, parallel met de eerste middellijn.
- Afhankelijk van de groeisnelheid van de plant kan al binnen een half uur een reactie waar genomen worden.
- Laat de plant 2-4 uur doorgroeien, eventueel 24 hr

- Om te bepalen onder welke hoek de plant de zwaartekracht gaat waarnemen, of eigenlijk wanneer gaat de plant zijn groei er op aanpassen, kunnen er hoeken gekozen worden waaronder de planten geplaatst worden tussen 0 en 90°.

Let op

- Zorg ervoor dat de planten altijd onder de juiste hoek vertikaal blijven staan.

Uitwerking

- Maak een tabel waarin je aan geeft of de wortel een gravitropische response laat zien wanneer deze onder een bepaalde hoek is geplaatst.

Tabel 2. Resultaten effect wortelhoek op gravitropische reactie

Hoek van wortelpunt	Gravitropische response
5°	Ja/ nee
10°	
<i>etc</i>	

- Wat kan je uit deze tabel concluderen? Onder welke hoek van de wortel past de plant de groei aan de richting van de zwaartekracht aan?
- Zal deze hoek voor alle planten gelijk zijn? Hoe kan je daar achter komen?
- Als je dit experiment in de ruimte herhaald, wat verwacht je dat er dan gebeurt met de hoek waaronder de plant de zwaartekracht waarneemt?

Experiment 4 Hoe lang duurt het voordat de wortelgroei zich aanpast aan de zwaartekracht?

Benodigheden

- Petrischalen met filter met hier op ontkiemde tuinkers van 1-1,5 dag oud
- Stopwatch en eventueel een camera
- Indien aanwezig, binoculair camera aan computer

Uitvoering

- Plaats de petrischaal zo dat de wortel onder een hoek van 90° komt te liggen.
- Doe om de 5 minuten een waarneming: zie je al afbuiging van de wortelpunt? Schrijf het tijdstip van de waarneming goed op.

Hiervoor kan je van te voren een tabel maken die je tijdens het experiment meteen invult.

- Als je de beschikking over een camera hebt waarmee (met de computer) time-lapse opnames gemaakt kunnen worden om de 5 minuten, dan hoef je er niet steeds bij te blijven.
- Als je foto's maakt en het toestel staat op een vaste plek dan kan je na het experiment de foto's achter elkaar plaatsen zodat het een filmpje wordt waarin de gravitropische response versneld bekeken kan worden.
- Volg de groei voor tenminste een uur totdat je een duidelijke response ziet.

Uitwerking

- Gebruik de waarnemingentabel, vanaf wanneer zie je dat de wortelpunt zich naar beneden gaat richten?
- Als je foto's hebt gemaakt, kan je ook de hoek van de wortelpunt in de tijd volgen. Dit kan je doen door de foto's uit te printen en met een liniaal de middellijn door de wortel te tekenen: voor het buigpunt en na het buigpunt

Tabel 3.

Tijdstip (min)	Gravitropische response	Hoek van wortelpunt
5	Ja/ nee	
10		
<i>etc.</i>		

- Wat kan je uit deze tabel concluderen? Hoe lang duurt het voordat de wortel de groei aan de veranderde zwaartekracht richting heeft aangepast?
- Hoe lang duurt het voordat de wortelpunt weer vertikaal groeit? Om deze vraag te beantwoorden moet je wel 4-6 uur meten.
- Als je dit experiment in de ruimte herhaald, wat verwacht je dat er dan gebeurt met de tijd die de plant nodig heeft om op de zwaartekracht te reageren?

2. Het doorgeven van het zwaartekrachtssignaal door de plant: signaaltransductie

Planthormonen & auxine

Planten bezitten een reeks aan hormonen, ook wel *fytohormonen* genoemd. De plantenhormonen auxine, cytokinine, gibberelline, abscisinezuur en ethyleen worden wel de klassieke *planthormonen* genoemd. Brassinosteroiden, salicylaten, strigolactonen en jasmonaten zijn pas veel recenter als plantenhormoon ontdekt. In deze workshop wordt gekeken naar het plantenhormoon auxine (IAA) (Fig. 5A) dat een

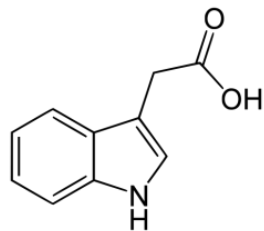
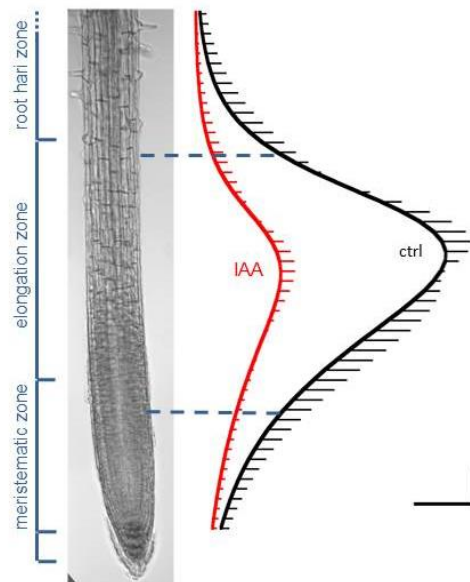


Fig 5.A. Structuur van het auxine molecuul: indolazijnzuur (IAA) dat een zwak zuur is.
B. De groeirespons is aangegeven in de grafiek rechts van de wortel. De gewone groei (ctrl) is gerem in de strekkingszone nadat IAA is toegevoegd.



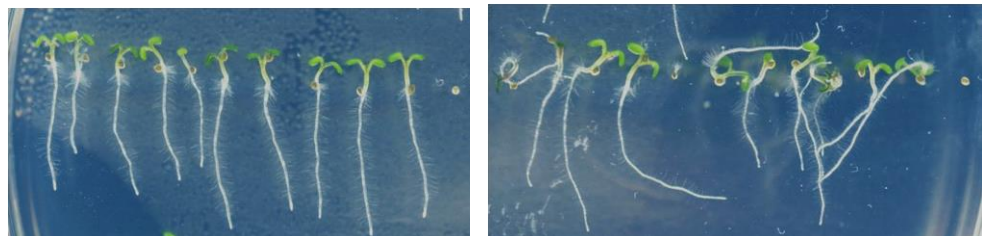
centrale rol speelt bij het doorgeven van het zwaartekrachtssignaal door de plant heen. Net als de andere plantenhormonen is auxine bij veel verschillende plantprocessen betrokken en is de werking afhankelijk waar in de plant auxine ophoopt of vrijkomt. Zo stimuleert auxine in de spruit het ontstaan van vertakking in het stengeluiteinde (spruit apicale meristeem, SAM) en voorkomt auxine dat er lager op de stengel vertakkingen ontstaan. Daarnaast is auxine betrokken bij het naar het licht toegroeien van de spruit. In de stengel zorgt auxine voor de ontwikkeling van het vaatstelsel. In de wortel stimuleert auxine in de gedifferentieerde zone de vorming van zijwortels. Echter **in de strekkingszone van de wortel remt auxine de strekkingsgroei** (Fig. 5B). Het is deze asymmetrische groeiremming dat de gravitropische response van de wortel veroorzaakt.

Asymmetrische groei van de wortel: gravitropische response

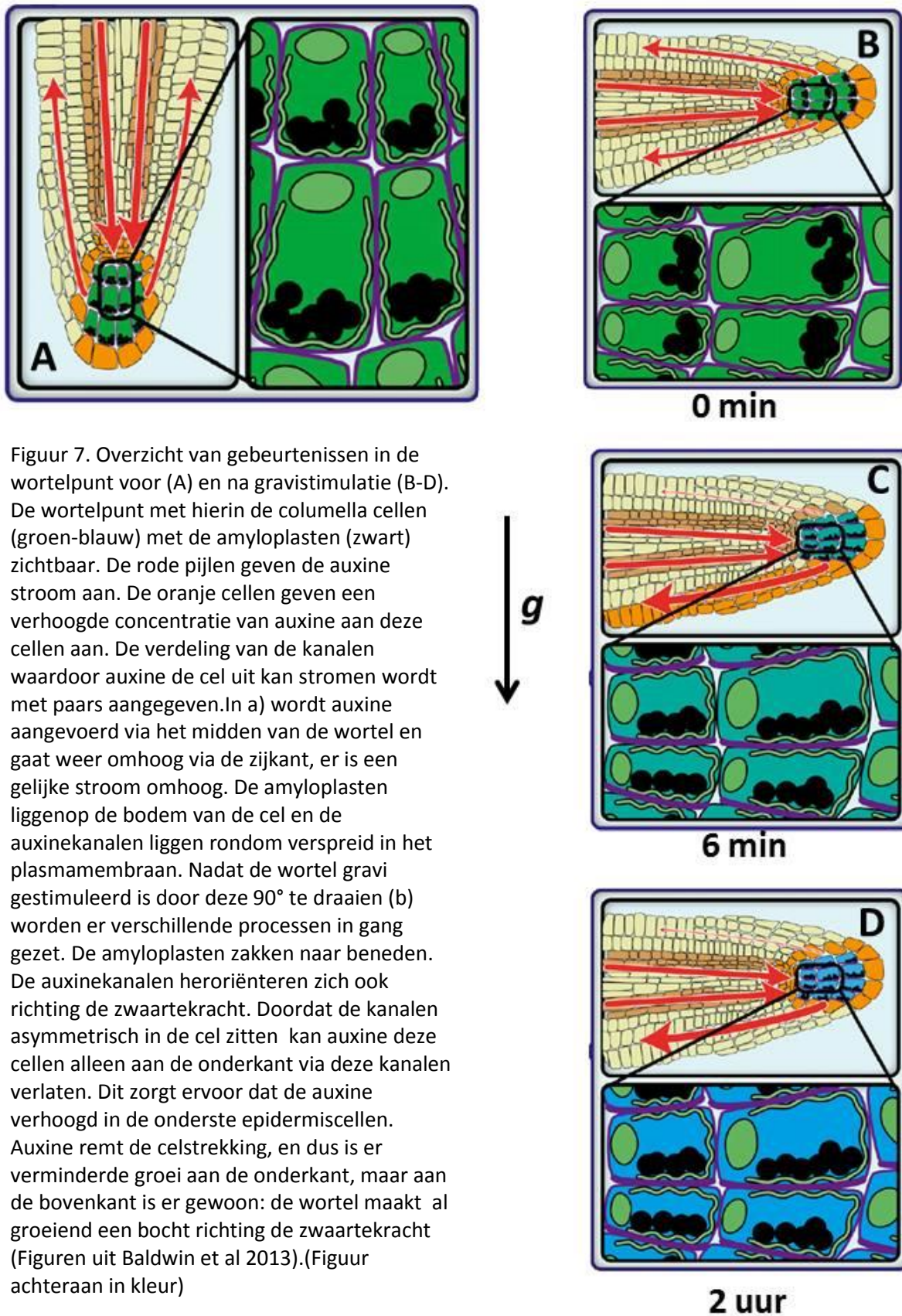
In wortels stroomt auxine in een zogenaamde omgekeerde fontein. Eerst omlaag door het midden van de wortel, dan door columella cellen in de wortelpunt naar de zijkant en vervolgens via de epidermiscellen weer omhoog (Fig. 7A). Beide kanten van de wortel krijgen dan evenveel auxine. In de columella cellen liggen de auxinekanalen rondom verspreid in de celmembraan zodat er evenveel auxine via de epidermis links en rechts (tenminste als je van voren naar de wortel kijkt) weer omhoog stroomt. Het effect van auxine op de strekkingsgroei is dus aan beide kanten even groot.

Nadat de wortel gravi-gestimuleerd is (op zijn zij gelegd) verplaatsen de amyloplasten zich in de eerste 1-2 minuten. Na een minuut of twee start de heroriëntatie van de auxinekanalen naar de 'nieuwe' onderkant van de cel (dus naar beneden gericht). Dit proces kan 1-2 uur doorgaan. Deze heroriëntatie van auxine uitstroomkanalen zorgt er voor dat de auxinestroom voornamelijk naar beneden is gericht (Fig. 7C). Met als gevolg dat de auxine concentratie verhoogt in de cellen aan de onderkant van de wortel. De auxinestroom is dan dus niet symmetrisch meer zoals voor de gravistimulatie (Fig. 7C).

Auxine remt de celstrekking van de epidermiscellen in de strekkingszone (Fig. 5B). Doordat er meer auxine aan de onderkant van de wortel stroomt dan aan de bovenkant wordt de strekkingsgroei aan de onderkant van de wortel geremd, maar aan de bovenkant van de wortel blijven de epidermiscellen groeien! Met als gevolg..... de wortel maakt al groeiend een bocht richting de zwaartekracht. Het is afhankelijk van de plantensoort en de omgeving waarin de wortel zich bevindt, maar een gravitropische response kan je soms al binnen een half uur zien!



Figuur 6. Wanneer een plant niet in staat is om auxine op te nemen in de cel, groeien de wortels alle kanten op. Hier zie je de wortelgroei van *Arabidopsis thaliana*. A. Wild-type (= normale) planten, B. Planten waarvan de cellen geen auxine kunnen opnemen. Bij deze plant groeien de wortels alle kanten op.



Figuur 7. Overzicht van gebeurtenissen in de wortelpunt voor (A) en na gravistimulatie (B-D). De wortelpunt met hierin de columella cellen (groen-blauw) met de amyloplasten (zwart) zichtbaar. De rode pijlen geven de auxine stroom aan. De oranje cellen geven een verhoogde concentratie van auxine aan deze cellen aan. De verdeling van de kanalen waardoor auxine de cel uit kan stromen wordt met paars aangegeven. In a) wordt auxine aangevoerd via het midden van de wortel en gaat weer omhoog via de zijkant, er is een gelijke stroom omhoog. De amyloplasten liggen op de bodem van de cel en de auxinekanalen liggen rondom verspreid in het plasmamembraan. Nadat de wortel gravit gestimuleerd is door deze 90° te draaien (b) worden er verschillende processen in gang gezet. De amyloplasten zakken naar beneden. De auxinekanalen heroriënteren zich ook richting de zwaartekracht. Doordat de kanalen asymmetrisch in de cel zitten kan auxine deze cellen alleen aan de onderkant via deze kanalen verlaten. Dit zorgt ervoor dat de auxine verhoogd in de onderste epidermiscellen. Auxine remt de celstrekking, en dus is er verminderde groei aan de onderkant, maar aan de bovenkant is er gewoon: de wortel maakt al groeiend een bocht richting de zwaartekracht (Figuren uit Baldwin et al 2013). (Figuur achteraan in kleur)

Experiment 5 Welk deel van de wortel groeit (asymmetrisch)?

Wanneer een wortel groeit zijn er ruwweg drie zones te onderscheiden. Beginnend bij de wortelpunt zijn dat: het meristeem waar de celdelingen plaatsvinden en waar weinig lengtegroei optreedt, de strekkingszone waar de lengtegroei plaatsvindt en de gedifferentieerde zone waar wortelharen ontstaan, maar geen lengtegroei meer optreedt (Fig. 5B). Deze verschillende zones kan je tijdens de groei volgen.

Benodigdheden

- Petrischalen met filter met hier op ontkiemde tuinkers van 1-1,5 dag oud (houdt deze steeds vertikaal)
- Kleine petrischaal \varnothing 5,5 cm met dun laagje 1% agar, bijv. 2 ml
- Binoculair
- HEMA soft eyeliner (zwart)
- Opstelling om het kleine petrischaaltje vertikaal vast te houden
- Binoculair camera aan computer of stevige camera-opstelling die goed macro-opnames kan maken
- pincet

Uitvoering

- Open de petrischaal met de tuinkers en probeer goed door te werken om uitdrogen van de plant te voorkomen.
- Teken heel voorzichtig markeringen aan beide zijanten van de wortelpunt van de tuinkers.
- Probeer hierbij helemaal bij de punt te zitten, maar ga ook door tot in de wortelhaarzone.
- Probeer de markering zo dun mogelijk te maken (Fig. 8).
- Als het filterpapier te nat is zal de eyeliner uitlopen. Markeer de wortel dus enigszins weg van de filter.
- Markeer verschillende wortels. De beste gemarkeerde wortel kan je voor dit experiment gebruiken.
- Breng de tuinkers in het midden van de kleine petrischaal, sluit deze en plaats deze vertikaal voor de camera.
- Maak de eerste opname. Zorg ervoor dat het hele gemarkeerde gebied goed in beeld is, maar *let op!*, zet de wortelpunt niet helemaal aan de onderkant van het beeld, dan zal deze snel uit beeld groeien! Zet de wortelpunt dus ongeveer in het midden zodat er ruimte is om de groei te volgen.
- De groei van de wortel kan je voor verschillende uren volgen, en als het geautomatiseerd is: zolang de wortel in je beeld blijft. Neem in elk geval elk kwartier een foto en schrijf de tijd nauwkeurig op. Het hangt er van af hoe snel je wortel groeit.

- Zorg ervoor dat je aan het einde ook een referentiefoto/ opname maakt van een nauwkeurige liniaal zodat je de lengte van de groei kan bepalen.



Fig. 8 Gemarkeerde wortelpunt

Uitwerking

- Bepaal op de referentiefoto wat de schaal is, dus bijv. op de computer bepaal je hoeveel pixels komen er overeen met 1 mm (op je gefotografeerde liniaal).
- Bepaal vervolgens op de eerste foto van het experiment hoe ver de verschillende markeringen van de wortelpunt af staan. Zorg ervoor dat je duidelijke punten kiest, bijvoorbeeld aan het begin of einde van een markering. Het is handig deze bijvoorbeeld een letter te geven, A, B, C etc. Splits links en rechts op.
- Bepaal op elke volgende foto de afstand van dit punt tot het beginpunt op de eerste foto en noteer het tijdstip erbij. Zet deze gegevens in een tabel. Zolang je het punt op de foto blijft herkennen is het voldoende om de afstand tot het beginpunt om de 60 minuten te meten.

Tabel 4. Resultaten groei-experiment

	Afstand tot wortelpunt (μm)		Afstand tot wortelpunt (μm)
Tijdstip (min)	<i>Punt A</i>	Groei in 60 min	<i>Punt B</i>
0		Groei eerste 60 min	
15			
30			
45			
60			
75		Groei tweede 60 min	
90			
105			
120			

- Maak een grafiek van deze resultaten. Zet hierbij de beginafstand tot de wortelpunt op de X-as en de groei in de eerste 60 minuten op de Y-as.
- Maak ook een grafiek van de groei in de tweede 60 minuten.
- Doe dit ook voor derde, vierde etc 60 minuten.

- Maak de X-as elke keer even lang zodat je de grafieken recht onder elkaar kan zetten.
- Neem een punt in het meristeem (vlakbij de wortelpunt). Hoe lang groeit dit punt tijdens het experiment?
- Neem een punt aan het begin van de strekkingszone (iets verder van de wortelpunt). Hoe lang groeit dit punt tijdens het experiment?
- Neem een punt aan het eind van de strekkingszone (dichter bij de wortelharen). Hoe lang groeit dit punt tijdens het experiment?
- Neem een punt in de gedifferentieerde zone (in de wortelharen). Hoe lang groeit dit punt tijdens het experiment?
- Waar vindt de meeste strekkingsgroei plaats en waar de minste?

Variatietip

- In plaats van naar de verticale groei (naar beneden gericht) te kijken, kan je ook kijken hoe de markeringen zich verplaatsen tijdens en gravitropische response. Bij nauwkeurige metingen zal je het verschil tussen de groei aan de bovenkant van de wortel en de onderkant van de wortel kunnen meten (zie ook vb in presentatie).

Hoe zorgt auxine voor de remming van de strekkingsgroei van de epidermiscellen in de wortel? De rol van cytoplasmatisch calcium.

Nadat auxine ophoopt in de epidermiscellen in de strekkingszone komt er *cytoplasmatisch calcium* vrij. Dit divalente cation is een bekende *second messenger* in de signaaloverdracht binnen de cel. Met geavanceerde apparatuur is deze calcium verhoging direct in de epidermiscellen te meten (zie rechterfiguur van de voorkant van deze handleiding). Nadat calcium verhoogd is volgen er verschillende tussenstappen voordat de cel uiteindelijk stopt met groeien. Eén tussenstap is de verandering in de *apoplasmatische pH*. Dit is de pH in de celwand, maar *buiten* de celmembraan. Bij de gravitropische response blijkt de strekkingszone te alkaliseren (de pH gaat omhoog). Deze alkalinisatie beïnvloedt de activiteit van *expansines*.

Expansines zijn enzymen die in de celwand zitten en in staat zijn om de celwand te verzwakken. Deze verzwakking van de celwand is noodzakelijk om de cel te laten groeien. Bij een lage pH worden de expansines actief, dus bij verzuring van de celwand. Zodra er dus een lage pH is verzwakken celwanden. Echter wanneer er een alkalinisatie plaats vindt, zoals bij de gravitropische response of auxine stopt de activiteit van deze enzymen, vindt er geen celwandverzwakking meer plaats en is de groei geremd.

Met deze laatste stap zijn we aanbeland aan het einde van de signaaltransductieketen naar een veranderde groeireactie van een wortel op een veranderde richting van de zwaartekracht.

Experiment 6 De signaaltransductieketen van auxine naar de gravitropische response onderbreken

In de signaaltransductieketen van zwaartekracht naar een gravitropische response, speelt cytoplasmatisch calcium een belangrijke rol. Door het calcium weg te vangen, of juist toe te voegen kan gekeken worden hoe de gravitropische response beïnvloed wordt. Er zijn veel variaties mogelijk in dit experiment.

Benodigheden

- Petrischalen met filter met hier op ontkiemde tuinkers van 1-1,5 dag oud (houdt deze steeds vertikaal)
- Petrischaal met vochtig filter
- Binoculair
- 1mm x 1mm 2% agarblokjes met 50 mM EDTA (vangt calcium weg)
 - Pipet
 - 2,2% gesmolten agar
 - 1,5 ml epjes
 - objectglas
 - scheermesje
- 1mm x 1mm 2% agarblokjes met 10 mM CaCl₂ (extra calcium)
- 1mm x 1mm 2% agarblokjes ter controle
- Kleine stukjes bakpapier van 2mm x 2mm
- Pincet

Uitvoering -maken van de agarblokjes

- Pipetteer 100 µl 500 mM EDTA of 100 mM CaCl₂ of water in een 1,5 ml epje
- Voeg hier 900 µl 2,2% gesmolten agar aan toe
- Meng even goed, maar voorzichtig met de pipet
- Maak een kussentje van deze agar op een gelabeld objectglas en laat stollen. Gebruik voor elke stof een nieuw objectglas
- Door het scheermes vertikaal in de agar te drukken, kunnen er agarblokjes gesneden worden.

Uitvoering

- Breng enkele planten over op de lege petrischaal met filter:
- ter controle van de gravitropische response plaats een plant horizontaal op de petrischaal
- Ter controle van het gebruik van agarblokjes plaats een ander plant horizontaal op de petrischaal en plaats een agarblokje met niets anders erin dan agar op de rand van een klein stukje bakpapier en schuif het agarblokje voorzichtig tegen de strekkingszone van de wortelpunt. Zorg ervoor dat de wortel horizontaal blijft.

- plaats een agarblokje met EDTA op de rand van een klein stukje bakpapier en schuif het agarblokje voorzichtig tegen de wortelpunt van een horizontaal geplaatste wortel.
- plaats een agarblokje met CaCl_2 op de rand van een klein stukje bakpapier en schuif het agarblokje voorzichtig tegen de tegen de rechterkant van de strekkingszone van de wortelpunt van een vertikaal geplaatste wortel (linkshandigen kunnen het links plaatsen).
- Neem een foto van de uitgangsposities van de wortels.
- Laat de wortels voor één tot enkele uren groeien.
- Neem ook weer een van de eindposities van de wortels.



Fig. 9. Opzet signaaltransductie experiment met verschillende blokjes agar, met verschillende componenten erin. A. start van het experiment. B. Resultaat van CaCl_2 op de richting van de wortelgroei

Uitwerking

- Wat verwacht je dat er gebeurt met de wortel die geen agarblokje heeft maar wel horizontaal geplaatst is? Leg uit waarom je dit verwacht. Gebruik hiervoor de informatie in deze handleiding.
- Wat verwacht je dat er gebeurt met de wortel die een agarblokje heeft maar wel horizontaal geplaatst is? Leg uit waarom je dit verwacht. Gebruik hiervoor de informatie in deze handleiding.
- Wat verwacht je dat er gebeurt met de wortel die een agarblokje heeft dat EDTA bevat. EDTA is een stof dat calcium weg vangt waardoor het niet meer in de signaaltransductie route gebruikt kan worden. Zal hier een gravitropische response gaan plaats vinden? Leg uit waarom je dit verwacht. Gebruik hiervoor de informatie in deze handleiding.

- Wat verwacht je dat er gebeurt met de wortel die een agarblokje heeft dat CaCl_2 bevat. CaCl_2 is nodig in de signaaltransductie tot groeiremming. Extra CaCl_2 kan de signaaltransductie halverwege opstarten wat groeiremming tot gevolg hebben. Welke kan denk je dat de wortel op gaat groeien? Leg uit waarom je dit verwacht. Gebruik hiervoor de informatie in deze handleiding.
- Maak een tabel met de bovenstaande verwachtingen in de linkerkolom. Maak aan de rechterkant een resultatenkolom met de resultaten na 6 hr.
- Beantwoord aan het einde: komen je verwachtingen overeen met je resultaten? Waarom wel of waarom niet?

Terug naar het ruimtestation

In deze handleiding is de keten aan reacties en processen behandeld die betrokken zijn bij de gravitropische response van plantenwortels. Hoewel het hier weergegeven is al een keten, dus van de ene stap naar de andere, zijn er meer processen die van invloed zijn op deze groei. Zo heeft het plantenhormoon ethyleen dat gasvormig is en door rijpende bananen geproduceerd wordt, een vermindering van de auxine response als resultaat. Het aanpassen van de wortelgroei aan een veranderde zwaartekrachtrichting wordt daar dus door beïnvloed. Bij het groeien van planten in een afgesloten ruimte (ruimtestation) moet daar dus rekening mee gehouden worden. Als het volgen van de wortelgroei (exp. 5) goede resultaten oplevert, dan kan geëxperimenteerd worden met het beïnvloeden van deze reactie, bijvoorbeeld door de wortel bloot te stellen aan ethyleen (uit rijpende bananen of tomaten) en dan te kijken hoe en waar de groei beïnvloed wordt. Maar ook andere stoffen kunnen gezocht worden.

Daarnaast is licht ook een belangrijke factor in groeireacties van de plant. Niet alleen groeit de stengel richting het licht, de wortelgroei naar beneden lijkt ook beïnvloed te worden door licht.

Experimenten in de ruimte als ook op aarde verzamelen steeds meer bewijs dat er naast het zwaartekrachtrichting waarnemingssysteem met de amyloplasten in de columella cellen ook nog een tweede waarnemingssysteem in de plant zit. Dat zou met het *cytoskelet* in de cel te maken hebben en is niet specifiek in de wortelpunt gelocaliseerd. Er is nog veel onduidelijk over, maar het is een interessante ontwikkeling.

Bijlage 1: Het opkweken van planten voor de experimenten

Ontkiemen van tuinkers op filterpapier in verticale positie

Benodigheden

- Tuinkerszaden
- Ronde petrischaal \varnothing 9 cm
- Filterpapier \varnothing 9 cm
- Pipetje
- Water
- Reepje parafilm

Uitvoering

- Breng het filterpapier in de petrischaal
- Bevochtig het papier tot het nat is, maar niet kleddernat.
- Leg één voor één de tuinkerszaden op het papier met de radicle naar beneden (Fig. 10)
- Sluit de schaal en sluit deze luchtdicht af door er een laagje parafilm omheen te trekken. Maak echter aan elke zijkant een sneedje in het parafilm voor enigszins gasuitwisseling
- Plaats de petrischaal vertikaal, waarbij de bodem onder 5° tegen iets aanleunt. Let op dat de schaal niet weg rolt! Dus verankeren met stokje oid. Groeiopstellingen kunnen gemakkelijk in elkaar gezet worden met bijvoorbeeld een piepschuimdeksel en wat cocktailprikkers
- Na 24-36 uur heb je wortels waarmee je experimenten kan gaan uitvoeren (Fig. 10).

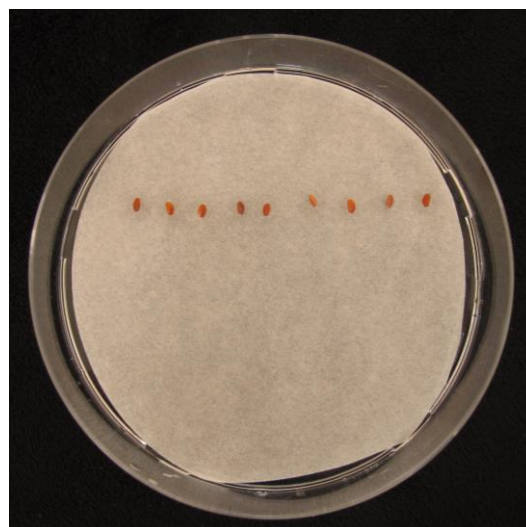


Fig. 10. Tuinkerszaden op petrischaal met filter

Ontkiemen van tuinkers op een ontkiemingsplaat in verticale positie

Benodigheden

- Tuinkerszaden
- Steriele ronde petrischaal \varnothing 9 cm met steriel ontkiemingsmedium
- Filterpapier \varnothing 9 cm
- Pipetje
- Steriel water
- Reepje parafilm

Samenstelling ontkiemingsmedium

- 412,5 mg/l ammoniumnitraat
- 83,0 mg/l watervrij calciumchloride
- 45,2 mg/l magnesiumsulfaat
- 475 mg/l kaliumnitraat
- 42,5 mg/l kaliummonofosfaat
- 1% sucrose
- Stel de pH op 5,8 voor de agar toe te voegen
- 1% agar

Uitvoering

- Breng het filterpapier in de petrischaal met ontkiemingsmedium.
- Breng een beetje steriel water op.
- Vanaf nu wordt er niet meer steriel gewerkt, maar hoe schoner je werkt, hoe beter je experiment zal verlopen.
- Volg de stappen die onder "Ontkiemen van tuinkers op filterpapier" staan gegeven vanaf stap 2.

Ontkiemen van sojaboon op vermiculiet

Benodigheden

- Sojabonen
- 100 ml bekersglas gevuld met vermiculiet
- parafilm om het bekersglas af te dekken

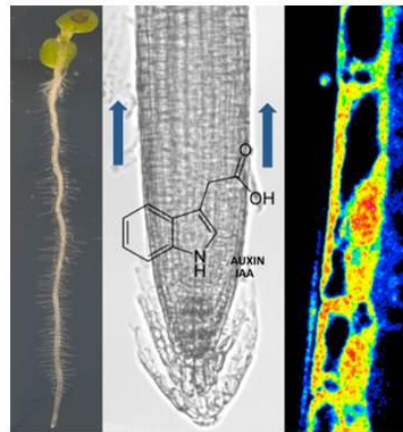
Uitvoering

- vul het beker glas tot de rand met vermiculiet
- verzadig het vermiculiet met water
- druk de sojaboon voorzichtig in de vermiculiet
- Dek het bekersglas af met parafilm, maar zorg voor een opening waar de spruit van de plant door kan groeien

Referentias

1. A Researcher's Guide to: International Space Station – Plant Science – NASA – NP-2015-03-11-014-JSC
2. Toyota, M., Gilroy, S., 2013. Gravitropism and mechanical signaling in plants. *American Journal of Botany* 100 (1): 111-125
3. Baldwin, K.L., Strohm, A. K., Masson P. K., 2013. Gravity sensing and signal transduction in vascular plant primary roots. *American Journal of Botany* 100 (1): 126-142
4. Evans, M.L., Moore, R., Hasenstein, K.H., 1986. How roots respond to gravity. *Scientific American*, 112-119
5. Jung, J.K.H, McCouch, S, 2013. Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science* Vol. 4, Article 186: 1-32
6. Darwin, C., 1880. The power of movement in plants. 523-545

Slides van de presentatie bij de workshop



Plantengroei in een ruimtestation?

De rol van auxine

share your talent.
move the world.

Désirée den Os, d.den.os@pl.hanze.nl

Alexandra Alves

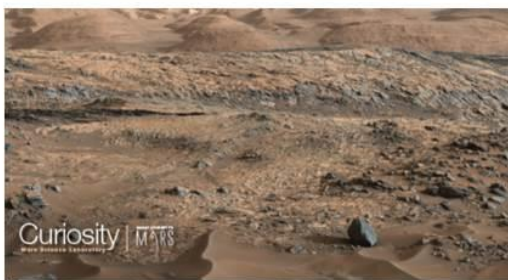
Plantengroei in een ruimtestation?

European Modular Cultivation System (EMCS)

European Columbus Laboratory



- Voedselbron
- Omzetting CO₂ naar O₂
- Gevoel van rust, tevredenheid
- Biobrandstof
- Medicijnen



share your talent. move the world.

Wat is er bereikt met het plantenonderzoek in de ruimte?

Effect van microgravity (< 1g, aarde = 1g)

- verandering van genexpressie
- verandering van weefselvorming
- Verandering cytoskelet
- Verandering weerstand tegen microben: gevoeliger
- Dikkere ongeroerde lagen rondom plant: gasuitwisseling en waterverdamping verlaagd, gevolg oa minder nutriëntopname door wortels

Effect extreme omstandigheden

- Extreme hitte, extreme kou
- Hoge UV straling
- Hypoxia (high oxygen radicals)



NASA

Cosmonaut Gregory B. Burchett harvests radishes from the Lada Plant Chamber (June 22, 2009)

Welke onderwerpen zijn interessant om te onderzoeken? – Deze workshop

Topic Area	Potential Research Questions Suitable for ISS Investigations
Gravity Sensing	<ul style="list-style-type: none"> • What are the primary gravity receptors in leaf, stem and root tissue? • What are intermediate signals at transcriptional, biomolecular and physiological levels? • What interactions with thigmotropic, phototropic and hydrotropic stimuli occur, and how are they differentiated?
Plant Physiology	<ul style="list-style-type: none"> • How do light and gravity responses interact? • Does the spaceflight environment induce stresses (μ-gravity, elevated CO₂, diffusion limited chemical exchange, root zone hypoxia, etc.), and what are primary signals and hormonal changes affecting development? • What are the effects of spaceflight environments on primary physiology: photosynthesis, respiration, transpiration, nutrition, and secondary metabolism? • How do the interactions of multiple environmental stimuli affect productivity and bioavailability of bioactive products? • How does the gravity effect on structural carbohydrates manifest itself over multiple generations? • Does microgravity affect genetic stability?
Plant/Microbe Interactions	<ul style="list-style-type: none"> • What aspects of the spaceflight environment regulate resistant and/or susceptibility to plant pathogen infection? • Is the gravity effect on virulence universal or species/strain specific? • How does the spaceflight environment affect the development of beneficial plant/microbe associations?
Life Support Systems	<ul style="list-style-type: none"> • How can horticultural approaches to sustained production of edible crops be implemented? • What are the effects of environmental stresses (lighting, CO₂, root zone moisture, O₂, trace gases) on productivity? • Are models of crop productivity developed in terrestrial conditions valid in spaceflight environments? • How do plants and microbes interact with physical and chemical life support systems?

Table 1. Partial listing of research questions.

NASA

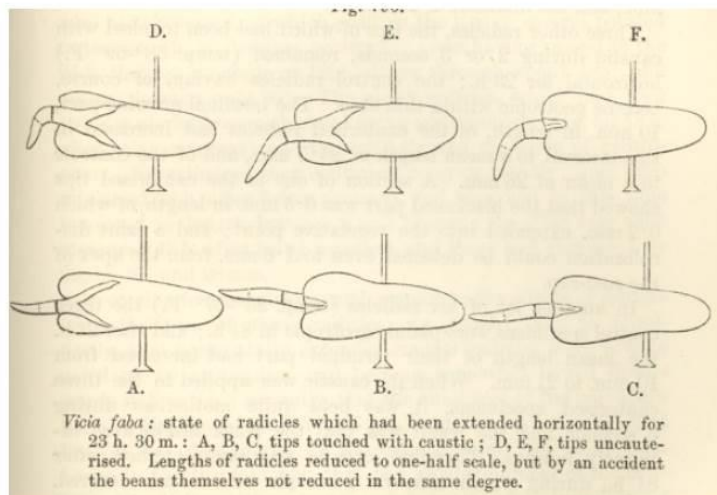
De gravitropische response van planten

Negatieve gravitropische response

Positieve gravitropische response



1. Waarnemen van de zwaartekracht

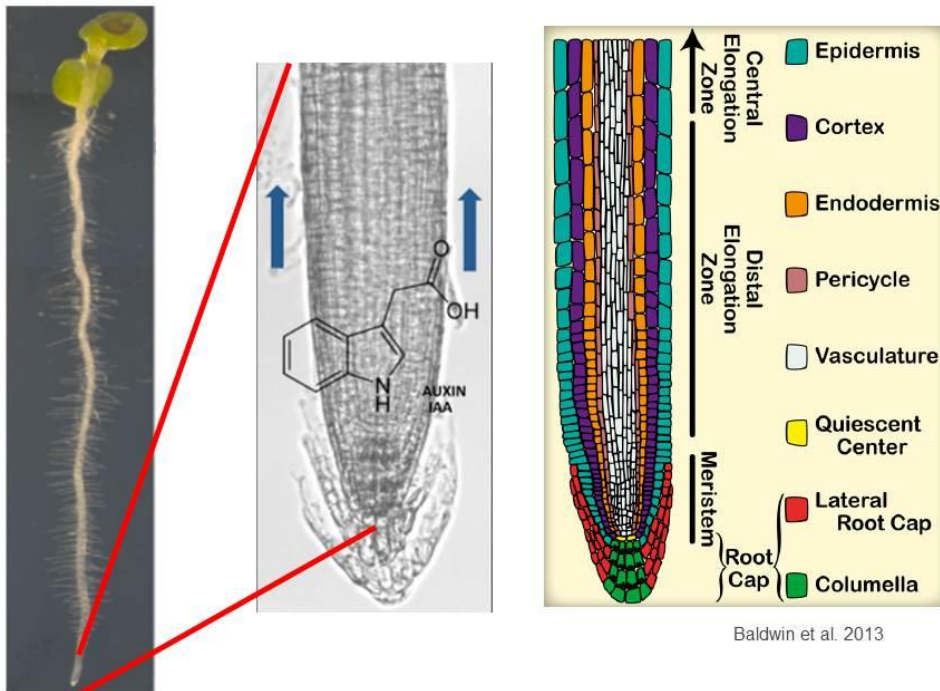


Darwin & Darwin, 1880

Darwin sneedt dunne plakjes van de wortelpunt om te testen waar de plant zwaartekracht waarneemt.

Experiment 1

Bouw van een wortel- wortelpunt



Experiment: Groeisnelheid van een wortel

The experimental setup includes a microscope, a computer monitor displaying a root image, and a root segment being measured. The root segment is marked with five points (1-5) at the beginning of the experiment. The distance between these points is measured at the end of the experiment to determine the growth rate.

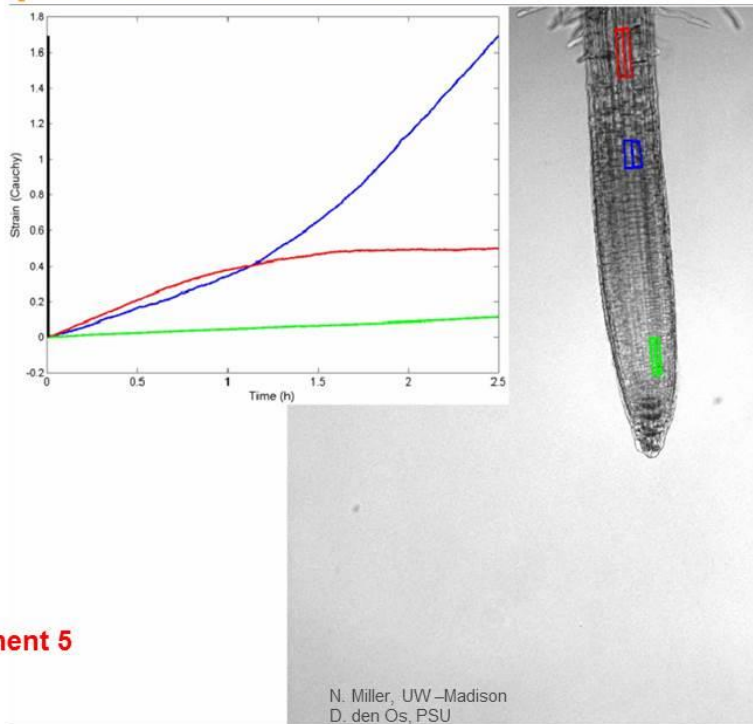
BEGIN EXPERIMENT **EINDE EXPERIMENT**

VERSCHIL EINDE-BEGIN = GROEI VAN BETREFFENDE GEBIED

Verschillende wortelzones, groeien verschillend, afhankelijk van in welk ontwikkelingsstadium ze zich bevinden.

Experiment 5

Experiment: Groeisnelheid van een wortel



Experiment 5

Verstoorde zwaartekracht response

Normale *Arabidopsis thaliana* (zandraket) zaailingen gegroeid op een vertikaal staande agar plaat (ong. 4 dagen oud)

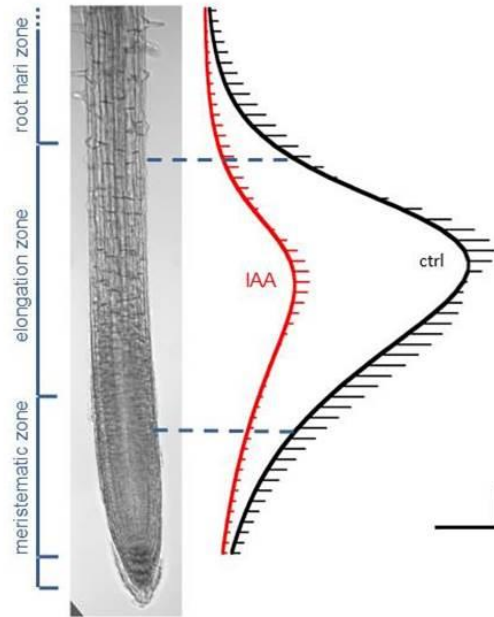


Arabidopsis thaliana mutant waarvan de cellen geen auxine kunnen opnemen. De wortels groeien alle kanten op omdat het zwaartekracht signaal niet (goed) wordt doorgegeven. Planten gegroeid op een vertikaal staande agar plaat

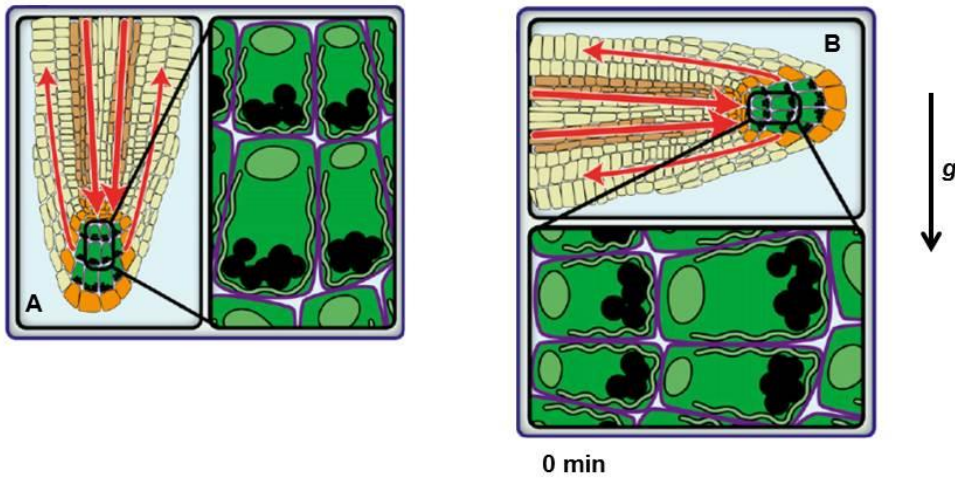


Auxine speelt een centrale rol bij de zwaartekracht response van plantenwortels

Auxine remt de strekkingsgroei

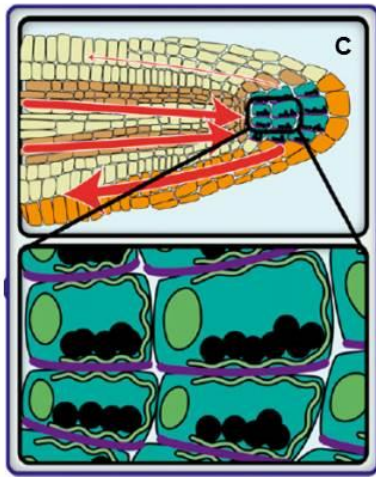


share your talent. move the world.

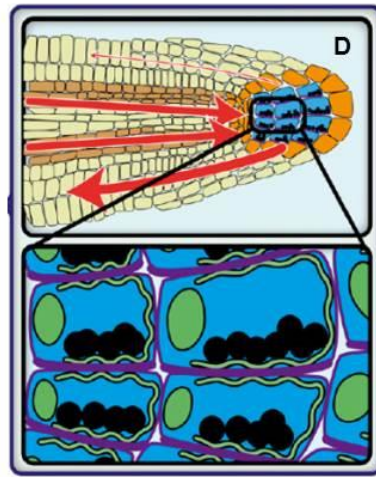


Baldwin et al. 2013

share your talent. move the world.

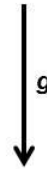


6 min



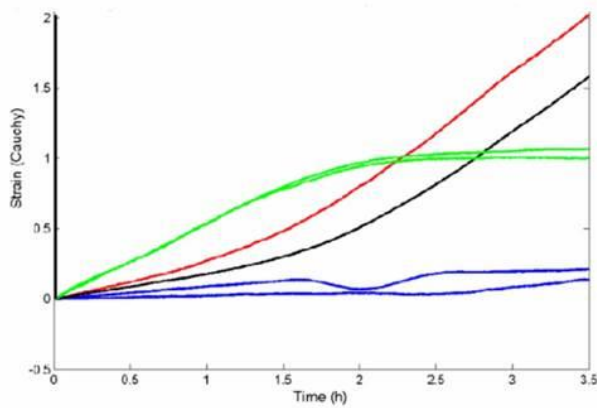
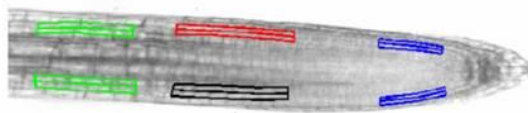
2 uur

Baldwin et al. 2013



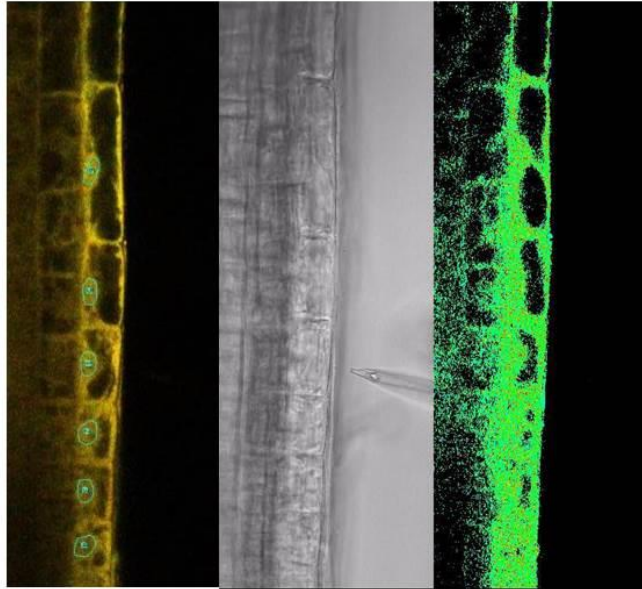
share your talent. move the world.

Experiment: Gravitropische response



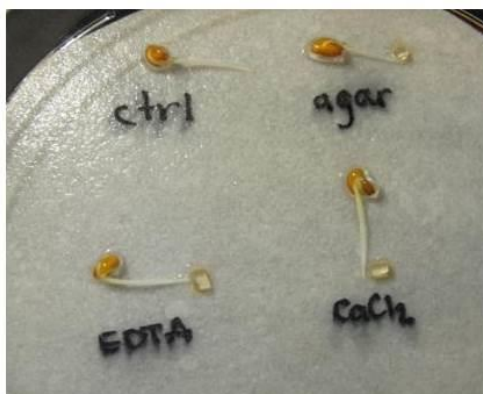
N. Miller, UW-Madison
G. Monshausen, PSU

Signaaltransductie van auxine met Ca^{2+} als second messenger



Experiment 6

Signaaltransductie van auxine met Ca^{2+} als second messenger



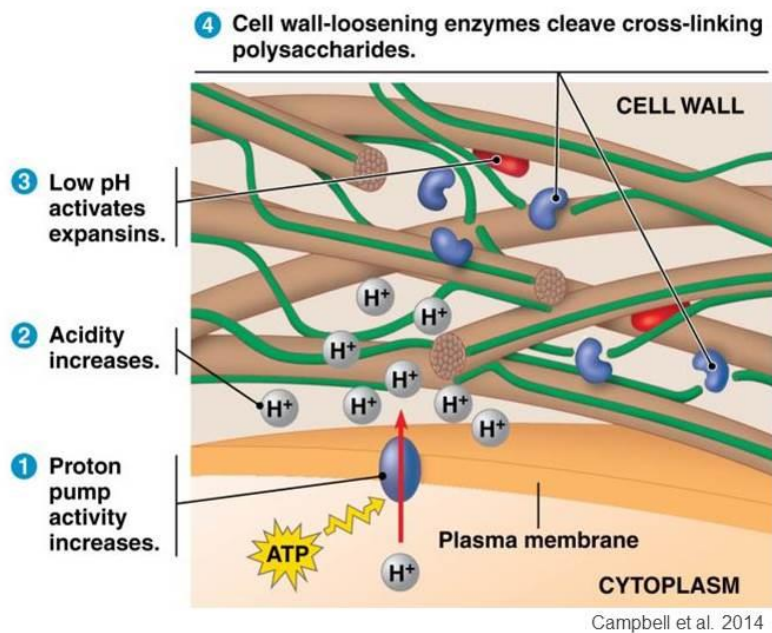
start



einde

Experiment 6

Alkalinisatie van de celwand en groeiremming



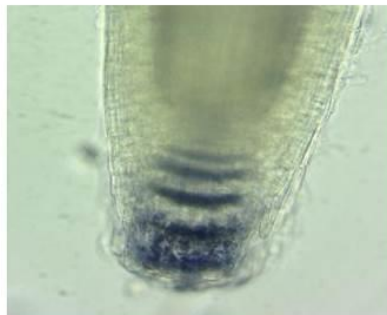
Vandaag

Opzet van de tuinkers op petrischaal met filter (voor iedereen)

Experiment 2 kleuren van amyloplasten op horizontale microscoop

Experiment 5 opzetten groeiresponse

Experiment 6 opzetten agar signaaltransductie experiment



Dank

- Hanzehogeschool Groningen & collega's: Alexandra Alves, Evelien Bourgonjon, Tjitske Antonides
- Gabriele Monshausen, Penn State University, USA
- Nathan Miller, University of Wisconsin – Madison, USA

share your talent. move the world.

Referenties

- A Researcher's Guide to: International Space Station – Plant Science – NASA – NP-2015-03-11-014-JSC
- Toyota, M., Gilroy, S., 2013. Gravitropism and mechanical signaling in plants. *American Journal of Botany* 100 (1): 111-125
- Baldwin, K.L., Strohm, A. K., Masson P. K., 2013. Gravity sensing and signal transduction in vascular plant primary roots. *American Journal of Botany* 100 (1): 126-142
- Evans, M.L., Moore, R., Hasenstein, K.H., 1986. How roots respond to gravity. *Scientific American*, 112-119
- Jung, J.K.H, McCouch, S, 2013. Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science* Vol. 4, Article 186: 1-32
- Campbell et al 2014. Biology – A global approach. 10th ed Pearson: ISBN-10 1-292-00865-2

Désirée den Os

Docent – Hanzehogeschool- Groningen
Institute for Life Sciences and Technology
d.den.os@pl.hanze.nl

share your talent. move the world.