



Biologie@Leuven (3). Ecologie, systematiek en fysiologie van dieren en planten, of moleculaire microbiologie en biotechnologie - het onderzoek aan het Departement Biologie van de K.U.Leuven is even divers als het leven op aarde zelf! [Meer lezen](#)

De winnaars van de 2011 PDL-Masterprijzen aan het woord. In 2011 mochten Eline Dekeyster en Suzanne Vanhauwaert zich terecht de beste Masterstudent(e) in respectievelijk Biologie en Biochemie & Biotechnologie noemen. [Meer lezen](#)



Fotoreportage: Achter de schermen van de Nationale Plantentuin. Speciaal voor PDL opende de Nationale Plantentuin van België op zondag 11 september zijn deuren voor een rondleiding achter de schermen. [Fotoreportage](#)

Aankondiging. U kwam hem misschien al tegen op de jongste boekenbeurs - nee, niet Piet Huysentruyt, maar dit nieuwe boek, "Tijd voor Biodiversiteit", een initiatief van het Departement Biologie en de Faculteit Wetenschappen. [Korte](#)



Biologie@Leuven (3)

Schutblad voor schut gezet. Homoplasie is de nagel aan de doodskist van de systematicus. Homoplasie is het resultaat van convergente evolutie: kenmerken die op elkaar zijn gaan lijken in de loop van de evolutie, waardoor een achteloze wetenschapper denkt dat ze wijzen op een nauwe verwantschap tussen twee soorten die dit kenmerk vertonen. In samenwerking met Mexicaanse collega's toonde de groep van Prof. Erik Smets aan dat dit het geval is voor de schutblaadjes in de ganzenvoetfamilie. Op basis van de aanwezigheid van schutblaadjes werden bepaalde planten in deze groep traditioneel als nauw verwant beschouwd, maar moleculaire studies spraken dat tegen. De onderzoekers zochten hun heil in de evo-devo-aanpak. Ze bestudeerden nauwgezet de embryonale ontwikkeling van de bloeiwijzen van verschil-

lende soorten melde, ganzenvoet en spinazie met behulp van licht- en elektronenmicroscopie en kwamen tot de vaststelling dat een schutblad niet altijd een schutblad is. Bij de melde en spinazie bijvoorbeeld, zijn de "schutbladen" aan de vrouwelijke bloemen eigenlijk restanten van de bloemkroon. De onderzoekers kwamen ook tot de ontdekking dat de ontwikkeling van het geslacht van de bloemen bij deze soorten nogal wat variatie kent. Bij sommige planten waren de bloemen oorspronkelijk hermafrodit en bleven ze biseksueel; bij andere werden ze later in de ontwikkeling uniseksueel. Een opmerkelijke uitzondering is spinazie, waar de bloemen al van in het prille begin uniseksueel zijn.

H. Flores-Olvera, A. Vrijdaghs, H. Ochoterena, E. Smets (2011) The need to re-investigate the nature of homoplastic characters: an ontogenetic case study of the 'bracteoles' in Atripliceae (Chenopodiaceae). *Annals of Botany* 108: 847-865.

Molecule bevordert samenleven. In een eerder nummer van PDL Info haalden we al aan hoe woestijnsprinkhanen (*Schistocerca gregaria*) aanvankelijk solitair leven, maar bij een toenemende densiteit hun gedrag en uiterlijk veranderen en samentroepen (de gregaire fase). Om bijbelse sprinkhanenplagen onder controle te houden, is inzicht in de mechanismen die deze fasetransitie bewerkstelligen cruciaal. De Onderzoeksgroep voor Moleculaire Ontwikkelingsfysiologie en Signaaltransductie onder leiding van Prof. Jozef Vanden Broeck ontdekte met Britse collega's dat het eiwit proteïne kinase A (PKA) daarin een belangrijke rol speelt. Van dit molecule, dat betrokken is bij intracellulaire signalisatie, is geweten dat het tussenkomt in verschillende leerprocessen. De onderzoekers behandelden solitaire sprinkhanen met

een chemische stof die de werking van PKA blokkeert en merkten dat de gedragsveranderingen die normaal binnen de 1-4 uur na geforceerde groepsvorming optreden, achterwege bleven. Wanneer ze de genexpressie van PKA in de hersenen verlaagden, gedraagden de dieren zich veel minder gregair, terwijl het opdrijven van de PKA-activiteit in de hersenen net een veel sterkere gregarisatie veroorzaakte. PKA blijkt dus een centrale rol te spelen bij de fasetransitie van deze dieren, een waarneming die misschien wel eens sterk bewaard gebleven kan zijn tijdens de evolutie. Bij de gewervelde dieren zou dit molecule immers een rol spelen bij het omgaan met aversieve gebeurtenissen.

S.R. Otta, H. Verlinden, S.M. Rogers, C.H. Brighton, P. Shan Quah, R.K. Vleugels, R. Verdonck, J. Vanden Broeck (2011) Allied attack: climate change and eutrophication. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* doi/10.1073/pnas.1114990109

Evolueren, maar tegen welke prijs? Door het gepruts van de mens met zijn omgeving worden organismen voortdurend aan nieuwe omstandigheden blootgesteld en dat laat deze wezens drie keuzen: aanpassen, migreren, of uitsterven. Sommige organismen, zoals watervlooiën, lijken zich verbazend snel aan te passen aan nieuwe condities (zie ook eerder artikel). In een recente studie vonden Mieke Jansen en haar collega's van het Laboratorium voor Aquatische Ecologie en Evolutiebiologie dat watervlooiën al na enkele generaties resistentie ontwikkelen voor het insecticide carbaryl. De resistente populaties

hadden echter meer dan de controledieren te lijden onder infecties van de bacteriële microparasiet *Pasteuria ramosa* wanneer ze daaraan blootgesteld werden. In een vervolgstudie toonden de onderzoekers aan

dat de blootstelling aan een stressor zoals carbaryl ook de toekomstige repons op stressoren zoals predatierisico en bacteriële infectie beïnvloedt. Vooraleer we al te optimistische voorspellingen doen over het aanpassingsvermogen van natuurlijke populaties aan menselijke milieu-invloeden, moeten we duidelijk eerst degelijk nagaan wat de kosten hiervan zijn, want ook in de evolutiebiologie draait alles rond kosten-en-baten-analyses. Ook de bagage van vroegere blootstellingen die een populatie met zich meedraagt moet in rekening gebracht worden.

M. Jansen, R. Stoks, A. Coors, W. van Doorslaer, L. de Meester (2011) Collateral damage: rapid exposure-induced evolution of pesticide resistance leads to increased susceptibility to parasites. *Evolution* 65: 2681-2691.

M. Jansen, L. De Meester, A. Cielen, C.C. Buser, R. Stoks (2011) The interplay of past and current stress exposure on the water flea *Daphnia*. *Functional Ecology* 25: 974-982.

Verteringsenzym regelt hersenontwikkeling. De ontwikkeling van een complex orgaan zoals onze hersenen is, wel, complex. Het is niet zomaar een kwestie van celdeling en -differentiatie, maar houdt bovendien ook nog eens celmigratie in, het uitgroeien van axonen en dendrieten, de vorming van synapsen en celdood voor die neuronen die niet nodig zijn. Hierbij blijkt een rol te zijn weggelegd voor matrixmetalloproteasen (MMP's), enzymen die structurele eiwitten in de extracellulaire matrix afbreken maar ook dienstdoen als signaalmoleculen. Om na te gaan welke rol MMP-3 in de hersenontwikkeling speelt, bestudeerden Inge Van Hove en haar medewerkers in de Onderzoeksgroep voor Neurale Ontwikkeling en Regeneratie knockoutmuizen waarin het gen voor MMP-3 uitgeschakeld is. In deze muizen bleek de migratie van de granulaire cellen in het cerebellum (de kleine hersenen) sterk verstoord te zijn. Deze

cellen vormen zich in de buitenste laag van het cerebellum, de uitwendige granulaire laag, en een deel daarvan migreert vervolgens naar dieper gelegen gebieden om daar de inwendige granulaire laag te vormen. Zonder MMP-3 gaat die migratie veel trager en blijft de uitwendige laag dikker dan normaal. De verstoorde migratie van de granulaire cellen lijkt het gevolg te zijn van een abnormale dendrietvorming in een ander celtype, de Purkinjecellen. Al deze afwijkingen verklaren waarschijnlijk de motorische problemen die de knockoutmuizen vertonen en tonen aan dat MMP-3 een cruciale factor is in de ontwikkeling van het cerebellum.

I. Van Hove, M. Verslegers, T. Buyens, N. Delorme, K. Lemmens, S. Stroobants, I. Gantois, R. D'Hooge, L. Moons (2011) An aberrant cerebellar development in mice lacking matrix metalloproteinase-3. *Molecular Neurobiology* DOI 10.1007/s12035-011-8215-z

Bestuiving in een gefragmenteerd landschap. Wereldwijd worden bossen alsmaar meer gefragmenteerd tussen grote gebieden landbouw- en stedelijk gebied. Populaties die op die manier geïsoleerd geraken, lopen het risico in te boeten aan genetische diversiteit door een combinatie van willekeurige genetische drift, inteelt en een verminderde geneninstroom. Uiteindelijk leidt deze genetische verarming tot aandoeningen, een verminderd adaptatievermogen en mogelijk extinctie. Omwille van hun lange levensduur, sterk aanpassingsvermogen en grote stuifmeelproductie, werden bomen en houtige struiken verondersteld minder gevoelig te zijn aan habitatfragmentatie. Een studie van Guy Vranckx en collega's in het Laboratorium voor Plantenecologie en de Afdeling Bos, Natuur en Landschap toont nu het tegendeel aan. De eco-

logen zochten naar correlaties in 98 studies die het effect van habitatfragmentatie op houtige planten bekeken en stelden vast dat bomen wel degelijk genetische diversiteit verliezen door fragmentatie. Enkel soorten die door vogels bestoven worden lijken relatief ongevoelig, maar bomen die gebruikmaken van insecten of wind voor de bestuiving zijn dat niet. Vogels zijn inderdaad geneigd om voedsel te zoeken in verschillende bosfragmenten en vervoeren het stuifmeel zo over langere afstanden dan wind en insecten dat doen. Een ander belangrijk besluit van de studie is dat de vastgestelde afname in genetische diversiteit door de lage levensduur van de bomen waarschijnlijk een afspiegeling is van de fragmentatie die zich lang geleden heeft afgespeeld en dat de effecten van de huidige, verder

doorgedreven fragmentatie pas in volgende generaties zichtbaar zullen zijn. Fragmentatie zou in de toekomst dus wel eens kunnen leiden tot het lokaal uitsterven van soorten wanneer die hun opgestapelde extinctieschuld aflossen.

G. Vranckx, H. Jacquemyn, B. Muys, O. Honnay (2011) Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology* DOI: 10.1111/j.1523-1739.2011.01778.x

Gone with the wind? In geïsoleerde, tijdelijke rotspoeltjes in de hoogvlakten van Zuid-Afrika leven pekeldreeftjes wiens rusteieren door amfibieën, waterstromen en vooral wind verspreid worden van de ene poel naar de andere. Bram Vanschoenwinkel en medewerkers van het Laboratorium voor Aquatische Ecologie en Evolutiebiologie bestudeerden met hun Zuid-Afrikaanse collega's de genetische diversiteit van twee soorten, de ruim verspreide *Branchipodopsis cf. wolfi* en de zeldzamere *B. drakensbergensis*. Vreemd genoeg noteerden de onderzoekers een onverwacht hoge genetische diversiteit tussen de verschillende poelen, wat erop wijst dat de genenstroom tussen de poelen ondanks de sterke dispersie van de rusteieren toch laag is. Blijkbaar zijn de dieren zo goed aangepast aan de unieke condities van hun eigen poeltje, dat ze zich moeilijk vestigen in een nieuwe poel. Voor

de algemene soort konden de onderzoekers de verspreidingsroute reconstrueren, maar voor de zeldzame soort tasten ze nog in het duister. Waarom die slechts in bepaalde poelen en niet in andere voorkomt is nog een raadsel en ook de manier waarop verspreiding over langere afstanden gebeurt is nog niet opgehelderd. Wel blijkt dat mutaties belangrijk kunnen zijn in geïsoleerde habitats waar een gebrek aan instroom van genetisch materiaal de populatie voldoende tijd geeft om zich aan te passen aan de lokale condities met de genetische variatie veroorzaakt door mutaties als vertrekpunt. Gewoonlijk wordt mutatiesnelheid daarvoor als te traag aanzien, maar hier hebben we te maken met een situatie waar de ecologische processen (verspreiding over lange afstand) zo traag zijn dat ze zich afspelen op dezelfde tijdschaal als evolutionaire processen.

B. Vanschoenwinkel, J. Mergeay, T. Pinceel, A. Waterkeyn, H. Vandewaerde, M. Seaman, L. Brendonck (2011) Long distance dispersal of zooplankton endemic to isolated mountaintops - an example of an ecological process operating on an evolutionary time scale. *PLoS ONE*, 6: e26730.

Bacteriën in het blad. Verschillende dieren en planten huizen endosymbiotische bacteriën in hun cellen in een mutualistische relatie: de bacteriën overleven niet zonder hun gastheer, maar ook de gastheer is voor zijn overleving afhankelijk van de microben. Bij zo'n 500 soorten bloemplanten in de families van de sterbladigen (Rubiaceae) en sleutelbloemen (Primulaceae) hebben symbiotische bacteriën zich genesteld in de bladeren van de plant. Benny Lemaire van het Laboratorium voor Plantensystematiek en medewerkers brachten de fylogenetische relaties van de *Burkholderia* endosymbionten van 54 plantensoorten in kaart. Als de bacteriën generatie na generatie worden doorgegeven, zouden we verwachten dat er co-speciatie optreedt, dat de bacteriën zich steeds meer gaan aanpassen aan hun gastheer en elke

plantensoort na ettelijke jaren co-evolutie uiteindelijk zijn eigen typische bacteriesoort heeft. Verwante plantensoorten bevatten dan verwante bacteriesoorten. Dat laatste blijkt niet te kloppen. Het merendeel van de onderzochte planten blijkt wel degelijk een eigen, typische endosymbiont te hebben, maar de bacteriesoorten die werden aangetroffen in verwante plantensoorten blijken niet altijd even sterk verwant en kunnen bij sommige soorten zelfs verschillen naargelang de onderzochte populatie. Dit suggereert dat er meermaals nieuwe infecties zijn opgetreden in een relatief recent verleden. De genetische analyse van de micro-organismen geeft ook aan dat de eerste bloemplanten met endosymbiotische bacteriën in de bladeren zijn ontstaan in het Mioceen (5-23 miljoen jaar geleden). Mogelijk gaf de klimaatwijziging die toen optrad de aanzet tot deze vorm van mutualisme.

B. Lemaire, P. Vandamme, V. Merckx, E. Smets, S. Dessein (2011) Bacterial leaf symbiosis in angiosperms: host specificity without co-speciation. *PLoS ONE* 6: e24430.

Sprinkhanenplagen, niet alleen een kwestie van genen. Zoals we eerder al vermeldden, zijn wetenschappers naarstig op zoek naar de factoren die de overgang van solitaire naar gregaire woestijnsprinkhanen induceren. Liesbeth Badisco en collega's van de Onderzoeksgroep voor Moleculaire Ontwikkelingsfysiologie en Signaaltransductie vergeleken de expressie van duizenden genen in de hersenen van solitaire en gregaire sprinkhanen en vonden 214 genen waarvan het expressieniveau na de faseovergang gewijzigd was. Zo brachten de gregaire dieren genen betrokken bij de verwerking van sensorische informatie, bij de bescherming tegen infecties en bij de plasticiteit van de hersenen meer tot expressie dan hun solitaire tegenhangers, wat mogelijk wijst op de complexere omgeving waarin de gregaire dieren leven. Bart Boerjan van

de Onderzoeksgroep voor Functionele Genomics en Proteomics en collega's ontdekten dat die verschillen in genexpressie wel eens te wijten kunnen zijn aan DNA-methylatie. Zij vonden dat DNA-methylasen eveneens differentieel tot expressie gebracht worden in solitaire en gregaire sprinkhanen. DNA-methylasen zijn belangrijk bij epigenetische processen: ze hangen methylgroepen aan bepaalde motieven in het DNA en beïnvloeden op die manier de expressie van het gen in kwestie. Op die manier kunnen verschillende fenotypes ontstaan uitgaand van hetzelfde genoom. De uitdaging is nu om te achterhalen welke rol al die genen en het aan- of uitschakelen ervan spelen bij de faseovergang.

L. Badisco, S.R. Ott, S.M. Rogers, T. Matheson, D. Knapen, L. Vergauwen, H. Verlinden, E. Marchal, M.R.J. Sheehy, M. Burrows, J. Vanden Broeck (2011) Microarray-based transcriptomic analysis of differences between long-term gregarious and solitary desert locusts. *PLoS ONE* 6: e28110.

B. Boerjan, F. Sas, U.R. Ernst, J. Tobback, F. Lemière, M.B. Vandegehuchte, C.R. Janssen, L. Badisco, E. Marchal, H. Verlinden, L. Schoofs, A. De Loof (2011) Locust phase polyphenism: Does epigenetic precede endocrine regulation? *General and Comparative Endocrinology* 173: 120-128.

Bert De Groef

De winnaars van de 2011 PDL-Masterprijzen aan het woord

Intussen is het nieuwe academiejaar al weer halverwege, maar in juli 2011 studeerde nog een nieuwe lading Masterstudenten in de Biologie en de Biochemie & Biotechnologie af. De besten onder hen belonen wij met een PDL-prijs. In 2011 zagen Eline Dekeyster en Suzanne Vanhauwaert hun bankrekening aantikken. Hieronder laten we de beide dames zelf aan het woord.



Wanneer men aan kleine Eline vroeg wat ze later wilde worden, dan luidde het antwoord stevast "tandarts". Een kind weet nu eenmaal niet wat een bioloog is en eerlijk gezegd wist ik dat vijf jaar geleden ook nog niet exact. Onder het motto "ik moet het vijf jaar doen, ik moet het graag doen" ben ik aan mijn studies begonnen. Van de eerste jaren zullen mij vooral de hechte vriendschappen blijven die zich vormden onder de beschermende vleugels van moeder KULAK. Het verlaten van dat nest betekende de start van drie fantastische jaren in Leuven, waaruit zowel het feestbeest als de nieuwsgierige studente in mij voldoening haalden. "We blijven gaan, hier in de Waversebaan" werd een standaarduitspraak met heel veel verschillende betekenissen. Ook het schrijven van de masterthesis in het laatste jaar was een enorme ervaring. Langzaam maar zeker leerde ik wat het inhoudt om "bioloog" te zijn en die inhoud bevat me ten zeerste.

Mijn masterthesis heb ik uitgevoerd in de Onderzoeksgroep Neurale Ontwikkeling en Regeneratie onder leiding van prof. dr. Lieve Moons. Matrixmetalloproteïnasen (MMP's) zijn Zn²⁺-afhankelijke endopeptidasen die bijdragen aan de remodelering van de extracellulaire matrix (ECM) door klieving van allerlei ECM-componenten, alsook van bepaalde signaalmoleculen. Deze remodelering is onder andere belangrijk tijdens de ontwikkeling van 3D-netwerken binnen de hersenen. In een eerste deel van mijn thesis werd onderzoek gevoerd naar de bijdrage van MMP-2 tot de ontwikkeling van de cerebellaire cortex. Hiertoe werd gebruik gemaakt van MMP-2-deficiënte (MMP-2^{-/-}) en wildtype (MMP-2^{+/+}) muizen. Eerdere preliminaire resultaten suggereerden een effect van MMP-2-deficiëntie op proliferatie- en migratieprocessen in de ontwikkelende cerebellaire cortex. Om dit meer in detail te kunnen bestuderen, stelden we in vitro technieken op punt. Daarnaast werd synaptogenese in vivo bestudeerd met behulp van immunohistochemische kleuringen. Dit onderzoek leverde interessante preliminaire resultaten op in verband met de functionaliteit van MMP-2. Aanvullende data zijn nodig om de vooropgestelde hypothesen te bevestigen of te ontkrachten. Naast de effecten van MMP-2-deficiëntie op de cerebellaire ontwikkeling, werd ook een verschil in motorperformantie gedetecteerd bij adulte MMP-2^{-/-} muizen via rotarodanalyse. De MMP-2^{-/-} muizen maakten meer voetfouten in een horizontale ladder test bij de moeilijkste frequentie en liepen steeds trager over deze horizontale ladder, alsook over de evenwichtsbalk. Tenslotte werd getracht een adult-plasticiteitsmodel op punt te stellen, om in de toekomst een mogelijk effect van MMP-2 op adulte neosynaptogenese na schade ter hoogte van de cerebellaire cortex na te gaan.

Bij het uitvoeren van de masterthesis kreeg ik de smaak van het neurobiologisch onderzoek te pakken. Hierin wil ik dan ook graag verdergaan.

Ik zou willen afsluiten met een dikke dankjewel voor alle mensen die mijn studententijd zo aangenaam hebben gemaakt: jaargenoten, vrienden, kotgenoten, familie, assistenten, professoren en alle mensen die mijn studiep pad in positieve zin kruisten maar niet onder een van de vorige benoelingen vallen.

Eline Dekeyster



Vijf jaar geleden stond ik voor de keuze welke studies ik zou aanvatten. Na lang twijfelen over de meest uiteenlopende opties koos ik uiteindelijk voor Biochemie & Biotechnologie, aangezien deze opleiding aansloot bij mijn interesse in het leven op moleculair en cellulair niveau. Uiteraard moest ik ook kiezen waar ik zou gaan studeren. Omdat ik al veel verhalen had gehoord over de fantastische sfeer aan de KULAK, besloot ik om mijn studies daar aan te vatten zodat ik die sfeer eens zelf kon opsnuiven. Wat blijkt, de verhalen bleken te kloppen! Naast het vele amusement en vertier kwam ik in Kortrijk ook voor het eerst in contact met het wetenschappelijke onderzoek rond primaire hemostase en bloedstolling doordat het geïntegreerd practicum georganiseerd werd door het Laboratorium voor Trombose Onderzoek. Tijdens deze vele uurtjes practica werd ik steeds meer gefascineerd door de complexiteit van de bloedstolling.

Na twee geweldige jaren in Kortrijk was de tijd rijp om mijn studies te vervolledigen in Leuven. Toen ik in mijn eerste masterjaar een onderwerp kon kiezen waar ik een jaar lang onderzoek op zou verrichten, was de keuze dan ook snel gemaakt: ik keerde terug naar Kortrijk om daar de bloedstolling te onderzoeken. De titel van mijn masterthesis werd dan ook: identificatie van de bloedplaatjesspecifieke functie van DCBLD2.

Hart- en vaatziekten blijven één van de belangrijkste doodsoorzaken in de westerse wereld. De meeste eiwitten die een rol spelen in dit proces zijn gekend, maar voor de ontwikkeling van nieuwe antitrombotica is het belangrijk dat alle betrokken eiwitten gekend zijn. Daarom werd in 2004 door de Europese Unie een consortium opgericht dat als doel had nieuwe potentiële bloedplaatjesreceptoren te identificeren. Eén van deze nieuw geïdentificeerde receptoren was DCBLD2, het eiwit dat ik een jaar lang onderzocht.

Omdat er slechts weinig was geweten over de functie van DCBLD2 op bloedplaatjes, zijn we gestart met de ontwikkeling van verschillende tools die ons in de toekomst kunnen helpen bij de ontrafeling van zijn functie. Zo werd gestart met de zuivering van menselijk DCBLD2 (hDCBLD2) via nikkelchelaataffiniteitschromatografie. Dit gezuiverd eiwit werd dan gebruikt voor de ontwikkeling van een monokonaal antilichaam tegen hDCBLD2. Hiervoor werden vrouwelijke Balb/c muizen viermaal geïmmuniseerd met hDCBLD2. Na de fusie, waarbij de miltcellen van de muis gefuseerd werden met myelomacellen, en een screening bleek dat we één monokonaal antilichaam hadden geproduceerd tegen hDCBLD2. Dit nieuw geproduceerde antilichaam kan nu in de toekomst worden gebruikt voor de functie van DCBLD2 op bloedplaatjes te achterhalen.

Naast de ontwikkeling van een monokonaal antilichaam werd het gezuiverde humaan DCBLD2 eiwit ook gebruikt in aggregatie-experimenten. Via deze techniek zijn we erin geslaagd om een eerste idee te krijgen over de functie van DCBLD2 op bloedplaatjes, namelijk dat het waarschijnlijk inwerkt op bloedplaatjesactivatie en –amplificatie.

Tenslotte zou ik nog van de gelegenheid willen gebruik maken om iedereen te bedanken die mij de voorbije jaren heeft gesteund.

Suzanne Vanhauwaert