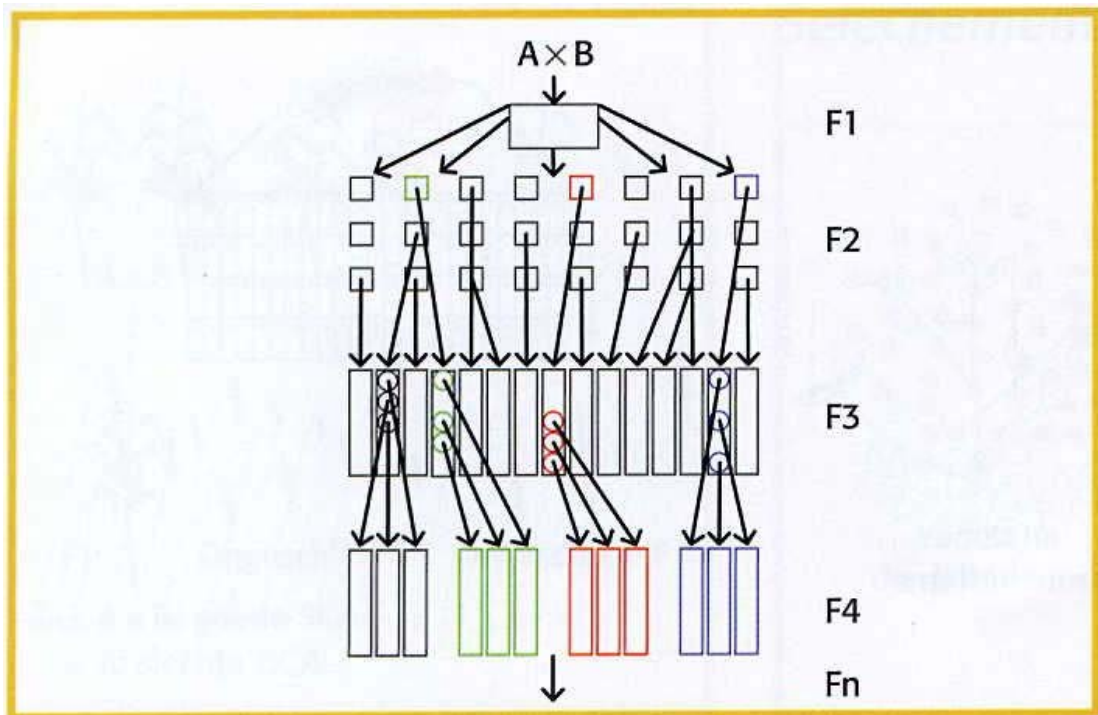


Minor plantenveredeling 1 en 2

Dictaat Veredelingsmethoden



DE RUITER SEEDS
HYBRID SEEDS

syngenta



1. Veredeling van vegetatief vermeerderde gewassen	1
1.1 Voorbeelden van vegetatief vermeerderde gewassen	1
1.2 Voorbeelden van vegetatieve vermeerderingsmethoden.....	2
1.3 Redenen voor vegetatieve vermeerdering	2
1.4 Voor- en nadelen van vegetatieve vermeerdering.....	2
1.5 Vegetatieve vermeerdering via zaad	3
1.6 Vegetatieve vermeerdering van hybride-ouderlijnen.....	3
1.7 Het induceren van genetische variatie.....	4
1.8 Instandhouding en vermeerdering van rassen van vegetatief vermeerderde gewassen ..	5
1.9 Kloonselectie	6
1.10 Selectie op kwantitatieve eigenschappen	9
1.10.1 Inleiding	9
1.10.2 Componenten van genetische variatie	9
1.10.3 Heritability in broad sense.....	11
1.10.4 Heritability in narrow sense	13
1.10.5 Breeding value.....	14
1.10.6 Selectie-intensiteit en -respons	14
1.10.7 Genotype x milieu interactie	16
2. Veredeling van zelfbevruchtters en ontwikkeling van hybride-ouderlijnen	17
2.1 Voorbeelden van zelfbevruchtende gewassen.....	17
2.2 Massale vermeerdering	18
2.3 Het kweken van een lijnras	19
2.4 Massaselectie.....	20
2.5 Pedigree- en lijnselectie	21
2.6 Lijnen ontwikkelen via verdubbelde haploïden	23
2.7 Herhaalde terugkruising	23
2.8 Convergentiekruisingen en multiple crossing	24
2.9 Single seed descent methode (SSD).....	25
2.10 Instandhouding en vermeerdering	26
2.11 Selectie op kwantitatieve eigenschappen.	27
3. Veredeling van kruisbevruchtters.....	29
3.1 Voorbeelden van kruisbevruchtende gewassen.....	29
3.2 Oorzaken voor kruisbevruchting	30
3.3 Algemeen gedrag van een populatie	31
3.4 Massale vermeerdering	32
3.5 Massaselectie.....	33
3.5.1 Inleiding	33
3.5.2 Massaselectie voor bloei op een recessieve eigenschap.....	33
3.5.3 Massaselectie voor bloei op een dominante eigenschap	33
3.5.4 Massaselectie na bloei op een recessieve eigenschap	34
3.5.5 Massaselectie na bloei op een dominante eigenschap.....	34
3.6 Familieselectie.....	34
3.6.1 Inleiding	34
3.6.2 Familieselectie voor bloei op een dominante eigenschap	35
3.6.3 Familieselectie na bloei op een dominante eigenschap.....	35
3.6.4 Gesepareerde familieselectie na de bloei op een dominante eigenschap	36
3.6.5 Reservezaad methode	36
3.7 Lijnselectie bij kruisbevruchtters	37
3.8 Dihaploïden	37
3.9 Paarsgewijze kruisingen	37

3.10	Recurrente selectie op fenotype	38
3.11	Herhaalde terugkruising bij kruisbevruchters	38
3.12	Selectie op kwantitatieve eigenschappen	39
4.	Veredeling van hybriden	40
4.1	Inleiding	40
4.2	Overzicht van typen hybriderassen	41
4.3	Single cross hybriden	42
4.4	Three-way-cross hybriden	42
4.5	Double cross hybriden	42
4.6	Inteelt en heterosis	43
4.7	Algemene en specifieke combinatiegeschiktheid	43
4.8	Emasculeren, isoleren en bestuiven	45
4.9	Het maken van hybriderassen bij zelfbevruchters	46
4.10	Het maken van hybriderassen bij kruisbevruchters	46
5.	Gebruik van mannelijke steriliteit, incompatibiliteit, tweehuizigheid	48
5.1	Mannelijke steriliteit	48
5.1.1	Inleiding	48
5.1.3	Inductie van mannelijke steriliteit	51
5.1.4	Verschillende idiotypen van mannelijke steriliteit	51
5.1.4.1	Genetische mannelijke steriliteit	52
5.1.4.2	Cytoplasmatische mannelijke steriliteit	52
5.1.4.3	Cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit	52
5.1.5	Mannelijke steriliteit in de praktijk	53
5.1.6	Genetische mannelijke steriliteit	54
5.1.6.1	Productie van genetisch mannelijk steriele ouderlijnen	54
5.1.6.2	Instandhouding van genetische mannelijke steriliteit	56
5.1.6.3	Gebruik van genetische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie	57
5.1.7	Cytoplasmatische mannelijke steriliteit	57
5.1.7.1	Het inkruisen van cytoplasmatische mannelijke steriliteit	57
5.1.7.2	Instandhouding van cytoplasmatische mannelijke steriliteit	58
5.1.7.3	Gebruik van cytoplasmatische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie	59
5.1.8	Cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit	59
5.1.8.1	Productie van cytoplasmatisch-genetisch mannelijke steriele lijnen	59
5.1.8.2	Instandhouding van cytoplasmatisch-genetisch mannelijke steriele lijnen	59
5.1.8.3	Gebruik van cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie	60
5.1.9	Toepassing van mannelijke steriliteit	60
5.1.9.1	Productie van hybriderassen	60
5.1.9.2	Hybridezaadzetting	60
5.1.9.3	Enkele voorbeelden	61
5.1.9.4	Problemen bij de toepassing van mannelijke steriliteit	61
5.1.9.5	Milieu-invloed op de mannelijke steriliteitsexpressie	62
5.2	Incompatibiliteit	63
5.2.1	Inleiding	63
5.2.2	Gametofytische incompatibiliteit	65
5.2.3	Sporofytische incompatibiliteit	67
5.2.4	Fenotypische expressie van compatibiliteit, incompatibiliteit en incongruentie	69
5.2.5	Homomorfie en heteromorfie	70
5.2.6	Aantonen van incompatibiliteit	70

5.2.7 Het bepalen van het incompatibiliteitssysteem	72
5.2.8 Het omgaan met incompatibiliteit in de praktijk.....	72
5.2.9 Incompatibiliteit en veredelingsmethoden	75
5.2.10 Gebruik van koppeling bij het werken met incompatibiliteit.....	76
5.3 Tweehuizigheid	77
6. Opgaven	78
6.1 Vegetatief vermeerderde gewassen: de Tamaya	78
6.2 Zelfbevruchters.....	80
6.3 Kruisbevruchters	81
6.4 Hybrideveredeling	82
Aanbevolen literatuur	83

1. Veredeling van vegetatief vermeerderde gewassen

1.1 Voorbeelden van vegetatief vermeerderde gewassen

Wanneer een uniek kruisingsproduct, of een al dan niet toevallige mutant door vegetatieve vermeerdering in stand wordt gehouden en in de handel wordt gebracht, spreken we van een vegetatief vermeerderde gewas. Van vegetatieve vermeerdering is sprake als 1 of meer somatische cellen uitgroeien tot een (nieuwe) plant. Alle planten van een vegetatief vermeerderd ras hebben hetzelfde idiootype (= plasmatype + genotype). Dat is overigens ook zo bij hybriderassen en lijnrassen.

Een groot aantal tuin- en akkerbouwgewassen wordt vegetatief vermeerderd. Aardappel is het bekendste voorbeeld uit de akkerbouw. Alle in Nederland geteelde fruitgewassen worden vegetatief vermeerderd en dat geldt ook voor de meeste snijbloemen zoals roos, chrysan, freesia, lelie en Alstroemeria. Ook de belangrijkste potplanten zoals Ficus, Dieffenbachia, Kalanchoë en Begonia worden vegetatief vermeerderd. Hetzelfde geldt voor de meeste boom- en fruitteeltgewassen en voor veel wortel-, bol- en knolgewassen.



Afbeelding 1: Voorbeelden van vegetatief vermeerderde siergewassen: lelie, roos, chrysan en gerbera (foto's J. den Besten).

Goed beschouwd kun je zeggen dat de meeste planten (in cultuur) vegetatief vermeerderd worden en dat vermeerdering door zaad alleen van belang is voor akkerbouwgewassen, groentegewassen, kruiden, sommige pot- en perkplanten en zomerbloemen.

1.2 Voorbeelden van vegetatieve vermeerderingsmethoden

De groep van vegetatief vermeerderde gewassen is zeer divers en dat geldt ook voor de vermeerderingsmethoden. Vaak zijn het de plantendelen die in de natuur voor vermeerdering zorgen, die we ook in de (kunstmatige) vermeerdering gebruiken. Denk maar aan de knollen van een aardappel, de bollen van een tulp, de uitlopers met jonge planten (stolonen) bij aardbei of de wortelstokken van een lelietje-der-dalen. Soms is de gebruikte vegetatieve vermeerderingsmethode enigszins kunstmatig zoals het stekken van chrysant, de bladstekken van het Kaapse viooltje, de enting van appel of de weefselkweekvermeerdering van *Alstroemeria*. Het uiteindelijke doel van al deze methoden is het exact kopiëren van de originele plant, ook wel klonen genoemd.

1.3 Redenen voor vegetatieve vermeerdering

Sommige vegetatief vermeerderde gewassen bloeien helemaal niet, zoals de Egyptische ui en enkele knoflookrassen of zijn steriel (triploïde *Begonia*) en kunnen dus op geen enkele andere manier vermeerderd worden. In dat geval is vegetatieve vermeerdering de enige mogelijkheid. Bij de meeste andere vegetatief vermeerderde gewassen is het erg lastig om via zaad te vermeerderen zonder dat allerlei uitsplitsingen optreden. Heel vaak heeft dat met het ploïdeniveau te maken. Zo is een aardappel tetraploïd en een aardbei octoploïd. Het is dus niet eenvoudig om dit soort gewassen homozygoot te maken. Bovendien zijn het kruisbevruchters die al snel last van inteelt hebben.

Verder is het zo dat een mutant in een vegetatief gewas via vegetatieve vermeerdering meteen in de handel kan worden gebracht. Je kunt hierbij denken aan de verschillende mutanten van het appelras Elstar en kleurmutanten bij chrysant.

1.4 Voor- en nadelen van vegetatieve vermeerdering

Het grote voordeel van de vegetatieve vermeerdering is dat je op relatief eenvoudige wijze grote aantallen genetisch identieke planten kunt maken. Dat gaat in principe eenvoudig en daarom is het ook eenvoudig om de rassen te kopiëren, al dan niet legaal. Een nadeel dat zich voordoet is het probleem van ziekten die samen met het uitgangsmateriaal worden vermeerderd. Vooral virusziekten staan daarom bekend. Ook mutaties worden mee vermeerderd en als niet voortdurend op het originele genotypen wordt geselecteerd, kunnen de rassen uiteindelijk gaan afwijken. Daarom heeft de NAK een collectie met origineel (dus niet-gemuteerd) en virusvrij uitgangsmateriaal, dat door vermeerderaars kan worden gebruikt.

Nederland heeft een belangrijke positie in de wereld als het gaat om aardappelpootgoed. In de aardappelfamilie komen ook veel, economisch veel minder belangrijke, sierplanten voor. Daarin worden nogal eens virussen en viroïden aangetroffen die op aardappel kunnen overgaan. Bij deze 'kleine' gewassen is de keuring op ziekten onvoldoende ontwikkeld. Vanwege de potentiële gevaren voor de productie van aardappelpootgoed moeten de kleine gewassen regelmatig letterlijk het veld ruimen. Het belang van selectie op gezondheid mag duidelijk zijn.

Hoewel een goed kruisingsproduct of een gevonden mutant in principe direct tot ras kan worden gepromoveerd, kan het afhankelijk van de vermeerderingsfactor wel drie of vier jaar

duren voor het ras feitelijk op de markt kan worden gebracht. Voor het snel introduceren van nieuwe rassen kan weefselkweek een grote dienst bewijzen.

Het is opvallend dat de vegetatieve vermeerderingsmethoden in vitro, tot nu toe niet hebben geleid tot het vegetatief vermeerderen van rassen die normaal via zaad worden vermeerderd. Blijkbaar zijn de hybriden die via zaad gemaakt worden beter dan geselecteerde planten die vegetatief worden vermeerderd of zijn jonge planten uit zaad goedkoper of beter dan jonge planten uit de weefselkweekvermeerdering.

1.5 Vegetatieve vermeerdering via zaad

Ongeslachtelijke voortplanting via zaad wordt *apomixie* genoemd. Het verschijnsel komt veel voor bij onder andere veldbeemdgras, braam en citrus. Er zijn verschillende vormen van apomixie waaronder:

- Haploïde *parthenogenese* waarbij de onbevuchte eicel uitgroeit tot haploïd embryo. Het is een soort haploïdencultuur in vivo.
- Diploïde *parthenogenese* (niet te verwarren met *partenocarpie*) waarbij de diploïde embryozakmoedercel of een diploïde cel rondom de embryozakmoedercel, uitgroeit tot diploïd embryo. De nakomelingen zijn genetisch identiek aan de moeder, vegetatieve vermeerdering via zaad dus. Omdat lang niet alle ziekten via zaad overgaan naar de volgende generatie, kan het nuttig worden toegepast (veldbeemdgras).
- Bij *androgenese* verdringt de kern van de stuifmeelkorrel de kern van de embryozakmoedercel. Het resultaat is een haploïd embryo met het cytoplasma van de moeder en uitsluitend genen van de vader.
- *Apogamie* waarbij het embryo zich ontwikkelt uit één van de synergiden (haploïd) of de secundaire embryozakkern (diploïd).
- *Adventieve embryonie* waarbij een cel uit nucellus of binnen-integumenten uitgroeit tot een diploïd embryo.

1.6 Vegetatieve vermeerdering van hybride-ouderlijnen

Met name bij de groentegewassen worden veel hybriderassen gemaakt. In het algemeen worden de ouderlijnen via zaad in stand gehouden en vermeerderd. Soms levert dat problemen op bijvoorbeeld vanwege inteelt, incompatibiliteit of mannelijke steriliteit. Dan is vegetatieve vermeerdering van de ouderlijnen de enige manier om over voldoende ouderlijnen te beschikken.

1.7 Het induceren van genetische variatie

Er zijn vier methoden om genetische variatie te induceren: genetische transformatie, mutatie, zelfbevruchting en kruising,.

Genetische transformatie is in noordwest Europa (nog) niet geaccepteerd als veredelingsstechniek. Zogenaamde transgene gewassen, waarin soortvreemde eigenschappen zijn ingebouwd, accepteert de consument en wetgever in dit deel van de wereld niet. Er is op dit moment discussie over de acceptatie van zogenaamde *cisgene* planten. Dat zijn planten die via genetische transformatie voorzien zijn van soorteigen genen, genen die ook inkruisbaar zijn. Het is een uitstekende methode om snel bijvoorbeeld een resistentie in een appel te zetten.

Mutatieveredeling is in het algemeen ongericht en niet in alle gewassen toepasbaar. Bij chrysanthe is het via mutaties relatief eenvoudig kleurmutanten op te wekken en een standaard onderdeel van de veredeling.

Zelfbevruchting bij kruisbevruchters leidt in het algemeen al snel tot inteelt en levert daarom niet vaak erg bruikbaar variatie op. Het wordt wel gebruikt om bepaalde eigenschappen via inteelt homozygoot in handen te krijgen.

Voor het induceren van genetische variatie kun je denken aan kruisingen tussen rassen binnen 1 soort, kruisingen tussen verschillende soorten en zelfs aan kruisingen tussen soorten uit verschillende geslachten. Elk van de genoemde mogelijkheden kent zo zijn eigen specifieke aandachtspunten.

De meest gebruikte methode om variatie te induceren is het maken van kruisingen. Vegetatief vermeerderde gewassen zijn heterozygoot met als grote voordeel dat in de eerste generatie na de kruising meteen al variatie aanwezig is.

Bij het maken van kruisingen met als doel het direct verkrijgen van een commercieel bruikbaar resultaat, valt de keuze op twee rassen die nu al succesvol zijn. Dit soort commercieel succesvolle rassen zullen na onderlinge kruising gemiddeld genomen slecht presterende nakomelingen opleveren. De variatie kan echter groot zijn en als voldoende nakomelingen aanwezig zijn, wordt de kans groter dat de positieve uitschieters aanwezig zijn en gevonden kunnen worden. Het verdient aanbeveling om verschillende (dat wil zeggen meer dan 2) commerciële rassen met elkaar te kruisen. Indien mogelijk worden rassen gekozen met verschillende genetische achtergrond, bijvoorbeeld van verschillende veredelingsbedrijven. Op deze wijze start de veredelaar met het maken van voldoende genetische variatie, de basis voor succesvolle selectie.

Zo zal bij het maken van een appelras worden uitgegaan van twee rassen die reeds een hoge cultuurwaarde bezitten. Afhankelijk van het gestelde doel, bijvoorbeeld een grote appel die goed bewaarbaar is, een rode kleur en tevens een goede smaak heeft en een hoge opbrengst, zal men een bepaalde keuze maken uit het bestaande sortiment. Die keuze kan in dit geval bijvoorbeeld zijn: Golden Delicious x Elstar. Die eerste appel heeft een hoge opbrengst en is lang en goed bewaarbaar. De tweede appel kan eveneens bewaard worden, heeft een rode bloem, een goede smaak en opbrengst.

Bij de keuze van de ouderplanten kan men ook gebruikmaken van stambomen van onze huidige gassen. Dikwijls blijkt daaruit dat bepaalde kruisingsouders of geniteurs veel of weinig zijn gebruikt bij de opbouw van het sortiment. Wellicht hebben dat soort rassen een goede algemene combinatiegeschiktheid of een goede veredelingswaarde (*breeding value*).

Kennis van de eigenschappen van de ouders hoeft echter nog niets te zeggen over de nakomelingschap. Door de combinatie kunnen ongunstige en onverwachte eigenschappen boven water komen. Immers de ouders zijn heterozygoot. Er kunnen ook complementaire factoren in het geding zijn die nieuwe ongunstige eigenschappen geven. Vooraf weet je niet of een bepaalde kruising veel uitschieters naar boven of naar beneden zal geven of dat alle planten middelmatige kwaliteit zullen zijn.

Wanneer wilde soorten als kruisingsouder gebruikt worden om geheel nieuwe eigenschappen in te kruisen, hebben we te maken met problemen als verschillen in ploëdeniveau en embryoabortie. Bovendien levert een kruising tussen wilde soorten zelden direct iets bruikbaar op. Het kruisingsproduct is halfwild en bezit meestal onvoldoende cultuurwaarde. Door herhaald terug te kruisen verdwijnen de wilde genen langzaam maar zeker. In verband met inteelt is aan te bevelen steeds met een andere ras terug te kruisen. Herhaald terugkruisen levert dan ook niet direct een bestaand ras op dat verrijkt is met 1 nieuwe eigenschap, maar eerder een nieuw ras met een nieuwe eigenschap.

Sommige soortkruisingen hebben in het verleden wel bruikbare planten opgeleverd, zoals de aardbei *Fragaria x ananassa* die ontstaan is uit een soortkruising tussen *Fragaria virginiana* en *Fragaria chiloense*. In de boomteeltsector komen ook soortkruisingen als *Salix x caprea* voor.

Soms lukt het om geslachten te kruisen en dat heeft ons bijvoorbeeld een bekende conifeer *Cupressocyparis* (*Cupressus macrocarpa* x *Chamaecyparis nootkatensis*) en een bekende kamerplant *Fatsyhedera* (*Fatsia japonica* x *Hedera helix*) opgeleverd. Bij de orchideeën blijken geslachtskruisingen veel voor te komen (x *Odontocidium*, x *Odontia*, x *Sophrolaecattleya*). Blijkbaar zijn de geslachten behoorlijk verwant en in de evolutie dus relatief jong.

Het zal duidelijk zijn dat je niet even snel schurftresistentie in bijvoorbeeld een appelras zet of Fusariumresistentie in een tulpenras zet met klassieke verdelingsmethoden. Het is denkbaar dat tegen de tijd dat de resistentie is ingebouwd, hij al weer doorbroken is. Daarom hopen de veredelaars dat cisgene technieken snel worden geaccepteerd.

1.8 Instandhouding en vermeerdering van rassen van vegetatief vermeerderde gewassen

Bij de instandhouding van de vegetatief vermeerderde gewassen kunnen verwisselingen, vermengingen, mutaties en ziekten de kwaliteit van het ras zeer nadelig beïnvloeden. Verwisseling en vermenging van rassen kan door een intensieve controle en nauwkeurig werken uiteraard voorkomen worden. Er dient echter rekening gehouden te worden met verwisseling van etiketten en vermenging tijdens het sorteren van partijen. Door het optreden van spontane mutaties kan raszuiverheid verminderen. Sterk opvallende mutanten leveren weinig problemen op omdat ze herkend en uitgeselecteerd kunnen worden. Gevaarlijker zijn de mutanten die minder sterk van het normale type afwijken. De besmetting met

(virus)ziekten is een groot probleem omdat besmette planten soms slechts moeilijk te herkennen zijn en het virus gemakkelijk op de volgende vegetatieve generatie kan overgaan. De NAK (Stichting Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor zaaizaad en pootgoed van landbouwgewassen) keurt jaarlijks bijna 40.000 ha pootgoedaardappelen. De productie van poot aardappelen start met een uitgangsplant (na stamsselectie) of een in-vitro miniknol. Deze wordt vermeerderd tot respectievelijk 1-, 2-, 3- en 4-jarige stam. De laatste 2 worden aangeduid met klasse S. S wordt na vermeerdering respectievelijk SE, E, A en C.

De instandhouding van de meeste snijbloemen en potplanten vindt plaats op het veredelingsbedrijf zelf. De instandhouding van de overige vegetatief vermeerderde gewassen vindt plaats op de zogenaamde selectiebedrijven. Bij aardbei zorgen de selectiebedrijven voor het beschikbaar komen van virusvrij materiaal (S.E.E.). Dit is de eerste vermeerdering (in luisdichte kassen) van planten die uit de buis komen (meristeemcultuur) of die een warmte behandeling hebben gehad. Voor het groot fruit heeft de NAK-Tuinbouw, zelf een moerbomenhoek, waarvan stek wordt uitgegeven. Bij de bloembollen vindt de instandhouding meestal op de vermeerderingsbedrijven plaats.

Bij aardbei wordt een vermeerderingssysteem toegepast dat uit maximaal 5 stappen bestaat. Nieuwe rassen komen het systeem binnen als kandidaatmateriaal en worden na toetsen op ziekten en plagen aangeduid als kandidaatplant. Deze plant dient voor de instandhouding en verdere vermeerdering. De 5 vermeerderingsstappen bestaan uit: SEE, SE1, SE2, EE en E. De stappen SEE, SE1 en SE2 duren elk 1 jaar in een luisdichte kas. De daarop volgende stappen vinden meestal in de vollegrond plaats. Het systeem zorgt ervoor dat de uiteindelijke aardbeienteler plant gebruikt met een minimale hoeveelheid ziekten en plagen.

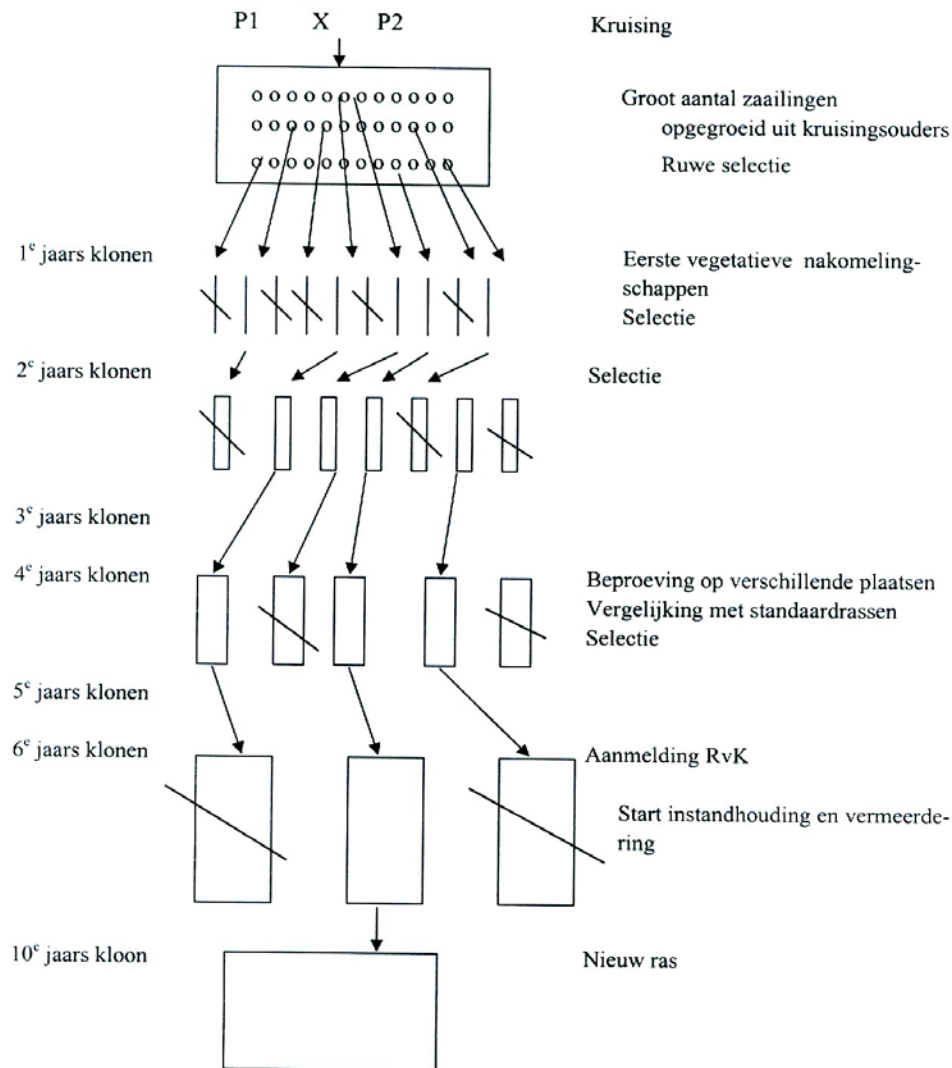
De vermeerdering en verkoop van rassen van snijbloemen vindt bijna altijd plaats op de veredelingsbedrijven zelf. Voor fruitgewassen zijn er een aantal selectie- en vermeerderingsbedrijven. Deze bedrijven selecteren op gezondheid tijdens de vermeerdering. Aardbeiplanten (SEE) worden op selectiebedrijven vermeerderd tot EE-materiaal. Dit materiaal kán door selectiebedrijven of vermeerderingsbedrijven verder worden vermeerderd tot E- of A-materiaal. De tuinder is de afnemer van de laatste twee categorieën. De vermeerdering van een groot aantal vegetatief vermeerderde gewassen wordt gecontroleerd door de NAKtuinbouw en BKD (Bloembollenkeuringsdienst).

1.9 Kloonsselectie

De ontwikkeling van een nieuw kloonras is in principe eenvoudig. De uitvoering verschilt echter van gewas tot gewas. Ook de tijdsduur van kruising tot ras kan zeer verschillen. Het raamwerk voor de ontwikkeling van elk kloonras is in figuur 1.1 duidelijk gemaakt. Twee goede kloonrassen worden met elkaar gekruist. Omdat de gekruiste ouders heterozygoot waren, treedt in de F₁ al direct uitsplitsing op. Daarom is het noodzakelijk te beschikken over een F₁ met daarin veel planten.

Vervolgens moet de beste zaailing opgespoord worden. Deze selectie is minder eenvoudig dan het lijkt. In de eerste plaats kan het lang duren voordat we überhaupt met selectie kunnen beginnen. Bij veel houtige gewassen en bol- en knolgewassen hebben we te maken met een juveniele fase, die vertraging oplevert. Tulpen bloeien pas 6 jaar na kruising, appel na 4-6 jaar en peer zelfs pas na 7-9 jaar.

Gedurende deze zogenaamde juveniele fase kunnen we op veel belangrijke eigenschappen niet selecteren, de veredelingsprocedure wordt zo dus aanzienlijk verlengd. Het is duidelijk, dat onderzoek naar verkorting van de juveniele fase uiterst zinvol is. Zo heeft men bij appel gevonden, dat erfelijk zwakgroeiende zaailingen, gemiddeld later bloeien dan erfelijk krachtig groeiende zaailingen. Hiervan kan gebruik gemaakt worden door de zwakkere planten al in de kwekerij te verwijderen met als gevolg, dat de juveniele fase van de overblijvende zaailingen gemiddeld korter wordt. Dit is een vorm van indirecte selectie.



Figuur 1.1. Algemene werkwijze bij de verdeling van vegetatief vermeerderde gewassen. Aantallen fictief en veel te laag.

Er is ook vastgesteld, dat zaailingen met een korte jeugdperiode, als cultivar gemiddeld vroeger vruchtbaar zijn dan zaailingen, waarvan de bloei laat intreedt. De voorselectie in de kwekerij op groeikracht verkort dus niet alleen de omlooptijd van de zaailingpopulaties in de boomgaard, maar vergroot ook de kansen op het vinden van productieve rassen. De juveniele fase kan nog verder verkort worden door ouders te kruisen, waarvan we weten dat ze vroege vruchtbaarheid aan hun nakomelingen meegeven. Verder levert één bloeiende plant, boom of struik onvoldoende informatie. Een plant die opgroeit uit zaad heeft vaak een andere habitus

dan een plant die opgroeit uit vegetatief materiaal. Strenge selectie is daarom onverstandig en kan beter uitgesteld worden tot na de eerste maal vegetatieve vermeerdering.

In het begin van de selectiegang kunnen we slechts selecteren op kwalitatieve eigenschappen als bloemkleur, bloemgrootte, bloemtekening, vruchtkleur, vruchtgrootte, bladkleur, bladgrootte, verticale resistentie. Op deze eigenschappen heeft het milieu weinig invloed. Dat is anders met bijvoorbeeld opbrengst waar de invloed van het milieu waarschijnlijk net zo groot is als die van het genotype. Als een unieke zaailing toevallig op een slechte plaats staat, presteert deze heel matig, terwijl de plant het op een goed plekje uitstekend zou doen.

Om te kunnen selecteren op kwantitatieve eigenschappen zoals productie, smaak, houdbaarheid, bewaarbaarheid, winterhardheid, hebben we meer planten nodig. Dit wordt gerealiseerd door van elke goed uitziende zaailing een kloontje te maken. Zo'n kloontje zegt dan iets meer, op grond waarvan weer geselecteerd kan worden. Er vallen zo steeds klonen af en de overblijvende klonen worden groter door voortdurende vegetatieve vermeerdering. Tot slot kunnen de goede klonen op verschillende plaatsen worden beproefd (proeftuinen, buitenlandse teststations) in vergelijking met standaardrassen. De allerbeste kan men dan aanmelden voor kwekersrecht. De vermeerdering van het ras is dan al in volle gang om de telers van voldoende materiaal te kunnen voorzien.

Hoewel de praktijk gecompliceerder is, wordt in de literatuur een drietal methoden van selectie genoemd.

In de *tandemselectie* selecteer je eerst op eigenschap 1, de overgebleven planten zodra dat mogelijk is op eigenschap 2, enzovoorts. Wanneer daarbij de niet-geselecteerde planten steeds worden verwijderd is het niet meer mogelijk selectiecriteria bij te stellen. Een plant die alleen voor de eerst te beoordelen eigenschap slecht is en verder goed, valt direct al af. Het is verstandig te starten met eigenschappen die een hoge heritability hebben en vervolgens pas over te stappen naar meer kwantitatieve eigenschappen. Zuiver toegepast is het een hele duidelijke en simpele methode, alles wat niet goed is gaat weg en er is geen ingewikkelde administratie nodig.

De *independent culling* methode houdt in dat je op alle eigenschappen tegelijk selecteert. Voor elke eigenschap is een drempelwaarde (independent culling level) vastgesteld, waaraan de plant voor de betreffende eigenschap minimaal moet voldoen. Het is verstandig de drempelwaarden niet te hoog te stellen om het afvallen op basis van 1 slechte eigenschap te voorkomen.

Indexselectie houdt in, dat je eerst alle planten beoordeelt op alle te beoordelen eigenschappen. Per eigenschap wordt een wegingsfactor gegeven die het belang van de betreffende eigenschap onderstreept en vervolgens wordt de totaalscore van alle planten berekend. Afhankelijk van de ruimte/tijd die je hebt kun je bijvoorbeeld de beste 10 % planten op totaalscore aanhouden. Deze methode benadert de praktijk het beste omdat slechte eigenschappen gecompenseerd kunnen worden door goede.

In werkelijkheid komt een combinatie van genoemde de drie methoden voor. Je kunt je voorstellen dat de aanwezigheid van een bepaalde resistentie een must is in een bepaald programma. In feite pas je tandemselectie toe wanneer je de vatbare planten na de resistentietoets weggooit. Vervolgens zijn er vast wel enkele eigenschappen waarvoor je uitstekend een ondergrens kunt bedenken (independent culling methode) en enkele andere

waarvoor je de beste combinatie zoekt, waarbij de ene eigenschap belangrijker kan zijn dan een andere en ook compensatie mogelijk is (indexselectie).

Het veredelen van vegetatief vermeerderde gewassen kan lang duren (10-30 jaar) wanneer sprake is een lange generatieduur, selectie op eigenschappen die pas na de bloei zichtbaar zijn en selectie op kwantitatieve eigenschappen. Voorbeelden daarvan zijn de veredeling van aardappel, appel en tulp. Anderzijds is er een grote groep gewassen waarvan binnen een jaar bloeiende zaailingen kunnen worden beoordeeld op vooral kwalitatieve eigenschappen, zoals roos, gerbera and chrysant.

1.10 Selectie op kwantitatieve eigenschappen

1.10.1 Inleiding

Kenmerkend voor eigenlijk alle plantensoorten is het optreden van grote fenotypische variatie, die een gevolg kan zijn van genetische verschillen, milieu-invloeden of beide. In dit onderdeel wordt vooral ingegaan op de kwantitatieve eigenschappen en de manier waarop men in de veredeling daar mee omgaat.

Aangenomen wordt dat de basisbegrippen uit de (kwantitatieve genetica), zoals heritability, genetische varia(n)tie en milieu-varia(n)tie, koppeling en correlatie, bekend zijn. In deze paragraaf wordt verder ingegaan op componenten van genetische variatie, onderscheid tussen heritability in broad en narrow sense, het begrip breeding value, selectie-intensiteit en – respons.

1.10.2 Componenten van genetische variatie

Tot nu toe zijn alle geneffecten op een hoop geveegd, voor een goed begrip van wat er gebeurt bij bijvoorbeeld kloonselctie en massaselectie, is het van belang verschillende componenten te onderscheiden.

Voor 1 locus kan onderscheid worden gemaakt tussen *additieve genwerking* (bekend als intermediaire erfelijkheid), *onvolledige dominantie*, *volledige dominantie* en *overdominantie* (een van de verklaringen voor heterosis). De verschillen en overeenkomsten tussen genwerkingen staan in het volgende overzicht. De getallen op de fenotypeschaal kunnen bijvoorbeeld absolute waarden zijn voor de aanwezigheid van anthocyaan. 0,0 is dan wit, 0,5 licht-rose, 1,0 rose, 1,5 licht-rood, 2,0 rood en 2,5 donker-rood.

Tabel 1.1. Plaats van de genotypen op een fenotypeschaal.

Fenotypeschaal	Additieve genwerking	Onvolledige dominantie	Volledige dominantie	Overdominantie
0,0	-aa-	-aa-	-aa-	-aa-
0,5		-Aa-		
1,0	-Aa-	of		
1,5		-Aa-		
2,0	-AA-	-AA-	-Aa- en -AA-	-AA-
2,5				-Aa-

De genetische variantie bestaat dus deels uit variantie veroorzaakt door de additieve component en deels uit variantie veroorzaakt door de dominantiecomponent.

Voor een veredelaar is het heel nuttig te weten of er in zijn populatie vooral sprake is van additieve genwerking of dat dominantie belangrijk is. Alleen bij kloonselectie komen alle typen genwerkingen in de volgende generatie terug. Eigenlijk is de volgende generatie geen volgende generatie omdat er geen sprake is van generatieve vermeerdering. Wat dat betreft is kloonselectie de makkelijkste selectiemethode.

In geval van overdominantie wordt snel duidelijk dat selectie van de beste planten niet tot verbetering leidt bij door zaad vermeerderde gewassen, terwijl er wel genetische variatie is omdat de heterozygote planten telkens weer uitsplitsen in dezelfde verhoudingen. Kloonselectie of het maken van hybriden ligt dan voor de hand.

Voor 2 (en meer) loci kan naast additieve en en dominantie-effecten ook interactie tussen de genenparen (*epistasie*) een rol spelen. In onderstaande schema's is steeds de fenotypische waarde weergegeven in verschillende situaties. Aangenomen is dat zowel locus a als locus b in homozygoot-dominante vorm 2 eenheden bijdragen aan de eigenschap.

A/a en B/b additief

	-bb-	-Bb-	-BB-
-aa-	0	1	2
-Aa-	1	2	3
-AA-	2	3	4

A/a dominant en B/b additief

	-bb-	-Bb-	-BB-
-aa-	0	1	2
-Aa-	2	3	4
-AA-	2	3	4

A/a en B/b dominant

	-bb-	-Bb-	-BB-
-aa-	0	2	2
-Aa-	2	4	4
-AA-	2	4	4

A/a dominant, B/b additief en recessieve epistasie

	-bb-	-Bb-	-BB-
-aa-	0	0	0
-Aa-	2	3	4
-AA-	2	3	4

In het laatste voorbeeld bestaat de genetische variantie bestaat deels uit variantie veroorzaakt door de additieve component, deels uit variantie veroorzaakt door de dominantiecomponent en deels uit variantie als gevolg van de interactiecomponent (het epistatische effect).

1.10.3 Heritability in broad sense

Bij de reeds bekende heritability ging het, zonder dat dat werd aangegeven, om de zogenaamde *heritability in broad sense*. Dat wil zeggen dat alle genetische varia(n)tie meegenomen wordt om de heritability uit te rekenen. Alleen in geval van kloonselectie kun je alle componenten van genetische varia(n)tie selecteren. Zoals bekend kan de heritability variëren tussen 0 (geen genetische variatie en dus is het zinloos om te selecteren) en 1 (uitsluitend genetische variatie en geen milieu-invloed).

Een voorwaarde voor succes in de veredeling is de aanwezigheid van voldoende genetische variatie. Daarom worden meestal zoveel mogelijk verschillende genotypen met elkaar gecombineerd bij de start van het veredelingsprogramma. Het is opmerkelijk te zien dat regelmatig toch wordt geselecteerd in 'populaties' zonder genetische variatie zoals:

- selectie op boongrootte in een zelfbevruchter
- selectie van de beste hybride-aspergeplant, hybride-tomatenplant of chrysantenplant en verdere vegetatieve vermeerdering.

Schatting van de heritability helpt de veredelaar bij het kiezen van de beste, voordeligste of snelste selectiemethode. Zo is het natuurlijk onzin om een gewarde blokkenproef te doen bij de selectie op witte of rode bloemen met een heritability van 1 (kwalitatieve eigenschap dus). Wil je bij aardappel het zetmeelgehalte via selectie verhogen dan is een eenvoudige gewarde blokkenproef op 1 locatie bijna zinloos. Er is veel meer voor nodig om redelijk betrouwbaar betere typen te vinden.

Veronderstel dat we de heritability van drie eigenschappen bij de gerbera willen weten, bijvoorbeeld bloemproductie in aantal bloemen per plant, steellengte en bloemdiameter. Gerbera's kunnen met behulp van in vitro technieken vegetatief worden vermeerderd. De proefopzet ziet er bijvoorbeeld als volgt uit; een aantal klonen wordt paarsgewijs met elkaar gekruist en van iedere kruising worden 100 zaailingen (willekeurig gekozen) tot klonen vermeerderd. Laten we 1 kruising verder volgen. Van iedere kloon worden 20 planten uitgezet in veldjes van 10 planten (2 parallellen). De ouders komen meermalen in de proef voor, elk 10 keer. In totaal zijn er 220 veldjes van ieder 10 planten. Per veldje wordt het aantal geogste bloemen, de steellengte en de bloemdiameter bepaald. De laatste twee aan een aantal, niet alle, bloemen die aselekt worden gekozen. De ouderveldjes komen geward voor over het proefveld.

De resultaten staan in de volgende tabel . Hierin zijn de gegevens van de eerste 10 klonen weergegeven evenals de gemiddelden van de 100 klonen en van de beide ouders P_1 en P_2 . Men kan een variantie-analyse op de gegevens van de 100 klonen toepassen. De resultaten daarvan staan in de daaropvolgende tabel. Hieruit kan men de heritability in broad sense voor de drie eigenschappen schatten.

In de tabel valt op dat zowel voor het aantal bloemen als voor de steellengte, het gemiddelde van de klonen (die ontstaan zijn na kruising van $P_1 \times P_2$) lager is dan beide ouders, voor alle eigenschappen is de F_1 minder dan het gemiddelde van de ouders. Kun je dat verklaren?

Tabel 1.2. Waarnemingen van 3 eigenschappen aan 100 gerberaklonen en hun ouders in de parallellen I en II.

Kloon	Aantal bloemen per plant		Steellengte in cm		Bloemdiameter in mm	
	I	II	I	II	I	II
1	12	18	28	36	102	98
2	26	20	38	32	86	82
3	8	28	44	48	98	98
4	30	32	38	40	74	76
5	12	8	45	47	95	101
6	23	21	44	38	82	84
7	24	10	34	32	86	94
8	16	18	34	43	96	90
9	26	14	42	37	80	84
10	4	16	46	38	100	92
Gemiddeld (n=100)	18,0	18,6	39,1	39,8	89,6	90,4
P1	21,4	21,6	46,2	46,9	86,4	86,8
P2	27,2	27,6	40,4	40,6	94,0	94,8

Tabel 1.3. Variantie-analyse voor 3 eigenschappen van 100 gerberaklonen.

Variatiebron	Df	Aantal bloemen		Steellengte		Bloemdiameter		Schatting voor de variantie
		Kwadr. som	Gem.k. som	Kwadr. som	Gem.k. som	Kwadr. som	Gem.k. som	
Klonen	99 (a-1)	7323	74,0	3874	39,1	12938	130,7	Ve + b*Vg
Parallellen	1 (b-1)	2		3		3		
Proeffout	99	5120	51,7	1652	16,7	1277	12,9	Ve
Totaal	199	12445		5529		14218		

Ve = milieu-invloed, proeffout

Vg = genetische variatie

De gemiddelde kwadratensom voor klonen is een schatting van de proeffout (Ve)+2*Vg. De gemiddelde kwadratensom voor de proeffout kan direct worden afgelezen. De genetische variatie voor de 3 eigenschappen kan dus eenvoudig worden uitgerekend:

Genetische variantie voor aantal bloemen = 11,15

Genetische variantie voor steellengte = 11,20

Genetische variantie voor bloemdiameter = 58,90

De heritabilities zijn dan voor:

aantal bloemen = 0,18

steellengte = 0,40

bloemdiameter = 0,82

De heritability's lopen dus sterk uiteen. Selectie voor aantal bloemen is zeer lastig, voor bloemdiameter niet moeilijk. De ouders waren voor deze schattingen niet nodig. Maar een kweker wil ook graag weten wat de F1's doen in relatie tot de ouders. Het gemiddelde van de nakomelingschap toont een sterkere terugval in vergelijking met de ouders (die geselecteerd waren voor het grote aantal, vrij langgesteelde, grote bloemen) . Deze terugval is het grootst bij de laagste heritability en het minst bij de hoge heritability, een vaker voorkomend venschijnsel. In de andere kruisingen vindt men vermoedelijk andere heritability's, maar de volgorde, laag, matig, hoog zal ongetwijfeld weer terugkomen.

Een punt dat nog niet ter sprake kwam is, dat de schattingen van de V_g gedaan werden aan de hand van waarnemingen in één milieu. Daardoor worden genotype x milieu-interacties verstrengeld met de genotypische effecten. De hier geschatte V_g is dus eigenlijk de gezamenlijke $V_g + V_{gxe}$ - variantie. Nu is het kasmilieu veel beter (uniform) te regelen dan het milieu in de vollegrond, maar de heritability in broad sense zal wel iets overschat zijn.

1.10.4 Heritability in narrow sense

De *heritability in narrow sense* wordt berekend door niet alle genetische variantie mee te nemen, maar slechts de variantie veroorzaakt door additieve effecten. Aan de hand van een modelpopulatie (tabel 4) wordt een en ander toegelicht. De fenotypische waarde van een plant bestaat uit u (=gemiddelde waarde van de populatie = 20) plus de genotypische waarde (opgebouwd uit additieve, dominantie en interactie-effecten) plus het milieueffect.

Tabel 1.4. Fenotypische, genotypische en andere warden van een modelpopulatie

plant	P Fenotypische waarde	E Milieu- effect	G Genotypische waarde	Breeding value	A Additieve effecten	D+I Niet-addi- ve effecten
A	10	-3	13 (-7)	16 (-4)	-4	-3
B	10	-4	14 (-6)	14 (-6)	-6	0
C	12	-5	17 (-3)	18 (-2)	-2	-1
D	13	-2	15 (-5)	13 (-7)	-7	2
E	14	-6	20 (0)	23 (3)	3	-3
F	16	3	13 (-7)	14 (-6)	-6	-1
G	17	2	15 (-5)	17 (-3)	-3	-2
H	18	4	14 (-6)	16 (-4)	-4	-2
I	18	-5	23 (3)	22 (2)	2	1
J	19	0	19 (-1)	21 (1)	1	-2
K	19	0	19 (-1)	20 (0)	0	-1
L	21	0	21 (1)	18 (-2)	-2	3
M	21	0	21 (1)	23 (3)	3	-2
N	22	5	17 (-3)	15 (-5)	-5	2
O	22	-4	26 (6)	26 (6)	6	0
P	23	-2	25 (5)	27 (7)	7	-2
Q	24	-3	27 (7)	25 (5)	5	2
R	26	6	20 (0)	19 (-1)	1	1
S	27	2	25 (5)	23 (3)	-3	2
T	28	5	23 (3)	25 (5)	5	-2
U	30	4	26 (6)	24 (4)	4	2
V	30	3	27 (7)	24 (4)	4	3
Gem. (u)	20	0	20 (0)	20 (0)	0	0
Kwadr.som	768	288	480		395	85

Waarden zonder () zijn inclusief 'u', de waarden tussen () zijn exclusief 'u'

De heritability in broad sense is in deze modelpopulatie $480/768 = 0,625$.

De heritability in narrow sense is in deze modelpopulatie $395/768 = 0,514$

1. Massaselectie (kruisbevruchter).

De 6 beste planten (q, r, s, t, u, v) worden geselecteerd en bloeien gezamenlijk af. De verwachting is dat het gemiddelde waarde van de nakomelingen van deze 6 planten gelijk is aan 20 (het populatiegemiddelde) plus het gemiddelde van de additieve effecten (3,3) en dus uitkomt op 23,3

2. Selectie op algemene combinatiegeschiktheid.

Alle planten, of desnoods allen de 50% beste planten worden ‘getopcrossed’ en de nakomelingschappen getest. Op basis daarvan worden de planten o, p, q, t, u, en v geselecteerd met een verwachte gemiddelde waarde van de nakomelingschappen van 25,2

3. Kloonselctie.

Als de planten vegetatief worden vermeerderd tot kloontjes in herhalingen, dan is het mogelijk de genotypische waarde van de planten te schatten en dan zullen de 6 beste planten dus o, p, q, s, u en v zijn. De verwachte gemiddelde waarde voor de nakomelingschappen wordt dan 26,0. De vooruitgang via kloonselctie is het grootst omdat alle genetische effecten worden meegeselecteerd.

1.10.5 Breeding value

Onder de breeding value van een plant wordt de som van de gemiddelde genetische waarde en additieve effecten verstaan. Planten met een grote breeding value zullen na kruising in het algemeen goede resultaten geven, anders gezegd een hoge algemene combinatiegeschiktheid hebben. In bovenstaande tabel kun je zien dat planten die er fenotypisch niet goed uitzien (plant e bijvoorbeeld) toch interessant kunnen zijn in kruisingen. Andersom kunnen planten goed scoren (plant r) en toch in kruisingen tegenvallen. De breeding value geeft de waarde van de plant in je veredelingsprogramma weer.

1.10.6 Selectie-intensiteit en -respons

Onder de selectie-intensiteit (S) wordt meestal het percentage planten verstaan dat voor de volgende generatie gaat zorgen. De selectie-intensiteit wordt ook wel uitgedrukt als gemiddelde waarde van de geselecteerde planten in vergelijking met de gemiddelde waarde van de gehele uitgangspopulatie. De selectierespons (R) is de vooruitgang als gevolg van de selectie (uitgedrukt als verschil tussen het gemiddelde van de uitgangspopulatie en het gemiddelde van de nakomelingschap van de geselecteerde planten).

De selectierespons ziet er als formule als volgt uit: $R = k * V_p * h^2$

De k-waarde hangt af van het percentage planten dat wordt geselecteerd:

% geselecteerde planten	2	5	10	20	30
k-waarde	2,64	2,06	1,76	1,40	1,16

V_p is de totale variantie van de uitgangspopulatie en h^2 de heritability.

In onderstaande figuur is te zien dat het selectieresultaat, de selectierespons (R) bij een constante selectie-intensiteit (S) enorm afhangt van de heritability. Bij een grote heritability kunnen eenvoudige selectiemethoden al groot effect hebben.

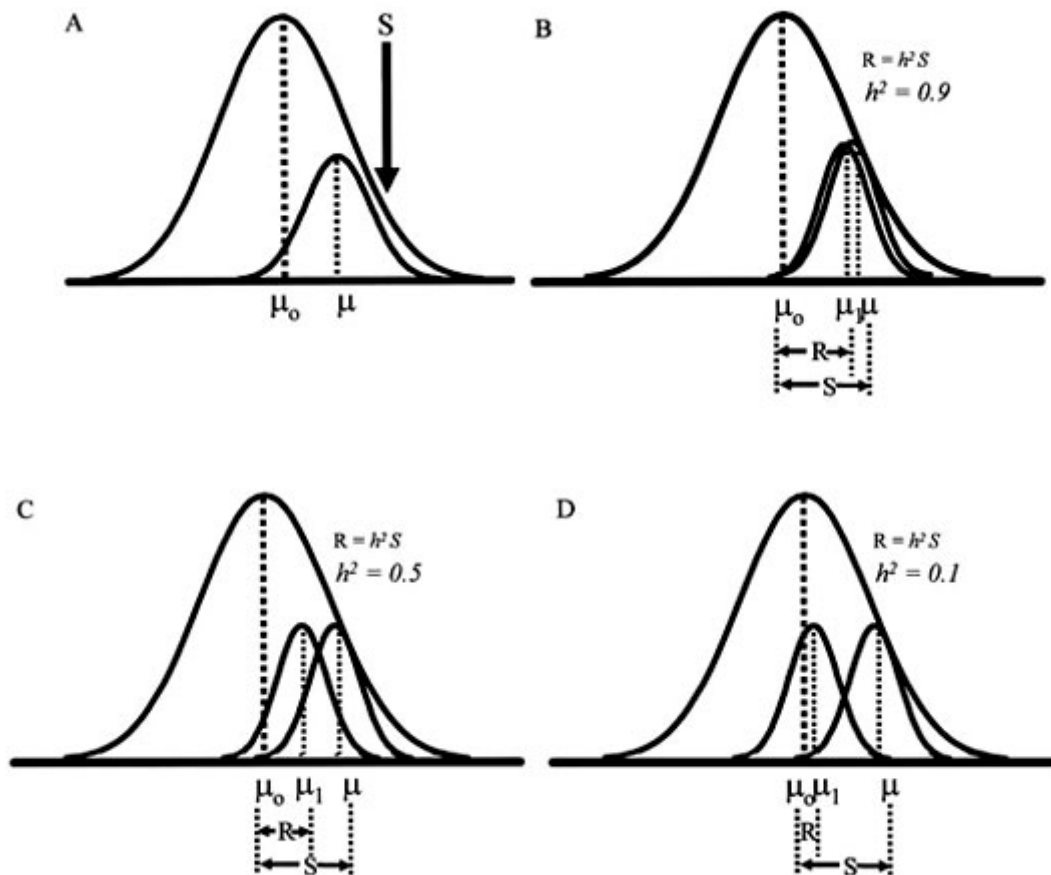


Fig.1.2. Selectieresultaat bij verschillende heritabiliteiten (<http://www.scielo.cl/>).

De heritability in de formule hangt af van de selectiemethode. Bij kloonselectie wordt alle genetisch variatie meegenomen en kan in de formule dus de heritability in broad sense worden gebruikt. In alle andere gevallen wordt de heritability in narrow sense gebruikt.

Op basis van de formule voor R kun je 3 mogelijkheden noemen om de selectieresponse te verbeteren:

1. Het vergroten van de genetische variatie is de eerste. Helaas brengt dat ook de introductie van ongewenste genen met zich mee.
2. Het verhogen van de heritability is soms mogelijk door reductie van milieu-variantie, praktisch vertaald: zoek uniforme proefomstandigheden waar het milieu weinig invloed heeft op verschillen tussen genotypen.
3. Verhogen van de selectie-intensiteit, scherper selecteren is ook een optie, vooral bij vegetatief vermeerderde gewassen en zelfbevruchters. Bij kruisbevruchters is dan natuurlijk wel een grotere kans op inteelt, het verlies van gunstige genen en fixatie van ongunstige genen.
4. Tenslotte zou je kunnen zoeken naar een milieu waarin de verschillen tussen de verschillende genotypen beter tot uitdrukking komen, het zoeken naar een beter discriminerend milieu.

1.10.7 Genotype x milieu interactie

Het fenotype van een plant wordt gedeeltelijk door het milieu bepaald. Op de ene plaats ziet de plant er heel anders uit dan op andere plaatsen. Voor veredelaars die hun veredeling in Nederland doen, is het belangrijk te weten hoe hun nummers zich elders manifesteren. In onderstaande afbeelding is te zien hoe rijstrassen het bij verschillende bemestingsniveaus doen.

De veredeling van granen, inclusief rijst, heeft zich vooral gericht op het maken van rassen die met veel kunstmest hoge opbrengsten geven. Deze rassen hebben korte stevige stengels, terwijl de oude rassen langere stengels hebben die snel legeren. In onderstaande afbeelding kun je zien dat een modern ras als IR8 heel anders reageert op stikstof dan een oud ras als Peta.

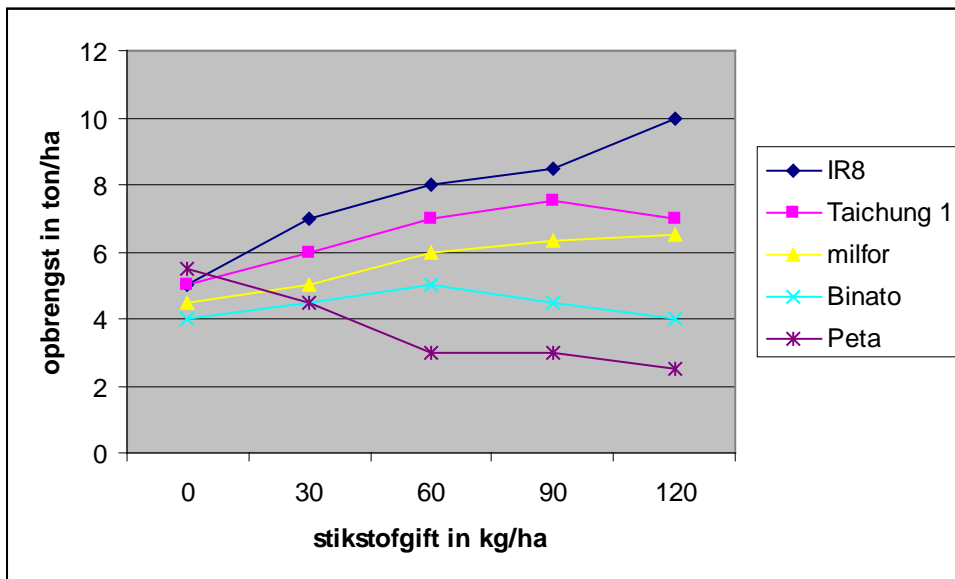


Fig. 1.4. Korrelopbrengst van rijst bij verschillende stikstofbemestingsniveaus (naar Knight, 1979).

Wanneer de lijnen in bovenstaande grafiek parallel zouden lopen, zou er geen genotype x milieu interactie zijn. Het maakt dan niet uit op welke plaats je selecteert, overall scoort hetzelfde ras het hoogst. Bij de rijstrassen doet Peta het beter in ontwikkelingsgebieden en IR8 in ontwikkelde gebieden.

In dit voorbeeld was het 'milieu' stikstofgift, andere voorbeelden zijn temperatuur, zaaidatum, grondsoort, gewasbescherming.

Als één ras het steeds het beste doet, kun je zeggen dat dat ras een groot aanpassingsvermogen heeft. Vaak zijn rassen heel geschikt voor een deel van de potentiële markt omdat ze slechts daar hoog scoren en op andere plaatsen tegenvallen. De genotype x milieu interactie kan via variantie-analyse (SPSS, Genstat) worden berekend.

2. Veredeling van zelfbevruchters en ontwikkeling van hybride-ouderlijnen

2.1 Voorbeelden van zelfbevruchtende gewassen

Veel van onze belangrijke cultuurgewassen zijn zelfbevruchters. Van de tuinbouwgewassen zijn dat onder andere sla, tomaat, erwt, boon, paprika, peper, aubergine, tabak, gloxinia, lathyrus en aster, bij de landbouwgewassen zijn veel granen zelfbevruchtend. Onder andere omdat zelfbevruchters zo eenvoudig, al dan niet illegaal, zijn te vermeerderen, zijn van veel gewassen inmiddels hybriderassen gemaakt door de veredelingsbedrijven. Dat geldt bijvoorbeeld voor tomaat, paprika, peper en aubergine.



Afbeelding 2.1. Voorbeelden van zelfbevruchters: tomaat, paprika, veldsla en sla (foto's J. Den Besten).

Wat de bloembioologie betreft is het een vrij homogene groep planten met tweeslachtige bloemen. Het stuifmeel komt daarbij door een bijzondere bloembouw op de stempel(s) van de eigen bloem terecht. Bij sla bijvoorbeeld groeit de stijl met de stempel door een koker van meeldraden heen. Zelfbestuiving is dan verzekerd en meestal ook zelfbevruchting. In extreme gevallen is er zelfs sprake van bestuiving en bevruchting in de (nog) gesloten bloem, *cleistogamie*.

Zelfbevruchters zijn, net als vegetatief vermeerderde gewassen, zeer homogeen. Bij vegetatief vermeerderde gewassen hebben alle planten van een ras hetzelfde (meestal heterozygote) genotype door de vegetatieve vermeerdering. Zelfbevruchters zijn homogeen door hun homozygotie, die automatisch ontstaat na herhaalde zelfbevruchting.

De groep van zelfbevruchtende gewassen verschilt nogal van die van de vegetatief vermeerderde gewassen. Het meest in het oog lopende verschil is de vermeerdering van het eenmaal verkregen ras. Dat geschiedt bij de zelfbevruchters door zaad. Soms is vermenigvuldiging door zaad de enige methode van vermeerdering en is stekken en dergelijke onmogelijk, hoewel door toepassing van in vitro cultuur de meeste zelfbevruchtende gewassen wel vermeerderd en in stand kunnen worden gehouden.

Toch moet op de een of andere wijze zaad worden geproduceerd dat in voldoende mate een homogene nakomelingschap geeft, zodat het predikaat ras op zijn plaats is. Immers de afnemers van het zaad, de plantenkwekers of tuinders willen weten wat ze kopen. Een ras moet een bepaalde zaadvastheid bezitten.

Hoewel zelfbevruchters homozygoot zijn, kunnen door mutaties en spontane kruisbestuivingen nieuwe genotypen ontstaan. In het verleden zijn deze 'nieuwigheden' wel vermeerderd, waardoor verschillende oude rassen zijn ontstaan. Zo hadden veel Zeeuwse boeren hun eigen rassen van bruine en witte bonen. Als niet wordt geselecteerd, maar alleen wordt vermeerderd, ontstaan rassen van zelfbevruchters met enige variatie, de zogenaamde landrassen. Landrassen bevatten meestal een mix aan genotypen waardoor de oogst zelden mislukt, maar ook niet bijzonder groot is. Dit soort landrassen is vaak een bron van interessante genetische informatie en variatie.

2.2 Massale vermeerdering

Een willekeurige plant van een zelfbevruchtend gewas kan voor een bepaalde eigenschap homozygoot of heterozygoot zijn. Oogst men zaad van deze ene plant en zaait men dit uit, dan zullen de planten die hieruit groeien homozygoot zijn voor de eigenschappen waarvoor de moederplant ook homozygoot was en uitsplitsen voor de eigenschappen waarvoor de moederplant heterozygoot was. We weten dit zo zeker omdat het eigen stuifmeel op de eigen stempel terecht komt en de bevruchting tot stand brengt.

Wanneer we nu zaad oogsten van de nakomelingen (en ervan uitgaan dat alle genotypen in gelijke mate bijdragen aan de volgende generatie, dat wil zeggen, evenveel zaad leveren), krijgen we het volgende beeld zoals weergegeven in figuur 2.1.

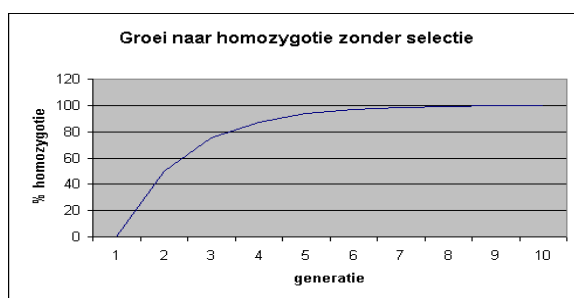


Fig. 2.1. Groei naar homozygotie bij 1 uitsplitsend genenpaar.

Het aandeel homozygoten gaat zeer snel naar 100 %. Iedere generatie wordt het percentage heterozygote planten gehalveerd; het percentage homozygote planten stijgt en heeft in de F_4 al een acceptabel niveau bereikt: van elke 100 planten zijn er 87 tot 88 homozygoot en leveren ook weer homozygote nakomelingschappen (bij 1 uitsplitsend genenpaar).

Bij zelfbevruchters leidt massale vermeerdering van een F_2 naar volgende generaties tot het ontstaan van homozygote planten. Het aantal verschillende genotypen dat uiteindelijk ontstaat is afhankelijk van de in de F_2 aanwezige genetische variatie, natuurlijke selectie en de vermeerderingscoëfficiënt. Wanneer in de F_2 1 factor uitsplitst verwachten we uiteindelijk maximaal 2 homozygoten, bij 2 splitsende factoren 4 homozygoten en in het algemeen 2^n homozygoten. Het aantal werkelijk gevonden homozygoten is onder andere als gevolg van koppeling meestal minder dan berekend.

Natuurlijke selectie speelt vooral een rol als planten elkaar kunnen verdringen of ziekten een rol spelen tijdens de selectieprocedure. Natuurlijke selectie kan bij resistentieveredeling heel goed een handje helpen, in andere programma's werkt de natuurlijke selectie veelal tegengesteld aan wat de veredelaar wil bereiken. In het algemeen is natuurlijke selectie niet gewenst omdat de veredelaar dat niet kan sturen.

Afwijkingen van de verwachte groei naar homozygote lijnen kunnen zich ook voordoen wanneer de vermeerderingscoëfficiënt van de diverse genotypen niet gelijk is. Wanneer de heterozygoot Aa een grotere vermeerderingscoëfficiënt heeft dan de homozygoten AA en aa , zal de groei naar homozygotie van generatie op generatie langzamer lopen, maar het uiteindelijke resultaat is niet afwijkend. Wanneer de homozygoten een kleine vermeerderingscoëfficiënt hebben, zal de groei naar homozygotie langzamer verlopen en de homozygoot met de geringste vermeerderingsfactor zal het minst (of helemaal niet) voorkomen. Dit soort zaken heeft natuurlijk een rol gespeeld bij de 'evolutie' van landrassen en bij de evolutie van wilde soorten.

Hebben we op een gegeven moment een goede homozygote plant dan kunnen we deze generatief vermeerderen. We noemen dat een lijn, of een lijnras. In de nakomelingschap zullen dan alle planten dezelfde goede eigenschappen hebben als de moederplant, behoudens mutaties die kunnen optreden en eventueel vreemd stuifmeel dat roet in het eten gooit (zoals bij kruisbevruchters). Rassen van zelfbevruchters zijn dus in principe homozygoot en enorm uniform. Soms, in traditionele landbouwstreken, treft men nog zogenaamde landrassen van zelfbevruchters aan, die in feite een verzameling van verschillende homozygote lijnen bevat. In deze landrassen is (een deel van) de natuurlijke variatie uit het betreffende gebied bewaard gebleven. In Nederland zijn waarschijnlijk alle landrassen vervangen door de moderne lijn- of hybriderassen.

2.3 Het kweken van een lijnras

Voor het maken van een nieuw ras van een zelfbevruchter zijn verschillende technieken beschikbaar. Gaat het slechts om het inbouwen van 1 nieuwe eigenschap dan is de meest voor de hand liggende methode herhaalde terugkruising, gaat het om een echt nieuw ras dan is een combinatiekruising de start van het programma. Er zijn verschillende selectiemethoden om snel ons nieuwe ras homozygoot in handen te krijgen. Deze methoden worden in het vervolg van dit hoofdstuk beschreven. In onderstaande alinea's staat wat er gebeurt als we niet meteen selecteren, maar de natuur een paar generaties zijn gang laten gaan.

Willen we een nieuw ras maken dan kiezen we uit ons materiaal twee ouders die ieder al een aantal goede eigenschappen bezitten. Door middel van een combinatiekruising proberen we dan om de goede eigenschappen van beide ouders in één plant te verenigen en wel in homozygote toestand. Gaan we uit van twee homozygote ouders, dan zal de F₁ homogeen zijn, maar voor een aantal eigenschappen wel heterozygoot. We kunnen deze F₁ in de volgende generaties laten uitmenden. Belangrijk is nu de vraag in welke generaties we een behoorlijk aantal homozygote planten kunnen verwachten.

Wanneer beide kruisingsouders in n eigenschappen van elkaar verschillen zal het aandeel van de homozygoten in generatie F er als volgt uitzien:

$$\text{Aandeel homozygoten} = \left[1 - \left(\frac{1}{2} \right)^{F-1} \right]^n = \left[\frac{2^F - 2}{2^F} \right]^n$$

Natuurlijk zal de groei naar homozygotie veel minder snel verlopen naarmate de ouders in meer genenparen verschillen. Bij 10 onafhankelijke factoren hebben we in de F₅ al 52,5 % homozygote planten. Zelfs bij honderd onafhankelijk overervende verschilfactoren (wat gezien het beperkte aantal chromosomen van planten nogal veel is) is na ongeveer 8 generaties al ongeveer de helft van de planten homozygoot. Bij al deze theoretische beschouwingen dienen we wel rekening te houden met de aanname dat geen selectie is uitgevoerd en dat alle genotypen evenveel aan de volgende generatie bijdragen.

2.4 Massaselectie

Massaselectie is een eenvoudige methode om bij zelfbevruchters toch nog redelijk snel vooruitgang te boeken. Het principe is dat van alle goede planten zaad wordt geoogst en dat in de volgende generaties steeds weer zaad wordt geoogst van alle goede planten. Langzaam maar zeker ontstaat een groep planten met verschillende homozygote genotypen, waaruit uiteindelijk het beste genotype (via andere selectiemethoden) geselecteerd wordt als ras.

Hoewel massaselectie redelijk snel gaat, duurt het wel even voordat alle heterozygoten uitgesplitst zijn. Planten die er goed uitzien (fenotype) kunnen een heterozygoot genotype hebben dat in de volgende generatie weer uitsplitst. Selectiemethoden die op genotype selecteren zijn daarom efficiënter.

In de praktijk en in de literatuur wordt gesproken over negatieve en positieve massaselectie. Negatieve massaselectie is het verwijderen van de ongewenste planten uit een generatie en positieve massaselectie is het selecteren en aanhouden van de goede planten. In principe is er geen verschil tussen aanhouden van goede of verwijderen van slechte planten, maar in de praktijk betekent negatieve massaselectie meestal dat beperkte aantallen slechte planten verwijderd worden en positieve massaselectie dat beperkte aantallen goede planten worden geselecteerd en dus heel veel slechte planten weggaan.

De eigenschappen waarop geselecteerd wordt zijn soms al voor de bloei zichtbaar, zoals de meeste wortel-, blad- en stengeleigenschappen. Bij bijvoorbeeld wortel en sla betekent dat dat je heel veel eigenschappen voor de bloei kunt selecteren en de slechte planten geen stuifmeel leveren en geen zaad produceren. Een kropsla kan op bijna alle belangrijke

eigenschappen voor de bloei worden beoordeeld. Gewassen waarvan we de vruchten of zaden uiteindelijk verkopen, zijn pas na de bloei op een aantal belangrijke eigenschappen te beoordelen. Voor alle gewassen geldt dat zaadeigenschappen als kiemkracht pas na de bloei zijn te beoordelen. Bij de zelfbevruchters betekent dat dat alle planten moeten bloeien en dat je van alle planten vruchten en zaden moet oogsten en beoordelen. Omdat het zelfbevruchters zijn, kun je na de bloei de slechte genotypen weggooien zonder dat de volgende generatie daar last van heeft (er is immers geen kruisbestuiving). Bij kruisbevruchters is dat natuurlijk wezenlijk anders.

Uitgaande van dominant-recessieve erfelijkheid (en volledige dominantie van A over a) is er wel een verschil tussen selectie op een dominante en selectie op een recessieve eigenschap.

Kruising: aa x AA

F₁: 100% Aa

F₂: ¼ aa + ½ Aa + ¼ AA

Bij dominant-recessieve erfelijkheid is geen onderscheid tussen Aa en AA te zien. Wanneer geselecteerd wordt op het dominante type, blijven Aa-planten nog lang uitsplitsen, terwijl het aa-type er meteen uitgehaald kan worden en in de F₃ al zuiver is. Selectie op het dominante type gaat als volgt verder (de aa-planten worden verwijderd en de generatie heet dan F₂'^o):

F₂'^o: 2/3 Aa + 1/3 AA

F₃: 1/6 aa + 2/6 Aa + 3/6 AA

F₃'^o: 2/5 Aa + 3/5 AA

F₄: 1/10 aa + 2/10 Aa + 7/10 AA

Bedenk bij alle voorbeelden van selectiemethoden in dit hoofdstuk steeds dat de praktijk een stuk ingewikkelder kan zijn omdat:

- heel vaak op meer dan 1 eigenschap wordt geselecteerd en de frequentie van het gewenste genotype dus lager is
- goede eigenschappen soms gekoppeld zijn aan ongewenste eigenschappen en dat bij een sterke koppeling nauwelijks gewenste planten worden gevonden
- milieu-invloed een rol kan spelen bij de genexpressie, soms zo veel dat je moeilijk kunt selecteren.

2.5 Pedigree- en lijnselectie

In de Engelse literatuur wordt een onderscheid gemaakt tussen 'pure-line selection' en 'pedigree selection'. De 'pure-line selection' begint te selecteren in een mengsel van homozygote lijnen. Van elke geselecteerde plant wordt het zaad het volgende jaar in aparte rijtjes uitgezaaid. Rijtjes die afwijkende planten vertonen worden verwijderd en van de overige rijen, wordt van de beste planten weer apart zaad geoogst en verder getest op opbrengst en andere belangrijke eigenschappen.

‘Pedigree selection’ start met het maken van een kruising, gevolgd door het selecteren van individuele planten in de F_2 . Van de beste planten wordt het zaad apart geoogst en als rijtje uitgezaaid. Van de beste rijtjes wordt van de beste planten weer zaad geoogst en uitgezaaid als rijtjes binnen een familie. Enzovoorts.

In het vervolg wordt met de term ‘lijnselectie’ eigenlijk ‘pedigree selectie’ bedoeld.

Lijnselectie is de methode die het snelst homozygoot-dominanten oplevert. Lijnselectie houdt in dat er lijnen worden gemaakt en beoordeeld. Het voorkomen van ongewenste genotypen in een lijn leidt tot het verwijderen van de gehele lijn. Een lijn is de generatieve nakomelingschap van een zelfbevruchte plant.

De procedure komt er op neer dat we een aantal fenotypisch goede planten uitkiezen en van iedere geselecteerde plant apart zaad oogsten. Dat houdt dus in dat elke geselecteerde plant van een nummer wordt voorzien, dat van elke geselecteerde plant apart zaad wordt geoogst en bewaard, het zaad van elke zo ontstane lijn apart wordt uitgezaaid en gecodeerd. De methode werkt zeer snel, maar brengt ook veel werk met zich mee.

Kruising: $aa \times AA$

F_1 : $100\% Aa$

F_2 : $\frac{1}{4} aa + \frac{1}{2} Aa + \frac{1}{4} AA$

F_2' : $\frac{2}{3} Aa + \frac{1}{3} AA$

In de F_2 worden de recessieve planten verwijderd en op elk van de overgebleven planten wordt het zaad apart, als lijn, geoogst. In de F_3 worden deze lijnen apart uitgezaaid en treffen we goede en nog uitsplitsende lijnen aan. De laatste worden verwijderd en van de goede lijnen wordt weer zaad geoogst.

F_3 : $\frac{2}{3} (\frac{1}{4} aa + \frac{1}{2} Aa + \frac{1}{4} AA) + \frac{1}{3} (AA)$

F_3' : $100\% AA$

F_4 : $100\% AA$ lijnen

Er zijn in de F_3 twee verschillende typen lijnen te onderscheiden; het aantal aanwezige lijnen hangt af van het aantal F_2 -planten waarvan zaad wordt geoogst.

In de praktijk wordt nooit uitsluitend op één factor geselecteerd. Er zullen immers maar weinig kruisingsouders zijn die slechts in één factor van elkaar verschillen. Het aantal planten met het gewenste fenotype (of genotype) is afhankelijk van het aantal splitsende factoren (n). Wanneer één factor uitsplitst, heeft $\frac{3}{4}$ van de F_2 het gewenste fenotype en $\frac{1}{4}$ het ongewenste fenotype. Bij twee splitsende factoren is dat respectievelijk $\frac{9}{16}$ en $\frac{1}{16}$. In het algemeen $(\frac{3}{4})^n$ gewenste fenotypen en $(\frac{1}{4})^n$ ongewenste fenotypen.

De kans dat het gewenste genotype in de F_2 al aanwezig is, is afhankelijk van het aantal planten in de F_2 . Bijvoorbeeld bij 5 splitsende genenparen zal $\frac{1}{1024}$ deel het gewenste

genotype bezitten. Wanneer nu al lijnselectie wordt toegepast, is de kans groot dat alle lijnen moeten worden weggegooid, omdat het gewenste type niet aanwezig was (een F_2 bestaat in de praktijk meestal niet uit 1000 planten). De gewenste allelen kunnen natuurlijk wel aanwezig zijn geweest in heterozygoten. Door nu één of twee generaties zelfbevruchting toe te passen, is de kans veel groter dat vervolgens met lijnselectie het gewenste genotype wel kan worden geselecteerd.

Bij lijnselectie maakt het, net als bij massaselectie weinig uit of je voor of na de bloei selecteert. De samenstelling van de volgende generatie op het veld of in de kas verandert daardoor niet. Voor selectie op recessieve eigenschappen is massaselectie net zo snel als lijnselectie, voor selectie op dominante eigenschappen is lijnselectie de snelste methode. Het nadeel van de methode is de grote hoeveelheid werk en als op veel verschillende eigenschappen tegelijkertijd wordt geselecteerd, de grote aantallen planten die we nodig hebben.

2.6 Lijnen ontwikkelen via verdubbelde haploïden

Bij verschillende gewassen is het mogelijk om haploïde planten te maken via bijvoorbeeld antherencultuur. Wanneer de methode een beetje succesvol is, kunnen op die manier grote hoeveelheden haploïden worden ontwikkeld. Vaak verdubbelt het ploïdeniveau spontaan, zodat homozygote planten ontstaan. Met behulp van chemicaliën als colchicine en oryzaline kunnen ook chromosomen worden verdubbeld. Op deze wijzen kunnen grote aantallen, genetisch verschillende, volledig homozygote lijnen worden gemaakt. In theorie kun je de rassen er zo uit halen. Omdat het om grote aantallen gaat en de achtergrond vaak niet echt bekend is, is de selectie niet zo eenvoudig.

De methode van de verdubbelde haploïden kan in de plaats komen van massaselectie of lijnselectie om rassen van zelfbevruchters te ontwikkelen. Daarnaast wordt de methode veel gebruikt om ouderlijnen voor hybriden te ontwikkelen.

De methode kan worden toegepast op de F_1 -planten. De F_1 -planten zijn weliswaar genetisch identiek, maar produceren een verscheidenheid aan gameten. Door eerst een paar generaties te selecteren, kan de methode gericht worden ingezet om typen die al behoorlijk in de richting komen van het selectiedoel, snel homozygoot te maken.

2.7 Herhaalde terugkruising

De selectiemethoden die tot dusver besproken zijn, dienen om een nieuw ras te maken dat op een aantal punten (lees genenparen) anders is dan reeds bestaande rassen. Wanneer het gaat om het verbeteren van een bestaand ras op één punt (bijvoorbeeld een resistentie) of eigenschappen uit wilde, verwante soorten worden gehaald, gaan we de na de combinatiekruising ontstane F_1 -planten nogmaals kruisen met het gebruiksras (de recurrent parent of terugkruisingsouder). Het kruisingsproduct dat na een keer terugkruisen ontstaat duiden we aan met T_1 (in de Engelse literatuur B_1 = backcross generation 1). In tegenstelling tot de vegetatief vermeerderde (kruisbevruchtende) gewassen, is er bij de zelfbevruchters geen enkel bezwaar tegen herhaald terugkruisen met dezelfde ouder en kan een ras dus inderdaad (theoretisch) met één enkel gen verrijkt worden.



Afbeelding 2.1. Het effect van herhaalde terugkruising op de vorm van de vrucht. De peper linksonder is de ‘wilde geniteur’ en de paprika rechtsboven is het commerciële ras. Na elke terugkruising verdwijnt de helft van de ‘wilde’ genen (foto J. den Besten).

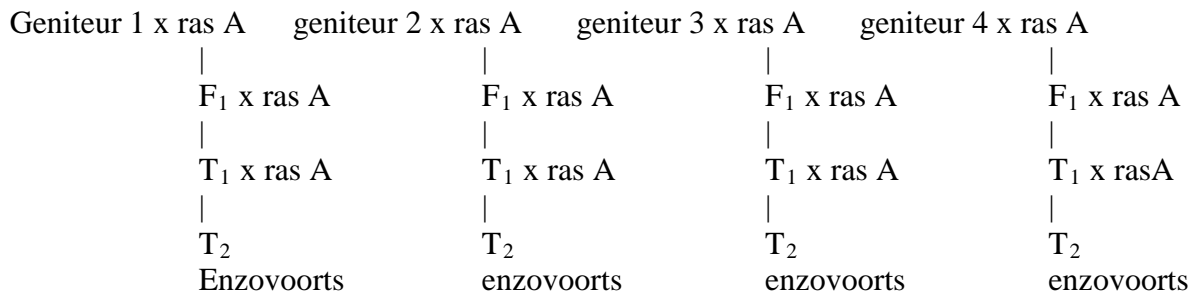
Het aantal terugkruisingen is afhankelijk van het verschil tussen geniteur en terugkruisingsouder. Bij iedere terugkruising raken we gemiddeld de helft van de aanwezige “wilde allelen” kwijt. We gaan door met herhaald terugkruisen totdat we voldoende “wilde allelen” zijn kwijtgeraakt. Uiteraard wordt voortdurend op het behoud van het gewenste “wilde” kenmerk geselecteerd, anders zouden we dat ook kwijt raken.

Het verwijderen van ongewenste planten is soms heel eenvoudig, namelijk wanneer we de gewenste planten snel kunnen herkennen aan bijvoorbeeld de bladvorm, bloemkleur of de aanwezigheid van een resistentie, in het algemeen aangeduid als vóór de bloei te herkennen eigenschappen. We kruisen dan alleen de gewenste planten terug. De situatie is geheel anders wanneer de gewenste planten niet voor de bloei te herkennen zijn, bijvoorbeeld als het gaat om de zaadkleur of vruchtgrootte. Er zit dan niets anders op dan alle planten terug te kruisen en na de kruising een gedeelte van de -reeds gekruiste- planten weg te gooien. Het komt er dan op neer dat vaak de helft voor niets wordt gekruist. In verband met de kosten zal men zoveel mogelijk proberen voor de bloei of beter voor het kruisen te selecteren. Hierbij kun je denken aan het beoordelen van de eerste vrucht op vruchtgrootte of het eerste zaadje op kleur en daarna het kruisen met nog te openen bloemen. Dit lukt uiteraard alleen bij gewassen die meermalig of langdurig bloeien.

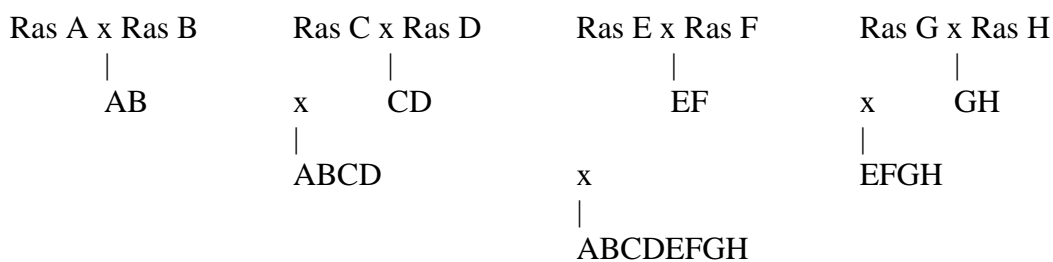
2.8 Convergentiekruisingen en multiple crossing

De tot nu toe besproken selectie- en kruisingsmethoden zijn toepasbaar wanneer de gewenste eigenschappen uit slechts 2 kruisingsouders gecombineerd hoeven te worden. Voor het combineren van eigenschappen uit meer dan 2 geniteurs staan ons in principe twee methoden ter beschikking, namelijk het maken van convergentiekruisingen en multiple crossing.

Convergentiekruisingen houden in dat we een gebruiksras herhaald terugkruisen met een aantal geniteurs die ieder over een of enkele in het gebruiksras ontbrekende en onderling verschillende eigenschappen beschikken. Iedere reeks terugkruisingen wordt afgesloten met lijnselectie en men kruist vervolgens de zo ontstane “*isogene*” lijnen met elkaar om de eigenschappen uit de verschillende geniteurs in een gebruiksras te verenigen. Isogene lijnen zijn lijnen die op slechts 1 eigenschap van elkaar verschillen.



Multiple crossing berust op het twee aan twee kruisen van een groot aantal geniteurs waarvan men een aantal eigenschappen met elkaar wil combineren. De F₁'s kruist men weer onderling en gaat hiermee door totdat planten ontstaan die aan het veredelingsdoel beantwoorden.



hebben. In de praktijk duurt het toetsen van de rassen echter enkele jaren en gaat samen met het opstarten van de vermeerdering van het ras. Zeker bij gewassen als erwt waar de vermeerderingsfactor relatief laag ligt, kost dit nogal wat tijd.

2.10 Instandhouding en vermeerdering

De instandhouding en vermeerdering van zelfbevruchters is relatief eenvoudig omdat alle planten van één ras hetzelfde genotype hebben, tenzij sprake is van mutaties, vermenging of verwisseling.

Mutaties komen ongeveer in heel lage frequentie voor, maar dat betekent wel dat regelmatig gecontroleerd moet worden of het ras nog origineel is, nog aan zijn beschrijving voldoet. Opvallende mutaties, zoals bladchlorofylmutanten en bloemkleurmutanten, zijn natuurlijk eenvoudig te verwijderen (of te selecteren als ze interessant zouden zijn), het is veel moeilijker de weinig afwijkende mutanten te vinden.

Vermenging van partijen kan bijvoorbeeld gebeuren doordat de machines die gebruikt worden bij de zaadoogst of verdere verwerking niet helemaal schoon zijn. In de zaadteelt is de afstand tussen verschillende genotypen van zelfbevruchters heel gering en kunnen stengels met vruchten en zaden door elkaar komen en samen worden afge oogst. Vermenging van geheel verschillende genotypen is snel ontdekt en eenvoudig hersteld, als de rassen erg op elkaar lijken ligt dat moeilijker. Bij zelfbevruchters leidt vermenging gelukkig niet tot verbastering (ongewenste kruising) van de verschillende genotypen. Dat is bij de kruisbevruchters wel een probleem.

Verwisseling van rassen lijkt onwaarschijnlijk, maar op de zaadbedrijven wordt met heel veel verschillende nummers gewerkt en, ondanks alle controle, blijft het mogelijk dat een keer een nummer wordt verwisseld.

Onder instandhouding verstaan we het 'bewaren' van genotypen. Afhankelijk van het type zaad, kan het in een zaadbank of genenbank, enkele tot vele jaren bewaard worden. Gewassen met oliehoudende zaden kunnen minstens 10 jaar bewaard blijven zonder verlies van kiemkracht terwijl zetmeelhoudende zaden na een paar jaar al flink kiemkracht kunnen verliezen. Veel tropische gewassen hebben zogenaamde 'recalcitrante zaden' die je eigenlijk gewoon niet kunt bewaren. Voor de instandhouding van rassen vindt dus regelmatig verversing van het zaad plaats, een beperkte vermeerdering. Omdat bij zelfbevruchters alle planten van een ras hetzelfde genotype hebben, zou theoretisch één kiemend zaadje per ras voldoende zijn. Om allerlei praktische redenen worden natuurlijk grotere hoeveelheden bewaard.

Onder vermeerdering wordt het proces verstaan dat uiteindelijk leidt tot zaadpartijen die aan eindgebruikers worden verkocht. Het gaat meestal om grootschalige zaadteelt. Vanwege de snelle komst van nieuwe rassen, wordt de planning, organisatie en logistiek steeds belangrijker. Om snel in te kunnen spelen op marktfragen worden zaden ook op het zuidelijk halfrond geteeld en om risico's te spreiden wordt één ras meestal op verschillende plaatsen vermeerderd. De zaadteelt van zelfbevruchters is relatief eenvoudig omdat ongewenste kruisbestuiving niet voorkomt. Zaad telen van zelfbevruchters kan iedereen en heel lang hadden bijvoorbeeld Zeeuwse boeren hun eigen selecties van allerlei bonen en erwten. Vanwege de hoge eisen (kiemkracht en gezondheid) die vanuit de moderne teelt aan zaaizaad

worden gesteld, is het niet meer mogelijk zelf zaad te telen. Overigens zijn de klassieke lijnrassen bij veel gewassen inmiddels vervangen door hybriden, die niet zomaar na te telen zijn.

Bij de vermeerdering wordt onderscheid gemaakt tussen kwekerszaad, basiszaad en handelszaad. Kwekerszaad is het zaad dat gebruikt wordt om basiszaad te produceren dat weer gezaaid wordt om handelszaad te produceren. Het handelszaad is het zaad dat de eindgebruiker gebruikt voor de teelt. Afhankelijk van de vermeerderingsfactor van het gewas zijn kleinere of grotere aantallen zaden nodig in de kwekerszaad- en basiszaadfase.

Bij tomaat kun je vanuit 1 kwekerszaadje eenvoudig 10.000 basiszaden produceren die minstens 100.000.000 handelszaden opleveren. Dat is genoeg voor 5.000 ha tomatenteelt. Tomaat heeft een hoge vermeerderingsfactor (minstens 100 zaden per vrucht en met 8 vruchten per tros is 100 vruchten per plant niet eens veel) en in de teelt staan maar een paar planten per m².

Bij bijvoorbeeld granen kun je van 1 kwekerszaadje slechts 50-100 basiszaden produceren die ook maximaal maar 10.000 handelszaden opleveren. Om 1 ha graan in te zaaien heb je 2-3 miljoen zaden nodig en om die redenen vermeerderen akkerbouwers zelf een deel van hun zaad. De eigen vermeerdering gebeurt met toestemming van de eigenaar van het ras en gebeurt beperkt omdat de zaadkwaliteit terugloopt.

De zaadteelt wordt gecontroleerd door de NAK(tuinbouw) die ook kwaliteitseisen formuleert. De eisen die gesteld worden aan kwekerszaad zijn daarbij hoger dan de eisen die aan handelszaad worden gesteld. Controle vindt ook vooral plaats bij de productie van kwekers- en handelszaad. Het idee daarachter is dat als dat in orde is, de kwaliteit in de handelsfase bijna automatisch ook in orde zal zijn.

2.11 Selectie op kwantitatieve eigenschappen.

De belangrijkste aspecten van selectie op kwantitatieve eigenschappen zijn reeds besproken bij de veredeling van vegetatief vermeerderde gewassen.

Kwantitatieve eigenschappen berusten op diverse genenparen. In veredelingsprogramma's gaat men dan gewoonlijk ook uit van meer dan twee kruisingsouders, waarvan de gunstige allelen bij elkaar worden gebracht. In principe is de techniek van multiple crossing hiervoor geschikt.

Wanneer voldoende eigenschappen uit de geniteurs bij elkaar zijn gebracht, kan men gaan selecteren. Het selectieresultaat zal sterk afhangen van de heritability voor de betreffende eigenschap. Omdat de kruisingspopulatie waarin men selecteert altijd te klein is om bij kwantitatieve eigenschappen alle genencombinaties te kunnen bevatten, leidt voortgezette zelfbevruchting en selectie meestal niet tot het beste resultaat. Zeker wanneer de indruk bestaat dat de planten in de kruisingspopulatie tegenvallen, is het zinvol de beste planten onderling te kruisen en uit de nakomelingen weer de beste planten te selecteren etcetera. De bedoeling hiervan is dat gunstige eigenschappen bij elkaar worden gebracht. Tevens worden de planten homozygoter omdat steeds verwante planten worden gekruist. Er dient steeds ruim te worden geselecteerd om niet teveel gunstige eigenschappen kwijt te raken.

Meestal begint de veredelaar al vrij snel te selecteren op kwantitatieve eigenschappen. De reden hiervoor is dat tegen de tijd dat we in latere generaties terecht komen, grote aantallen gewenste allelen verdwenen kunnen zijn. Of het werkelijk zinvol is om al zo snel op kwantitatieve eigenschappen te selecteren is moeilijk te zeggen, we hebben dan immers te maken met:

- veel verschillende “lijnen”;
- per lijn weinig planten en dus geen herhalingen;
- grote variatie binnen de lijnen en kleine variatie tussen de lijnen.

In latere generaties zijn de lijnen zelf behoorlijk uniform (homozygoot) waardoor de verschillen tussen de lijnen eerder worden opgemerkt. Bovendien kunnen we herhalingen aanleggen. Een aantal lijnen hebben we al kunnen verwijderen door te selecteren op gewenste kwalitatieve kenmerken.

Kwantitatieve eigenschappen zitten ingewikkeld in elkaar omdat ze uit een aantal componenten zijn opgebouwd, die tezamen die ene eigenschap als bijvoorbeeld productie bepalen. Er is een ontwikkeling gaande om complexe eigenschappen op te splitsen in een aantal componenten om vervolgens op ieder van de componenten apart te selecteren. De selectie wordt dan eenvoudiger en het resultaat (mogelijk) beter.

Componentanalyse wordt toegepast bij selectie op kwantitatieve eigenschappen. Dat gaat meestal niet zo snel omdat er veel genen bij betrokken zijn en het milieu een grote invloed heeft op de genexpressie. Een gecompliceerde, kwantitatieve eigenschap als opbrengst van bijvoorbeeld tomaat, kan opgedeeld worden in een aantal componenten van de opbrengst. Te denken valt aan het aantal trossen, de hoeveelheid vruchten per tros en het gemiddeld vruchtgewicht. De veredelaar kan dan een lijn ontwikkelen met veel trossen, een tweede lijn met veel vruchten per tros en een derde lijn met zware vruchten. Door de eigenschappen van de lijnen te combineren, gaat de opbrengst theoretisch gigantisch omhoog. Door negatieve koppelingen lukt het in de praktijk vaak minder goed dan de theorie doet vermoeden.

3. Veredeling van kruisbevruchters

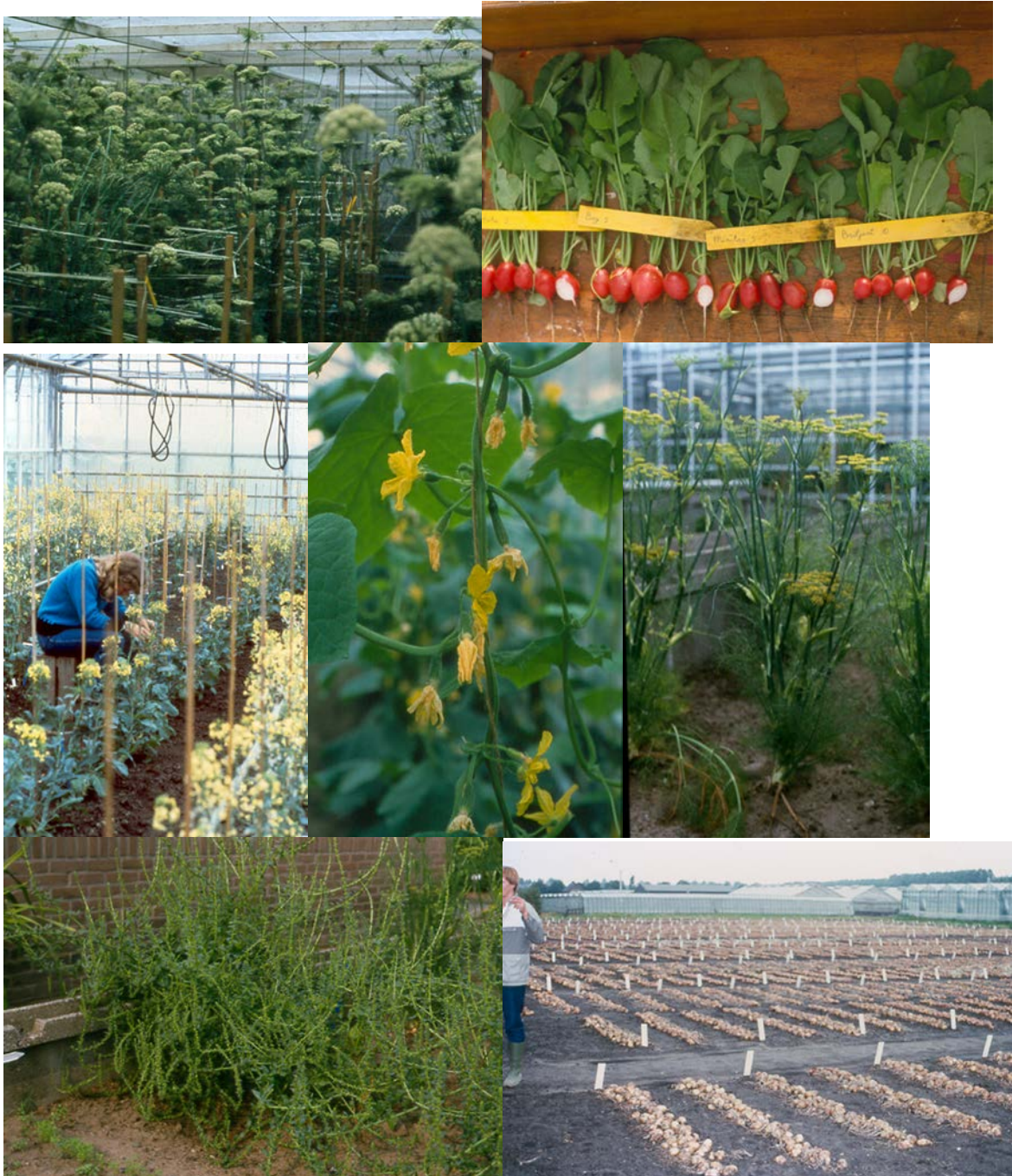
3.1 Voorbeelden van kruisbevruchtende gewassen

Een groot deel van onze cultuurgewassen behoort tot de kruisbevruchters, ook veel wilde planten zijn kruisbevruchters. Planten met bloemen die onopvallend zijn en veel stuifmeel produceren zijn meestal zogenaamde windbestuivers. Het stuifmeel hangt meestal aan meeldraden buiten de bloem en is licht van gewicht zodat het makkelijk door de wind kan worden verspreid. Het is ook het stuifmeel waarvoor mensen allergisch kunnen zijn (gras, berk, wilg). Daarnaast is er een grote groep planten met opvallende bloemen vanwege geur, kleur of aanwezigheid van nectar. Deze groep trekt bijvoorbeeld vliegen (geur) of bijen (kleur, nectar) aan, die via het bloembezoek stuifmeel verspreiden. Bijen en hommels worden om die reden ook wel ingezet om de vruchtzetting te bevorderen bij de teelt van fruitgewassen. Stuifmeel kan overigens ook door water, slakken, vogels (kolibri) en vleermuizen getransporteerd worden.

Voorbeelden van cultuurgewassen die kruisbevruchtend zijn:

- de meeste fruitgewassen (uitsluitend vegetatief vermeerderd)
- suikerbieten, maïs
- kool, witlof, ui, prei, radijs, kroot, komkommer (groenteteelt)
- de meeste snijbloemen (die overigens meestal vegetatief worden vermeerderd)
- veel boomkwekerijgewassen (idem)
- de meeste bloeiende potplanten (idem)

Vanwege de kruisbevruchting zijn de gewassen weinig uniform. In de natuur is dat een voordeel, in de cultuur een enorm nadeel (mechanisatie, uniformiteit, eenmalige oogst). Dat is de reden dat veel kruisbevruchtende gewassen ofwel vegetatief worden vermeerderd ofwel als hybrideras worden verkocht.



Afbeelding 3.1. Enkele kruisbevruchtende gewassen: wortel, radijs, kool, komkommer, venkel, biet en ui (foto's J. den Besten).

3.2 Oorzaken voor kruisbevruchting

Kruisbestuiving (en -bevruchting) wordt op verschillende manieren gestimuleerd en zelfbevruchting tegengegaan of voorkomen. Enkele voorbeelden van dit soort mechanismen zijn:

- Tweehuizigheid waarbij een plant ofwel mannelijk ofwel vrouwelijk is (spinazie, asperge, hennep, kiwi)

- Eenslachtigheid waarbij afzonderlijke vrouwelijke en mannelijke bloemen wel op 1 plant zitten (komkommer, begonia, hazelaar)
- Protandrie en protogynie waarbij (per bloem) eerst de meeldraden (protandrie) of de stampers (protogynie) geslachtsrijp zijn. Protandrie is bekend bij ui, peen, amaryllis, campanula en protogynie bij paardekanstanje, appel en peer.
- Incompatibiliteit waarbij het eigen stuifmeel verhinderd wordt door te groeien in de stempel en stijl en certatie waarbij het vreemde stuifmeel sneller groeit dan het eigen stuifmeel. Het komt voor bij bieten, kool en witlof.

In de veredeling maakt men enerzijds gebruik van de wind en insecten bij de zaadteelt, anderzijds heeft men er ook last van omdat het kan leiden tot ongewenste kruisbevruchting. Met insecten kan men goed uit de voeten omdat je kassen en andere ruimten met planten met behulp van insectengaas relatief eenvoudig kunt isoleren. Insecten vliegen vaak heel gericht en niet heel ver, zodat in de open grond isolatie door afstand aan te houden tussen percelen ook mogelijk is. Vliegen, bijen en hommels zijn voor bestuivingdoeleinden ook gewoon te koop of te huur. In de zaadteeltgebieden zijn ofwel overheidsregels voor de zogenaamde belending (aan te houden afstanden tussen zaadteeltpercelen) of de zaadbedrijven maken die regels onderling. Het voorkomen van windbestuiving is wat lastiger dan het voorkomen van insecten bestuiving omdat stuifmeel door de wind nu eenmaal veel verder wordt verspreid dan door insecten en de belendingsafstanden veel groter moeten zijn. Ook op het veredelingsbedrijf zijn windbestuivers lastig omdat de isolatie 'winddicht' moet zijn. Dat resulteert vaak in kleine, dichte ruimtes met allerlei teeltproblemen. Bij insecten bestuivers bedraagt de belendingsafstand enkele honderden meters (afhankelijk van het bestuivingsgevolg), bij windbestuivers bedraagt de afstand al snel een kilometer of meer.

3.3 Algemeen gedrag van een populatie

Een kloonras is genetisch zeer uniform, maar de planten zijn voor een groot deel heterozygoot. Wanneer we aannemen dat er geen mutaties, vermenging en verwisseling plaatsvindt, blijft het kloonras hetzelfde. Iedere plant herbergt het genotype van het ras. Via vegetatieve vermeerdering van één plant kun je het ras theoretisch in stand houden en vermeerderen.

Een lijnras is genetisch ook uniform, maar de planten zijn homozygoot en blijven dat in principe. Iedere plant is representatief voor het ras. Via zelfbevruchting van 1 plant kun je het ras in stand houden en vermeerderen.

Populaties en ook populatierassen van kruisbevruchters zijn genetisch niet uniform en de planten niet homozygoot. Het is in feite een verzameling van genotypen. Een afzonderlijke plant is dus ook niet representatief voor het ras, het ras is een verzameling genotypen. De instandhouding en vermeerdering moet gebeuren met voldoende planten omdat je anders genetische informatie verliest.

Populatierassen verschillen van natuurlijke populaties planten doordat in de populatierassen geselecteerd is op bepaalde eigenschappen als vroegheid, opbrengst, kwaliteit, resistentie en het ras voor die eigenschappen wel degelijk redelijk uniform is. Natuurlijke populaties zijn alleen onderhevig aan natuurlijke selectie, waarbij de variatie in het algemeen groot is.

Wanneer in een groep kruisbevruchtende planten niet wordt geselecteerd (geen kunstmatige en geen natuurlijke selectie) ontstaat voor elk gen evenwicht:
 $p^2 aa + 2pq Aa + q^2 aa$

Dit evenwicht ontstaat na 1 keer random mating en blijft bestaan zolang niet wordt geselecteerd. De praktijk is dat al dan niet ongemerkt ook bij commerciële rassen bijvoorbeeld de vroegstbloeiende planten vooral met elkaar kruisen, dat soms vreemd stuifmeel de populatie binnenkomt en dat de veredelaar toch steeds selecteert. Wanneer je de vroegheid van oude populatierassen van radijs (nu hebben we hybriderassen) door de jaren heen vergelijkt, zie je de invloed van de selectie. Je verwacht dat vroege rassen die in 1970 het vroegst waren, ook in 1980 het vroegst zouden zijn. De praktijk is dat rassen ten opzichte van elkaar gaan schuiven, zoals in onderstaande grafiek is te zien.

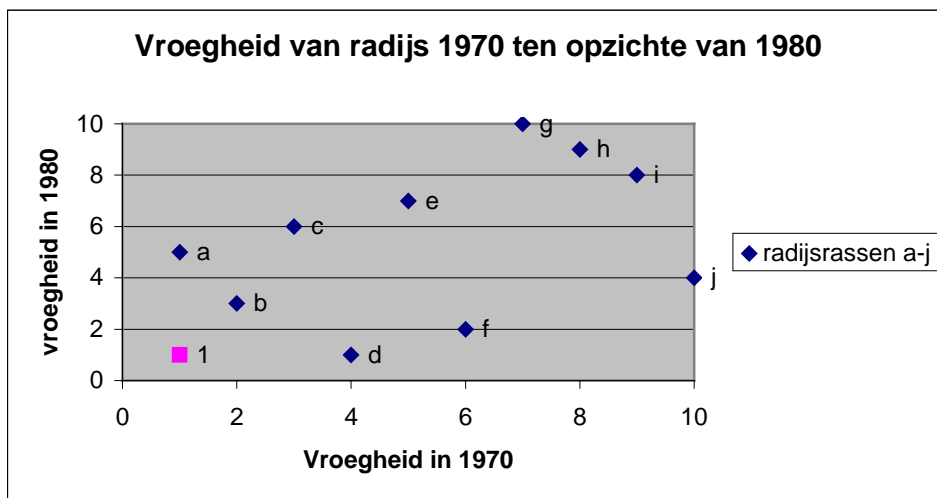


Fig. 3.1. Relatie tussen vroegheid van radijs in 1970 ten opzichte van 1980.

Los van de eerder geschetste problemen is zowel in de natuur als bij commerciële plantenrassen inteelt een probleem. Natuurgebieden zijn vaak relatief klein en als het gaat om beschermde plantensoorten zijn de aantallen planten ook gering. Ook in de veredeling maakt men gebruik van beperkte aantallen planten in de vermeerdering en instandhouding. Hierdoor gaat niet alleen het evenwicht verschuiven, maar treedt onvermijdelijk inteelt op. Inteelt kan bij kruisbevruchtters leiden tot zogenaamde inteeltdepressie (de prestatie van het ras of de soort wordt minder omdat steeds meer, vaak recessieve, ongewenste allelen tot expressie komen) en inteeltdegeneratie (planten groeien niet alleen minder, ze groeien heel slecht en sterven soms als gevolg van de opeenhoping van ongewenste allelen).

3.4 Massale vermeerdering

Massale vermeerdering leidt bij kruisbevruchtters uitsluitend tot het verkrijgen van meer zaad, terwijl massale vermeerdering bij zelfbevruchtters leidt tot homozygotering. Als de massale vermeerdering op de juiste wijze gebeurt, is er sprake van *panmixie* en blijft de populatie in evenwicht. In tegenstelling tot de zelfbevruchtters, waar massale vermeerdering kan leiden tot nieuwe genotypen, is daar bij kruisbevruchtters geen sprake van.

3.5 Massaselectie

3.5.1 Inleiding

Massaselectie houdt in dat van een populatie planten de slechte planten verwijderd worden of de goede worden aangehouden. Bij zelfbevruchters hebben we gezien dat we zo vrij snel een groot deel van de ongewenste planten kwijtraken. Een populatie van kruisbevruchters gedraagt zich echter heel anders en als gevolg daarvan is de vooruitgang na selectie veel geringer. Het probleem bij kruisbevruchters is, dat genotypisch ongewenste planten die pas na de bloei te verwijderen zijn (bijvoorbeeld op basis van bloemkleur), dan al stuifmeel hebben gevormd en de andere, ook genotypisch goede planten, bestoven hebben. Zelfs wanneer er voor de bloei te selecteren is, is het nog zo dat heterozygote planten, ook homozygote planten bestuiven en zo voor een tegenvallende volgende generatie zorgen.

3.5.2 Massaselectie voor bloei op een recessieve eigenschap

Wanneer men wil selecteren op een ronde bladvorm (ll), een in dit voorbeeld recessieve eigenschap, verwijdert men voor de bloei alle planten met een langwerpige bladvorm (LL en Ll) en laat de planten met ronde bladeren gezamenlijk afbloeien. De planten bestuiven en bevruchten elkaar en in de volgende generatie ontstaan uitsluitend ll-planten met ronde bladeren. Voor de overige eigenschappen is nog steeds variatie aanwezig in de zo ontstane populatie. Om inteelt te voorkomen is het noodzakelijk bij kruisbevruchters voldoende planten te selecteren om inteelt te voorkomen.

$$F_2: \quad \frac{1}{4} LL + \frac{1}{2} Ll + \frac{1}{4} ll$$

$$F_2': \quad ll$$

$$F_3: \quad 100\% ll$$

In dit voorbeeld zijn voor de bloei alle planten met het ongewenste genotype verwijderd en is de selectie voor deze eigenschap heel eenvoudig

3.5.3 Massaselectie voor bloei op een dominante eigenschap

Selectie op dominante eigenschappen voor de bloei is een stuk lastiger omdat het verschil tussen de LL- en Ll-planten niet zichtbaar is. Alleen de ll-planten kunnen voor de bloei worden verwijderd.

$$F_2: \quad \frac{1}{4} LL + \frac{1}{2} Ll + \frac{1}{4} ll$$

$$F_2': \quad \frac{1}{3} LL + \frac{2}{3} Ll$$

$$F_3: \quad \frac{4}{9} LL + \frac{4}{9} Ll + \frac{1}{9} ll$$

$$F_3': \quad \frac{1}{2} LL + \frac{1}{2} Ll$$

$$F_4: \quad 9/16 \text{ LL} + 6/16 \text{ Ll} + 1/16 \text{ ll}$$

Deze methode werkt zo langzaam in de juiste richting dat hij nauwelijks in de praktijk wordt gebruikt.

3.5.4 Massaselectie na bloei op een recessieve eigenschap

Massaselectie op een recessieve eigenschap die voor de bloei zichtbaar is, was heel succesvol. Wanneer de eigenschap pas na de bloei zichtbaar is, betekent dat voor de praktische veredeling dat alle planten meedoen in de bestuiving en bevruchting, maar dat je alleen van planten met ll-zaad (bijvoorbeeld wit van kleur) zaad oogst. Helaas zijn deze planten wel bestoven door de hele populatie.

$$F_2: \quad 1/4 \text{ LL} + 1/2 \text{ Ll} + 1/4 \text{ ll}$$

$$F_2: \quad \text{ll}$$

$$F_3: \quad 1/2 \text{ Ll} + 1/2 \text{ ll}$$

$$F_3: \quad \text{ll}$$

$$F_4: \quad 1/4 \text{ Ll} + 3/4 \text{ ll}$$

Deze methode duurt een stuk langer dan wanneer voor de bloei kan worden geselecteerd, maar gaat nog redelijk snel.

3.5.5 Massaselectie na bloei op een dominante eigenschap

Dit is de langzaamste massaselectiemethode omdat;

- het verschil tussen LL en Ll niet zichtbaar is,
- de ll-planten pas na de bloei kunnen worden verwijderd en dus nog meedoen aan de bestuiving.

Bespreking van de methode blijft verder achterwege.

3.6 Familieselectie

3.6.1 Inleiding

Onder een familie verstaan we de nakomelingschap van een moederplant, verkregen na kruisbevruchting. Bij kruisbevruchting met 1 vaderplant ontstaat een zogenaamde full-sib familie en bij bestuiving met een aantal vaderplanten ontstaat een half-sib familie. Familieselectie is het vergelijken van families met als resultaat de selectie van de beste families. De selectiemethode wordt vooral toegepast wanneer de veredelaar selecteert op dominante eigenschappen, omdat massaselectie dan te langzaam gaat. Door per plant apart zaad te oogsten en per familie apart uit te zaaien, wordt al snel duidelijk welke moederplanten homozygoot en welke moederplanten heterozygoot waren voor de te selecteren eigenschap(en).

Uit de goed bevonden families selecteren we de beste planten en passen weer familieselectie toe. De goede families bloeien gezamenlijk af en bestuiven elkaar dus over en weer. Om te voorkomen dat er inteelt ontstaat, moet er aan het einde van de selectiecyclus nog met voldoende (minimaal 10 tot 15) families worden gewerkt. Deze families laat men tenslotte gemengd afbloeien om de door selectie ontstane inteelt op te heffen. Hoe langer men doorgaat met familieselectie, des te groter de kans dat de planten zo verwant zijn, dat er inteeltproblemen optreden.

Familieselectie voor en na de bloei op een recessieve eigenschap worden hier niet besproken omdat ze geen voordeel opleveren boven massaselectie (waarom gaat familieselectie niet sneller?).

3.6.2 Familieselectie voor bloei op een dominante eigenschap

Uitgaande van de bekende F_2 verloopt de familieselectie als volgt:

$$F_2: \quad \frac{1}{4} LL + \frac{1}{2} Ll + \frac{1}{4} ll$$

$$F_2': \quad \frac{1}{3} LL + \frac{2}{3} Ll$$

$$F_3: \quad \frac{1}{3} \left(\frac{2}{3} LL + \frac{1}{3} Ll \right) + \frac{2}{3} \left(\frac{2}{6} LL + \frac{3}{6} Ll + \frac{1}{6} ll \right)$$

$$F_3': \quad \frac{2}{3} LL + \frac{1}{3} Ll$$

$$F_4: \quad \frac{2}{3} \left(\frac{5}{6} LL + \frac{1}{6} Ll \right) + \frac{1}{3} \left(\frac{5}{12} LL + \frac{6}{12} Ll + \frac{1}{12} ll \right)$$

$$F_4': \quad \frac{5}{6} LL + \frac{1}{6} ll$$

Omdat steeds de slechte families worden weggegooid, gaat deze methode behoorlijk snel.

3.6.3 Familieselectie na bloei op een dominante eigenschap

Bij het selecteren na de bloei hebben we niet alleen te maken met het feit dat we LL- en Ll-planten niet kunnen onderscheiden, maar bovendien kunnen we de ll-planten pas na de bloei herkennen. Deze genetisch ongewenste planten hebben dan dus wel reeds voor bestuiving gezorgd met alle gevolgen van dien.

$$F_2: \quad \frac{1}{4} LL + \frac{1}{2} Ll + \frac{1}{4} ll$$

$$F_2': \quad \frac{1}{3} LL + \frac{2}{3} Ll$$

$$F_3: \quad \frac{1}{3} \left(\frac{1}{2} LL + \frac{1}{2} Ll \right) + \frac{2}{3} \left(\frac{1}{4} LL + \frac{2}{4} Ll + \frac{1}{4} ll \right)$$

$$F_3': \quad \frac{1}{2} LL + \frac{1}{2} Ll$$

$$F_4: \quad \frac{1}{2} \left(\frac{7}{12} LL + \frac{5}{12} ll \right) + \frac{1}{2} \left(\frac{7}{24} LL + \frac{12}{24} Ll + \frac{3}{24} ll \right)$$

F₄: 7/12 LL + 5/12 Aa

Selectie heeft zo weinig zin. Er zijn 2 alternatieve methoden waarvoor kruisbevruchting de basis is, maar die een stuk sneller werken.

3.6.4 Gesepareerde familieselectie na de bloei op een dominante eigenschap

Familieselectie na de bloei heeft nauwelijks zin omdat goede moederplanten ook door slechte vaderplanten worden bestoven. Dit is onder andere te voorkomen door alle families van elkaar te isoleren, dat wil zeggen dat elke familie in een aparte isolatieruimte komt te staan. Wanneer het gaat om gewassen zoals kool, uien en wortelen die door insecten worden bestoven, kan geïsoleerd worden door middel van insectengaas, bij de windbestuivers gaat het om echte isolatiekasjes en overdrukruimten (kosten!).

De gesepareerde familieselectie is een dure selectiemethode die slechts beperkt toegepast wordt. Isolatieruimten zijn duur en schaars. Uitgaande van een F₂ van ruim honderd planten zouden bijna honderd isolatieruimten nodig zijn. Deze ruimten kunnen overigens efficiënt gebruikt worden door per ruimte verschillende gewassen te plaatsen; gewassen die onderling niet te kruisen zijn. Op veel veredelingsbedrijven zul je in een isolatieruimte bijvoorbeeld kool, wortel, ui, radijs, spinazie en biet bij elkaar kunnen aantreffen. Kool en radijs kunnen elkaar in principe nog in geringe mate bevruchten (geslachtskruising!).

Zoals uit onderstaand schema zal blijken, leidt gesepareerde familieselectie relatief snel tot resultaat. Omdat de families met II-planten alleen binnen die familie voor bestuiving kunnen zorgen, wordt voorkomen dat de slechte families de goede kunnen bestuiven.

F₂: ¼ LL + ½ LI + ¼ II

F₂: 1/3 LL + 2/3 LI

F₃: 1/3 (2/3 LL + 1/3 LI) + 2/3 (2/6 LL + 3/6 LI + 1/6 II)

F₃: 2/3 LL + 1/3 LI

F₄: 2/3 (5/6 LL + 1/6 LI) + 1/3 (5/12 LL + 6/12 LI + 1/12 II)

F₄: 5/6 LL + 1/6 II

De snelheid is natuurlijk een groot voordeel van de methode, het nadeel is het feit dat half-sibs elkaar binnen de families elkaar bestuiven en bevruchten. Dat is natuurlijk inteelt. Daarom wordt gesepareerde familieselectie afgewisseld met of afgesloten met andere vormen van familieselectie.

3.6.5 Reservezaad methode

Een andere methode die vergelijkbaar is met gesepareerde familieselectie, maar die in de tijd wel wat langzamer gaat, is de zogenaamde reservezaadmethode. Bij deze methode nemen we

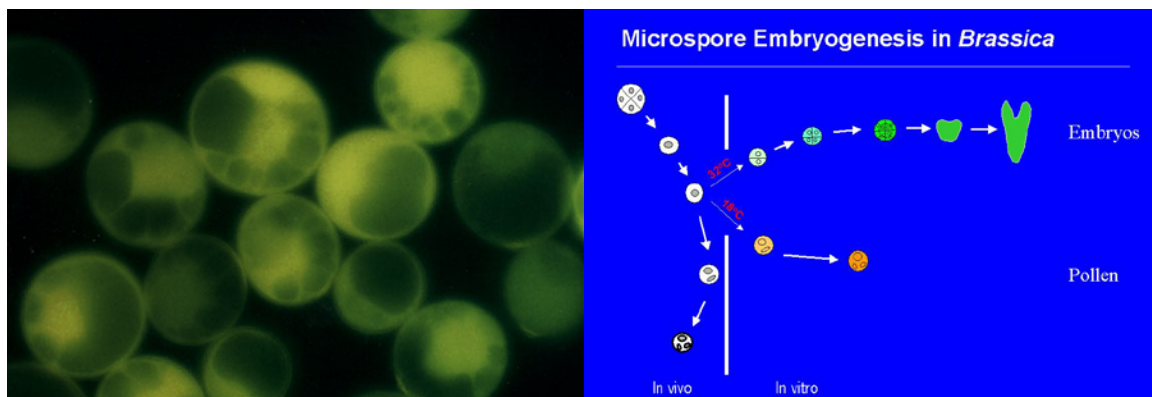
van elke familie een aantal zaden om te kijken of er ongewenste uitsplitsingen optreden. Van de families waarbij dit het geval is, gooien we de rest van het (in reserve gehouden) zaad weg. Het reservezaad van de goede families zaaien we (per familie) uit. Omdat we van tevoren weten dat de families goed zijn, mogen ze gezamenlijk afbloeien. Er zijn dus geen isolatieruimten nodig en omdat de verschillende families ook elkaar bestuiven, is de kans op inteelt veel geringer dan bij de gesepareerde familiesselectie. Ten overvloede zij vermeld dat we dus eerst toetsen of en welke families goed zijn, maar verder met deze planten goed of slecht, niet verder gaan.

3.7 Lijnselectie bij kruisbevruchters

Hoewel lijnselectie niet altijd kan worden toegepast bij kruisbevruchters (tweehuizigheid), kan het soms zeer snel tot resultaat leiden. Uiteraard dienen we uit te gaan van voldoende materiaal zodat we na de lijnselectie de ontstane inteeltdepressie kunnen opheffen door de goede planten gemengd te laten afbloeien.

3.8 Dihaploïden

Via antherencultuur kunnen bij veel gewassen haploïde planten worden verkregen die na al dan niet spontane verdubbeling volledig homozygoot zijn en dus direct geselecteerd kunnen worden op gewenste eigenschappen. Omdat de planten volledig homozygoot zijn, kunnen ze last hebben van inteeltdepressie en degeneratie en dienen ze snel onderling of met andere planten gekruist te worden.



Afbeelding 3.2. Microsporen van tarwe (foto Prof. Erwin Herberle-Bors) links en de embryogenese van microsporen in Brassica (WUR) rechts (http://www.plant.wageningen-ur.nl/projects/hybtech/Public%20domain/DH_technology.htm).

3.9 Paarsgewijze kruisingen

De reservezaadmethode is een zeer elegante oplossing, maar niet snel. Veel sneller kan men werken door paarsgewijze kruisingen te maken, of wanneer men alle planten onderling kruist, diallele kruisingen. De methode is uiteraard zeer bewerkelijk, omdat alle planten onderling worden gekruist. Het voordeel van de paarsgewijze kruisingen is de beperkte inteelt die gecombineerd wordt met de hoge snelheid.

3.10 Recurrente selectie op fenotype

Deze methode wordt wel toegepast bij kruisbevruchters die gemakkelijk zijn zelf te bevruchten en wanneer het gaat om eigenschappen die na de bloei zijn te beoordelen en geen al te lage heritability hebben. Deze methode is ontstaan in de maïsveredeling en heeft als voornaamste doel het uitschakelen van ongewenst stuifmeel zoals dat ook het doel is van de reservezaadmethode bij familieselectie. Een klassiek voorbeeld is de selectie op oliegehalte bij maïskorrels. In de te verbeteren populatie wordt een flink aantal planten geselecteerd op basis van gezond uiterlijk, groeikracht etcetera. Deze planten worden alleen zelfbevrucht.

Een deel van het zaad van iedere kolf wordt gebruikt om het oliegehalte te meten. Van bijvoorbeeld de beste 10 % planten, worden dan in het volgende jaar de zaden in rijtjes uitgezaaid. Deze lijnen worden in alle richtingen met elkaar gekruist om niet alleen de inteelt geheel op te heffen, maar vooral ook om de genen voor een hoger oliegehalte weer goed te recombineren. Het verkregen zaad vormt nu de basis van de verbeterde populatie.

Door de zelfbestuiving voorkomt de kweker dat er onbekend en ongewenst stuifmeel betrokken raakt bij het zaad van de geselecteerde planten. Het op deze wijze uitsluiten van inferieur stuifmeel kost echter, net als bij de reservezaadmethode, nogal wat tijd.

De recurrente selectie voor fenotype is uiterst effectief in het verhogen van het oliegehalte bij maïs zonder de genetische variatie merkbaar te verminderen. Net als bij iedere andere selectiemethode dient de kweker steeds een voldoende aantal planten of lijnen te selecteren als uitgangsbasis voor de volgende selectiecyclus.

Naast deze recurrente selectiemethode op fenotype, zijn er nog enkele andere recurrente selectiemethoden, die hier echter onbesproken blijven.

3.11 Herhaalde terugkruising bij kruisbevruchters

De verschillende mogelijkheden die zich bij herhaalde terugkruising voordoen zijn uitgebreid beschreven bij de zelfbevruchters en zijn in principe ook toepasbaar op de kruisbevruchters (inclusief de meeste vegetatief vermeerderde gewassen), zij het dat het vanwege inteeltproblemen meestal niet mogelijk is steeds met dezelfde ouder terug te kruisen. Specifieke problemen kunnen zich voordoen indien men te maken heeft met mannelijke steriliteit, incompatibiliteit of tweehuizigheid.

Een groot verschil met de zelfbevruchters is, dat de terugkruisingsouders maar zelden homozygoot zullen zijn en er genetische variatie zal zijn binnen de populatie waarmee wordt teruggekruist. Bij het terugkruisen zullen allerlei factoren uitsplitsen, waarop dan geselecteerd dient te worden. Het is natuurlijk niet mogelijk om door herhaalde terugkruising met een heterozygoot, het heterozygote genotype te behouden, aangevuld met 1 nieuwe eigenschap.

Kruisbevruchters zijn niet alleen bij de eerder genoemde selectiemethoden, maar ook bij herhaalde terugkruising veel moeilijker in een bepaalde richting te krijgen dan de zelfbevruchters en we bereiken ons doel zelden helemaal. Vanwege de variatie binnen de populatierassen waarmee teruggekruist wordt is het nodig met terugkruisingspopulaties van voldoende omvang te werken.

3.12 Selectie op kwantitatieve eigenschappen

De belangrijkste aspecten van selectie op kwantitatieve eigenschappen zijn reeds besproken bij de veredeling van vegetatief vermeerderde gewassen en bij de zelfbevruchters.

4. Veredeling van hybriden

4.1 Inleiding

Het is nog niet zo lang geleden dat diverse groentetelers in het Westland zelf selecties van het paprikaras Bruinsma Wonder in stand hielden en vermeerderden. Door de komst van hybridenrassen van paprika is hier een eind aan gekomen; deze zijn niet na te telen, tenzij men over beide inteeltlijnen beschikt. Het is duidelijk dat de natuurlijke bescherming van het hybridekweekprodukt een enorm voordeel is, vooral in landen waar men geen kwekersrecht kent.

De teler zal duurder hybridezaad uiteraard alleen aanschaffen wanneer er voor hem ook voordelen aan zitten. Hybriderassen zullen dus beter moeten zijn dan zaadvaste of populatierassen. De veredelaar zoekt twee lijnen die gecombineerd een heterosiseffect veroorzaken dat bij zuivere lijnen altijd ontbreekt en in populaties maar beperkt voorkomt.

Heterosis is het verschijnsel dat F_1 -planten hun ouders overtreffen in bepaalde eigenschappen als gevolg van allelcombinaties die niet te fixeren zijn. Dat wil zeggen dat we het hybridefenotype niet zaadvast kunnen maken. Heterosis is anderzijdig waargenomen bij eigenschappen als productie, vroegheid, groei en ontwikkeling, resistentie en zaadvigour. Het probleem met heterosis is, dat er verschillende verklaringen voor zijn, die waarschijnlijk geen van alle het verschijnsel compleet kunnen verklaren, maar ieder ongetwijfeld een deel van het ontstaan van heterosis verklaren.

Hoewel “beter” nogal subjectief is, wordt in de literatuur wel onderscheid gemaakt tussen positieve heterosis waarbij het kenmerk in de F_1 “beter” is dan in de ouders en anderzijds negatieve heterosis.

Tabel 4.1. Negatieve heterosis (Powers, 1944).

Ouderlijn of hybride	Aantal vruchthokken
P1	9,6 +/- 0,3
P2	11,7 +/- 0,5
F1	7,3 +/- 0,2

Tabel 4.2. Positieve heterosis (Powers, 1944).

Ouderlijn of hybride	Opbrengst in kg per plant
P1	5,3
P2	10,7
F1	18,1

De belangrijkste verklaringen voor heterosis zijn de overdominantietheorie en de factorentheorie.

De overdominantietheorie gaat er vanuit dat de heterozygoot Aa beter is dan de beide homozygote ouders AA en aa. De factorentheorie verklaart heterosis door te stellen dat in de hybrideplant gunstige dominante factoren bij elkaar komen, bijvoorbeeld na kruising van $AAbb \times aaBB \rightarrow AaBb$. In dat geval is de heterosis in principe wel te fixeren, zoals bij een

aantal vormen van epistasie. Wanneer er sprake is van (absolute) koppeling in afstotingsfase, is het genotype AaBb echter uniek, in die zin, dat A en B alleen bij elkaar kunnen komen in een kruisingsproduct van AAbb en aaBB.

De gunstige allelencombinatie is nu dus niet te fixeren. Ook wanneer er sprake is van intermediaire erfelijkheid kan de hybride wel degelijk beter zijn dan de beide ouders.

Tabel 4.3. Heterosis door recombinatie van twee intermediaire eigenschappen bij tomaat (Powers, 1944).

Ouderlijn of hybride	Gemiddeld aantal vruchten per plant	Gemiddeld vruchtgewicht	Opbrengst in g per plant
P ₁	4,4 +/- 0,7	138 +/- 12,8	607 +/- 86
P ₂	109,1 +/- 11,3	17 +/- 0,6	1868 +/- 149
F ₁	44,5 +/- 2,5	55 +/- 2,9	2428 +/- 150

Het hybrideveredelingsprogramma zal er in het algemeen als volgt uitzien:

1. Omschrijven van het veredelingsdoel.
2. Verzamelen en beoordelen van uitgangsmateriaal.
3. Het maken van inteeltlijnen.
4. Het selecteren van lijnen op combinatiegeschiktheid.
5. Vermeerderen en in stand houden van de lijnen.
6. De productie van het hybridezaad.

4.2 Overzicht van typen hybriderassen

Wanneer we het over hybriderassen hebben, bedoelen we meestal zogenaamde single cross F₁-hybriden, die ontstaan na het kruisen van 2 inteeltlijnen. Deze hybriden vertonen veel heterosis en zijn zeer uniform. F₂-hybriden kom je af en toe tegen bij minder belangrijke siergewassen zoals *Salpiglossis sinuata* 'Bolero' F₂ Hybrid. De zaadprijs van op F₁'s geogoste zaden is natuurlijk veel lager dan van F₁-zaad. Er is wel sprake van uitsplitsing en een F₂-hybride is ook niet vergelijkbaar met een F₁-hybride.



Afbeelding 4.1. F₂-hybride 'Bolero' (www.chilternseeds.co.uk).

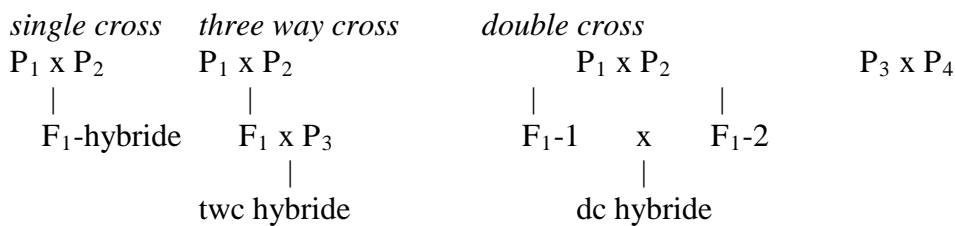
Binnen de F₁-hybriden onderscheiden we de al eerder genoemde single cross hybride die gemaakt wordt met behulp van 1 moederlijn en 1 vaderlijn. Het is ook mogelijk om 3 (three way cross) of 4 (double cross) ouderlijnen te gebruiken. Argumenten om dit te doen kunnen de zaadproductiekosten zijn; een F₁ levert veel meer zaad dan een (ingeteelde) ouderlijn. Soms zijn bepaalde lijnen bijna gelijk oftewel isogeen, dat het formeel wel een three way of double cross heet, maar dat de uniformiteit meer op een single cross lijkt.

Wanneer voor de productie van hybridezaad gebruikt wordt van mannelijke steriliteit zijn 3 lijnen nodig:

- de mannelijk steriele moederlijn
- de mannelijk fertiele vaderlijn
- een mannelijk fertiele, isogene lijn van de moederlijn die de mannelijk steriele moederlijn in stand kan houden en kan vermeerderen

Wanneer gebruik gemaakt wordt van incompatibiliteit in gewassen, wordt nogal eens gebruik gemaakt van 2x2 isogene lijnen (die alleen verschillen voor de incompatibiliteitsallelen).

De meest voor de hand liggende hybriden zijn:



4.3 Single cross hybriden

Single cross hybriden worden gemaakt met behulp van 2, zoveel mogelijk homozygote, goed combinerende lijnen. Op deze wijze ontstaat een zeer uniforme hybride met een groot heterosis-effect. Bij kruisbevrueters zijn de ouderlijnen vaak wat minder homozygoot en is in het hybrideras wat meer variatie en minder heterosis. Desalniettemin zijn deze rassen vaak een enorme verbetering ten opzichte van de oude populatierassen.

4.4 Three-way-cross hybriden

Three way cross hybriden worden gemaakt met behulp van 3 ouderlijnen. Het gebruik van een derde lijn heeft soms te maken met het feit dat een extra zaadproductieronde de beschikbaarheid van zaad kan verbeteren en de zaadprijs kan verlagen. Verder wordt bij het gebruik van mannelijke steriliteit een derde lijn gebruikt om de mannelijk steriele moederlijn in stand te houden.

4.5 Double cross hybriden

Om bij double cross hybriden zoveel mogelijk heterosis in de uiteindelijke hybride te krijgen en zoveel mogelijk uniformiteit is de keuze van de ouderlijnen is zeer van belang. Wanneer men de beschikking heeft over 4 inteeltlijnen dan zijn er in principe verschillende mogelijkheden om de double cross te maken.

De beste double cross ontstaat wanneer we er voor zorgen dat de lijnen die de twee F_1 's leveren zo weinig mogelijk heterosis vertonen ofwel zo veel mogelijk verwant zijn. De F_1 's zullen dan nog redelijk homozygoot zijn en na kruising een redelijk goede en redelijk homogene hybride kunnen leveren. De vier lijnen worden onderling gekruist met bijvoorbeeld als resultaat (tussen haakjes staat de opbrengst):

A x B ----> matige hybride (10)

A x C ----> goede hybride (12)

A x D ----> goede hybride (14)

B x C ----> goede hybride (16)

B x D ----> goede hybride (18)

C x D ----> matige hybride (8)

De beste double cross wordt nu gemaakt op de volgende wijze:

AxB CxD

 | |
F₁-1 x F₁-2

 |
Double cross hybride (15)

De opbrengst van de hybride is te schatten als het gemiddelde van de vier F_1 's van de beste inteeltlijncombinaties.

4.6 Inteelt en heterosis

Afhankelijk van het gewas is het meer of minder gevoelig voor inteelt. Door inteelt verzwakt de plant (inteeltdepressie) en in extreem voor inteelt gevoelige gewassen kan de plant zelfs helemaal afsterven (inteeltdegeneratie). De verklaring zit deels in het verlies van heterosiseffecten en het optreden van deficiënties (vaak recessief) voor allerlei eigenschappen. Soms komen zelfs letale deficiënties voor. Vooral bij de kruisbevruchters is het balanceren tussen verminderde groei­kracht van de ouderlijnen enerzijds en verminderde uniformiteit en heterosis van de hybride anderzijds.

4.7 Algemene en specifieke combinatiegeschiktheid

Wanneer een lijn met verschillende andere lijnen gekruist, goede nakomelingschappen geeft en de lijn dus in het algemeen goed combineert, zeggen we dat de lijn een hoge *algemene combinatiegeschiktheid* heeft.

Het is te verwachten dat een lijn met een goede algemene combinatiegeschiktheid met een bepaalde andere lijn zelfs de best mogelijke hybride oplevert, en dus ook een hoge *specifieke combinatiegeschiktheid* heeft.

Het ontwikkelen van 100 tomatenlijnen is op zich niet moeilijk. Het zoeken van de twee best combinerende lijnen is een veel groter probleem. Bij 100 lijnen dient men 100 x 100 kruisingen te maken volgens een zogenaamd compleet diallel kruisingsschema.

Tabel 4.1. Compleet diallel kruisingsschema.

vader moeder	1	2	3	4	100
1										
2										
3										
4										
.										
.										
.										
.										
.										
100										

Zou elke proefhybride uit slechts 10 planten bestaan, dan praten we bij tomaat over ongeveer 5 ha kasruimte. Bij elke proefhybride wordt een aantal belangrijke (kwantitatieve) eigenschappen gemeten, hetgeen veel te kostbaar is.

Omdat de reciproke kruisingen meestal niet (veel) van elkaar verschillen en de zelfbevruchtingen overbodig zijn, zou het schema veel eenvoudiger kunnen.

Tabel 4.2. Diallel kruisingsschema zonder reciproke kruisingen en zonder zelfbevruchtingen.

vader moeder	1	2	3	4	100
1										
2										
3										
4										
.										
.										
.										
.										
.										
.										
100										

Het gaat nu om ongeveer de helft van het aantal proefhybriden als in het complete diallel, maar nog steeds om meer dan 2 ha kasruimte. Het is duidelijk dat de veredelaar niet in staat wordt gesteld om al deze kruisingen te testen en hij zal dus eerder in de lijnen moeten selecteren.

Wanneer de lijnen in de F_3 - F_5 redelijk uniform beginnen te worden, is het mogelijk vast te stellen of de lijnen in het algemeen goed combineren, door ze te kruisen met enkele testers (toetsrassen). Deze methode wordt wel met top-cross aangeduid. De gedachte erachter is, dat wanneer een lijn gekruist met een paar rassen het goed doet, er met dezelfde lijn ook goed resultaat wordt geboekt als hij gecombineerd wordt met een bepaalde andere lijn. Het aantal kruisingen dat bij een topcross wordt gemaakt is in vergelijking met het onderling kruisen van alle lijnen zeer gering.

Tabel 4.3. Top cross.

Testras moederlijn	A	B	C
1			
2			
3			
4			
.			
.			
.			
.			
.			
100			

Het aantal proefkruisingen bedraagt nu slechts 300 in tegenstelling tot de 4.950 en 10.000 in de eerder besproken schema's.

De lijnen met de hoogste algemene combinatiegeschiktheid kunnen na een topcross worden geselecteerd. Om hieruit de beste specifieke combinatie van lijnen te halen, worden alle geselecteerde lijnen onderling gekruist in een diallel zonder reciproke kruisingen en zonder zelfbevruchtingen. Omdat het hier slechts gaat om een beperkt aantal lijnen levert dit geen bijzondere problemen op. De beste combinatie (de lijnen met de hoogste specifieke combinatiegeschiktheid) wordt als hybrideras in de handel gebracht. Het probleem is nu qua aantallen planten behoorlijk gereduceerd, het blijft uiteraard heel lastig om de beste combinatie te ontdekken, vooral wanneer de verschillen tussen de hybriden niet zo groot zijn en/of er (veel) milieu-invloed is.

Hoewel daarover weinig literatuur is, kun je je voorstellen dat er, zeker bij de eerste hybriden in verschillende gewassen, ook een grote mate van gevoel voor combinaties nodig is geweest. Het is in de praktijk lang niet altijd mogelijk om volgens bovenstaande combinatiegeschiktheidschema's te werken. Een veredelaar moet in feite ook resultaten van combinaties voorzien!

4.8 Emasculeren, isoleren en bestuiven

Het emasculeren, soms ook wel castreren genoemd, is nodig wanneer de moederlijnen van hybriden niet beschikken over een mechanisme om zelfbevruchting te voorkomen. Dat is vooral het geval bij de groep zelfbevruchters. De veredelaar kijkt daarbij goed naar de bloembouw om zo zo efficiënt mogelijk te kunnen emasculeren. Bij tomaat bijvoorbeeld staan de meeldraden ingeplant op de kroonbladen en zijn die met elkaar vergroeid. Door de krans van kroonbladen te verwijderen, haalt men ook de meeldraden weg. Bij maïs kun je de mannelijke bloeiwijze makkelijk afmaaien (detesseling).

Wanneer het gewas gemakkelijk te kruisen is en/of het hybridezaad duur is, is het mogelijk om de moederlijn met de hand te emasculeren en te bestuiven. Dit gebeurt wel bij tomaat, aubergine en paprika. Uiteraard is het rendabeler te werken met een systeem waarbij het emasculeren overbodig is. Bij zelfbevruchters zullen we in het algemeen geen tweehuizigheid, eenslachtigheid, certatie en incompatibiliteit aantreffen omdat de planten op zelfbevruchting zijn ingesteld. Mannelijke steriliteit daarentegen is wel aangetroffen onder andere bij paprika.

Het gaat om genetische mannelijke steriliteit waarvan bij de eerste hybriderassen al door een aantal bedrijven gebruik van werd gemaakt.

Een andere mogelijkheid is het zoeken naar chemische emasculatiemogelijkheden (gametociden). Voor mannelijke steriliteit en gametociden geldt dat het emasculatieprobleem is verholpen, maar het met de hand bestuiven blijft. Zelfs wanneer we bij sla de beschikking zouden hebben over goede gametociden, dan nog zou de handbestuiving de hybridezaadproductie veel te duur maken. In tegenstelling tot de kruisbevruchters is het moeilijk om met behulp van wind stuifmeel van zelfbevruchters te vervoeren en de bloemen zijn meestal niet aantrekkelijk voor insecten. Het valt onder andere om die reden niet te verwachten dat er binnenkort hybriden zullen zijn bij sla, erwt of boon.

Het isoleren van de bloem (van emasculatie tot bestuiving en van bestuiving tot einde receptiviteit van de stamper) gebeurt alleen bij de kruisbevruchters waar een reëel gevaar is voor kruisbestuiving via wind of insecten. De wijze van isolatie hangt af van het bestuivingsmechanisme.

Het bestuiven kan gebeuren door luchtbeweging (windbestuivers) of vliegen/bijen/hommels bij de insectenbestoven gewassen. Bij zelfbevruchters zal men dit meestal met de hand moeten doen. Bij een tomaat, paprika of aubergine ontstaan per bestuiving minstens 100 zaden die ook nog eens voor minstens 0,25 Euro per stuk verkocht kunnen worden.

4.9 Het maken van hybriderassen bij zelfbevruchters

Het maken van lijnen ten behoeve van de hybridenproductie levert bij zelfbevruchters weinig problemen op. Alle niet-hybride rassen die in het handelsverkeer zijn, zijn homozygote lijnen. Wanneer zelf lijnen ontwikkeld worden, kunnen de reeds besproken selectiemethoden worden toegepast. Bestaande inteeltlijnen kunnen op een of enkele punten worden verbeterd door herhaald terug te kruisen.

Omdat er ook heterosis geconstateerd is bij zelfbevruchters, zou je kunnen zeggen dat er ook sprake kan zijn van inteeltdepressie. De gevolgen van inteelt voor zelfbevruchters zijn veel geringer dan bij de meeste kruisbevruchters, waarbij door inteeltdegeneratie zelfs inteeltplanten kunnen wegvallen. Bij zelfbevruchters kun je goede (inteelt-)lijnen zelfs als ras in het verkeer brengen. Het maken van double cross en three way cross hybriden is dus niet zinvol omdat bij de instandhouding en vermeerdering meestal voldoende zaad wordt gevormd.

4.10 Het maken van hybriderassen bij kruisbevruchters

Ook bij kruisbevruchters wordt aan hybriderassen gewerkt bij vele gewassen; veel eenjarige perkplanten, cyclamen, kool, witlof, peen, komkommer, augurk, biet etcetera. Zowel de wenselijkheid als de problemen bij het maken van hybriderassen liggen bij de kruisbevruchters enigszins anders dan bij de zelfbevruchters. Wat die wenselijkheid betreft; men heeft bij de kruisbevruchters een sterke behoefte aan homogeniteit. Populatieassen van kruisbevruchters vertonen namelijk een grote heterogeniteit. Homogeniteit is belangrijk in verband met bijvoorbeeld de eenmalige oogst van spruitkool en augurk. Maar ook bij een gewas als cyclamen, waarbij populatieassen altijd zeer onregelmatig met een grote spreiding

in de tijd tot bloei komen, is er behoefte aan uniformiteit. De ruimtebenutting wordt veel beter en er komt ruimte voor meer teelten per jaar. Hybriden bieden dan perspectief.

Wat de problemen betreft heeft men als veredelaar met twee moeilijkheden te maken. Voor de productie van een hybrideras zijn tenminste twee homozygote lijnen nodig. Een zeer snelle methode om lijnen homozygoot te maken is zelfbevruchting. Echter lang niet alle kruisbevruchters zijn gemakkelijk zelf te bevruchten (tweehuizigheid, incompatibiliteit). Incompatibiliteit kan men onder andere doorbreken door knopbestuiving toe te passen en bij tweehuizigen kan men broertjes en zusjes van generatie op generatie onderling kruisen en op die manier intelen.

De tweede moeilijkheid is dat wanneer zelfbevruchting al mogelijk is, we in de meeste gevallen toch niet ongestraft een aantal malen kunnen zelfbevruchten. De planten gaan in groeikracht en wat erger is in fertiliteit achteruit als gevolg van inteeltdepressie. Dikwijls kunnen we niet doorgaan met intelen tot volledige homozygotie is bereikt omdat er anders geen planten overblijven die nog voldoende stuifmeel en zaad kunnen leveren. In sommige gevallen gaan de planten zelfs dood na te vaak intelen (inteeltdegeneratie). Het zogenaamde inteeltminimum, het niveau waarop de plant redelijk homozygoot is en er toch nog voldoende zaad op kan worden geteeld, kan per soort, geslacht en familie aanzienlijk verschillen. Komkommer bijvoorbeeld laat zich uitstekend intelen terwijl wortel al snel last heeft van inteeltverschijnselen.

De productie van hybridezaad is dan ook vaak een probleem omdat de vader- en moederplant zo verzwakt zijn. Om dit enigszins te ondervangen heeft men bij een aantal gewassen zogenaamde three way cross en double cross hybriden ontwikkeld. Men maakt daarbij gebruik van 3 respectievelijk 4 inteeltlijnen. Bij deze werkwijze hebben de moederlijnen minder last van inteeltdepressie en leveren daardoor dus meer hybridezaad en er zit een vermeerderingsgeneratie extra in waardoor makkelijker voldoende zaad kan worden geleverd. Dat laatste speelt vooral een rol wanneer de instandhouding en vermeerdering van de lijnen lastig is bijvoorbeeld bij incompatibiliteit. Een nadeel van de hier geschetste werkwijzen is dat de hybride minder uniform zal zijn dan bij een single cross hybride. Door de ouderlijncombinaties slim te kiezen blijft de terugval in uniformiteit heterosiseffect beperkt.

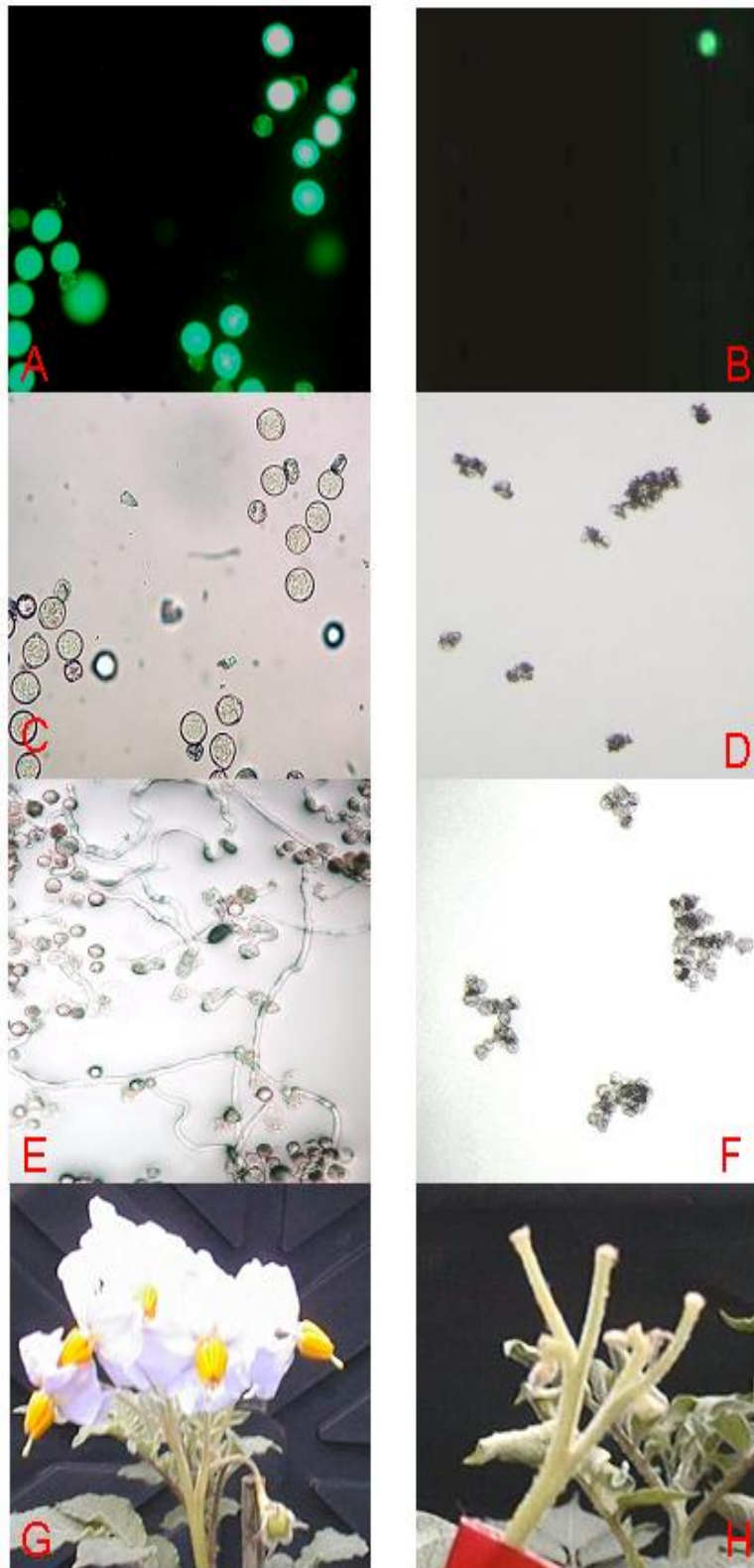
5. Gebruik van mannelijke steriliteit, incompatibiliteit, tweehuizigheid

Als gevolg van de enorme toename van het aantal hybridenrassen, worden “hulpmiddelen” bij de hybridenzaadproductie als mannelijke steriliteit (m.s.) en incompatibiliteit steeds belangrijker.

5.1 Mannelijke steriliteit

5.1.1 Inleiding

Mannelijke steriliteit (m.s.) is het meest gebruikte hulpmiddel bij de productie van hybriderassen. Het verschijnsel is al heel lang bekend, maar werd aanvankelijk als lastig ervaren: bij klassieke zaadvaste rassen wil je geen mannelijk steriele planten hebben, vooral niet bij zelfbevruchters. Van nature komt mannelijke steriliteit bij zeer veel gewassen in lage frequentie voor (bij peen bijvoorbeeld 0,01%), maar door selectie is het aandeel mannelijke steriele planten te verhogen.



Afbeelding 5.1. Mannelijke steriliteit bij aardappel. Via genetische manipulatie van een gewone aardappel (links) verkregen mannelijke steriliteit (rechts). Het originele stuifmeel kleurt goed via FDA-kleuring (A), ziet er normaal uit onder de lichtmicroscop (C) en kiemt op een eenvoudige voedingsbodem (E). Het steriele stuifmeel ziet er niet goed uit, kiemt en kleurt niet (www.biology.leeds.ac.uk/nem/dworld/potato.htm).

5.1.2 Vormen van mannelijke steriliteit

Mannelijke steriliteit is het onvermogen van bloeiende planten tot het vormen of loslaten van fertiel stuifmeel. Op grond van morfologie en anatomie kunnen verschillende vormen van m.s. onderscheiden worden:

1. Verandering van het mannelijke geslachtsapparaat:
 - Ontbreken van helmknoppen
 - Reductie van meeldraden tot rudimentaire organen
 - Vervormen van meeldraden tot stamper, vruchtblad of kroonblad
 - Functionele mannelijke steriliteit
 - Pollensteriliteit



Afbeelding 5.2. Mannelijke steriliteit bij radijs, peen en paprika (foto's J. den Besten).

De meest voorkomende typen van m.s. zijn herkenbaar aan veranderingen van het mannelijke geslachtsapparaat. Als zodanig is dubbelbloemigheid bij siergewassen zeer bekend (maar het komt ook bijvoorbeeld bij peen voor), reductie van meeldraden treffen we veel aan bij groentegewassen.

2. Bij *functionele mannelijke steriliteit* wordt wel fertiel stuifmeel gevormd, maar komt het stuifmeel niet vrij. In veredelings-technisch opzicht is deze vorm van m.s. ideaal omdat zelfbevruchting in principe -in tegenstelling tot de andere vormen van m.s.- wel mogelijk is. Helaas treffen we functionele m.s. zelden aan.
3. In het geval van *pollensteriliteit* zijn normale helmknoppen met daarin stuifmeel aanwezig, het stuifmeel is echter steriel. Pollensteriliteit is voor de veredelaar niet zo bruikbaar, omdat het onderscheid tussen fertiele en steriele planten lastig waar te nemen is.

is. Steriele planten zijn niet visueel herkenbaar, wel kunnen ze van fertiele planten worden onderscheiden, doordat het stuifmeel niet kleurbaar is.

5.1.3 Inductie van mannelijke steriliteit

Mannelijke steriliteit kan door uitwendige factoren worden geïnduceerd (gametociden, watergebrek, temperatuur, bestraling, etc.) of zijn veroorzaakt door een disharmonie tussen de kern (genen) en het plasma. De verschillende vormen van m.s. berusten alle op een disharmonie tussen plasma- en genotype. Waar gesproken wordt over *genetische mannelijke steriliteit* (g.m.s.) of over *cytoplasmatische mannelijke steriliteit* (c.m.s.) betreft het onvolledige typen van *cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit* (c.g.m.s.).

Wanneer de harmonie tussen genotype en plasmatype verstoord wordt door een verandering van het genotype, spreken we van g.m.s. Wordt de disharmonie veroorzaakt door een verandering van het plasmatype, dan spreken we van c.m.s.

Mogelijke oorzaken van de disharmonie:

- Mutatie van het eigen plasma of eigen genen
- (terug)kruising van twee onverwante planten binnen de soort
- (terug)kruising van twee planten van verschillende soorten of geslachten.

Wanneer de c.m.s. is ontstaan na kruising van onverwante planten binnen de soort noemen we dat *homoplasmie*:

Zweeds/canadees koolzaad x Pools bronovski → (Zw/Can) bronovski (= c.m. s.).

Alloplasmie is c.m.s. ontstaan na kruising van verschillende soorten of geslachten:

(*Capsicum peruvianum*) *C. annuum*

(*Brassica nigra*) *B. aleracea*

(*Phaseolus coccineus*) *P. vulgaris*

5.1.4 Verschillende idiotypen van mannelijke steriliteit

Omdat er in wezen geen verschil is tussen genetische mannelijke steriliteit en cytoplasmatische mannelijke steriliteit, zou het logisch zijn een uniforme notatie te gebruiken. Helaas is dit in de literatuur niet het geval. De meest gebruikte notaties zijn:

- F of N voor fertiel plasma, meestal (F) of (N)
- S voor steriel plasma, meestal (S)
- Ms of N voor genen die voor fertiliteit zorgen bij g.m.s. of Rf genen die fertiliteit herstellen bij c.g.m.s.
- ms, m of rf voor genen die voor m.s. zorgen of geen fertiliteit herstellen.

Dit leidt tot de volgende genotypen en fenotypen (tabel 5.1).

Tabel 5.1. Genotype, plasmatype en expressie bij verschillende vormen van mannelijke steriliteit.

Type mannelijke steriliteit	Idiotype	Fenotype
c.g.m.s	(N)RfRf	fertiel
	(N)Rfrf	fertiel
	(N) rfrf	fertiel
	(S) RfRf	fertiel
	(S) Rfrf	fertiel
	(S) rfrf	mannelijk steriel
c.m.s	(N)	fertiel
	(S)	mannelijk steriel
g.m.s	MsMs	fertiel
	Msms	fertiel
	msms	mannelijk steriel

5.1.4.1 Genetische mannelijke steriliteit

Er is slechts één type plasma (S), dat men meestal weglaat. Het aantal Ms/ms loci kan variëren en multiple allelie met in fertiliserend vermogen verschillende allelen komt ook voor. Dit type mannelijke steriliteit is nog steeds actueel en wordt met name aangetroffen bij de zelfbevruchters als tomaat en paprika. Bij deze gewassen treft men slechts één type plasma aan.

Tabel 5.2. Genetische mannelijke steriliteit.

Genotype	Expressie
MsMs, Ms ms	Fertiel
Msms	Steriel

5.1.4.2 Cytoplasmatische mannelijke steriliteit

Er is slechts één genotype (rfrf), dat men meestal weglaat. Dit type wordt in feite niet meer aangetroffen omdat er bij de meeste gewassen genen gevonden worden die de mannelijke fertiliteit herstellen.

Tabel 5.3. Cytoplasmatische mannelijke steriliteit.

Plasmatype	Expressie
(N)	Fertiel
(S)	Steriel

5.1.4.3 Cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit

C.g.m.s. is een combinatie van c.m.s. en g.m.s., er zijn dus zowel verschillende plasmatypen als voor fertiliteit van elkaar verschillende genen en genotypen.

Tabel 5.4. Cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit.

Idiotype	Expressie
(N) RfRf	Fertiel
(N) Rfrf	Fertiel
(N) rfrf	Fertiel
(S) RfRf	Fertiel
(S) Rfrf	Fertiel
(S) rfrf	Steriel

5.1.5 Mannelijke steriliteit in de praktijk

Bij het maken van hybriderassen wordt gebruik gemaakt van diverse vormen van mannelijke steriliteit (zie tabel 5.5). Soms geeft men de voorkeur aan emasculatie, omdat de mannelijke steriele genotypen nadelige bijverschijnselen vertonen. Zo komt bij *Petunia* cytoplasmatische mannelijke steriliteit voor. De mannelijk steriele planten hebben echter ook een verminderde vrouwelijke fertiliteit, waardoor zij minder zaad geven. Bij sommige siergewassen moet bij het toepassen van mannelijke steriliteit rekening gehouden worden met de sierwaarde van de meeldraden (anemoon, pioen, papaver).

Tabel 5.5. Overzicht gewassen, gebruikte methode ter voorkoming van zelfbevruchting en bestuivingswijze

Gewas	Methode	Bestuiving voor hybride zaadproductie
Asperge	vrouwelijkheid	insecten
Augurk	vrouwelijkheid	insecten
Komkommer	vrouwelijkheid	insecten
Koolgewassen	c.m.s, incompatibiliteit	insecten
Maïs	c.m.s., ontpluimen	wind
Paprika	g.m.s.	hand
Radijs	c.m.s	insecten
Spinazie	vrouwelijkheid	wind
Suikerbiet	c.m.s.	wind
Tomaat	g.m.s./ handemasculatie	hand
Ui	c.g.m.s.	insecten
Wortel	c.g.m.s.	insecten
Begonia	♀- en ♂- bloemen	hand
Cyclaam	handemasculatie	hand
Dianthus	g.m.s.	hand
Impatiëns	c.m.s.	hand
Pelargonium	g.m.s., protandrie	hand
Petunia	handemasculatie	insecten
Primula	heterostylie	hand
Tagetes	apetalie, defecte meeldraden	insecten
Viola	handemasculatie	hand
Zinnia	apetalie, defecte meeldraden	insecten

De mogelijke toepassing van m.s. bij de hybridenzaadproductie hangt af van de volgende factoren:

- Het gemak waarmee handemasculatie kan worden toegepast.
- De zaadopbrengst per bestoven bloem.
- Het aantal zaden dat de eindverbruiker per oppervlakte-eenheid zaait.
- De zaadprijs in vergelijking met de overige teeltkosten.

Vanuit veredelingsoogpunt zijn vooral de volgende zaken van belang:

- Kan men m.s.-planten gemakkelijk onderscheiden van fertiele planten?
- Vindt er bij het betreffende gewas natuurlijke kruisbestuiving plaats?
- Is de gevonden vorm van m.s. voldoende stabiel in zijn expressie?
- Is de m.s. gemakkelijk over te brengen in andere rassen/lijnen?
- Is in het geval van c.m.s. de fertiliteit te herstellen met herstellergenen?

Per veredelingsbedrijf stelt men bovendien de prioriteiten anders. Vandenberg (inmiddels via DeRuiterZaden bij Monsanto terecht gekomen) had met Plutona het eerste goede Nederlandse paprikaras waarbij m.s. gebruikt is, terwijl ze bij radijs nog geen hybridenrassen hadden in hetzelfde jaar. Bij de Enza introduceerde men het paprikahybrideras Delphin gelijk met de introductie van Plutona. Men gebruikte alleen geen mannelijke steriliteit bij de productie van het hybridezaad. Het hybrideradijsras Brilljant van de Enza dat ook ongeveer in hetzelfde jaar op de markt kwam was wel gemaakt met behulp van mannelijke steriliteit.

5.1.6 Genetische mannelijke steriliteit

5.1.6.1 Productie van genetisch mannelijk steriele ouderlijnen

We nemen aan dat we over een m.s.-plant en een fertiele inteeltlijn beschikken. Het m.s. maken van de inteeltlijn gebeurt d.m.v. herhaald terugkruisen, uiteraard onder voortdurende selectie op m.s. De m.s. is voor de bloei (eigenlijk tijdens de bloei van het eerste bloemetje) te herkennen, maar is helaas recessief. De controle op het behoud van m.s. is daardoor nogal lastig (zie figuur 5.1).

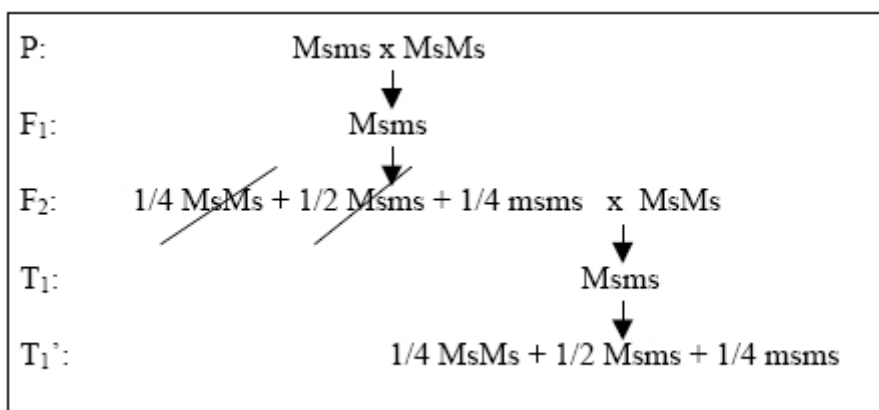


Fig. 5.1. Inkruisen van g.m.s

Wanneer men er zeker van is dat in F₁, T₁ etc. het ms-allel aanwezig is (wat bijna niet anders kan omdat zelfbevruchting bij m.s.-planten is uitgesloten), dan kan de procedure versneld worden door eerst terug te kruisen en dan pas zelf te bevruchten (zie figuur 5.2).

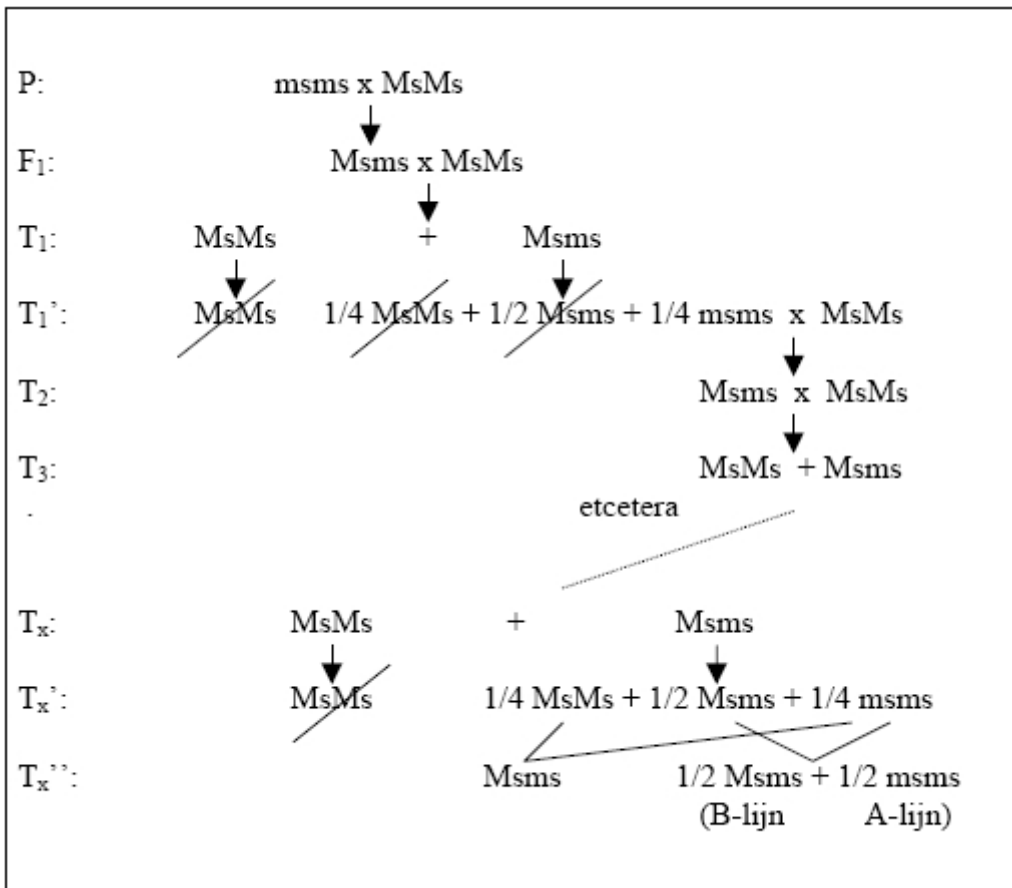


Fig. 5.2. Inkruisen van g.m.s., afsluiting terugkruising en opsporing instandhouderslijn

Het aantal terugkruisingen is geheel afhankelijk van het genetische verschil tussen de gebruikte inteeltlijn en de m.s.-geniteur. De veredelaar die als eerste m.s. uit een wilde peper in het Nederlandse paprikatype heeft ingekruist zal 5 tot 10 maal hebben teruggekruist om de gebruikswaarde van onze paprikarassen te combineren met (uitsluitend) de m.s. uit de wilde peper. De andere veredelaars kunnen nu de m.s. veel eenvoudiger uit de eerste hybridenrassen halen. Ze hoeven dan veel minder vaak terug te kruisen.

De terugkruisingsprocedure wordt na voldoende vaak te hebben teruggekruist afgesloten met zelfbevruchting van de *Msms* planten gevolgd door toetskruising van de fertiele planten op de *msms*-planten. Wanneer gekruist wordt met een heterozygote vaderplant, splitst die 1:1 *Msms*:*msms* uit. Het overige genotype is hetzelfde (op koppelingen met het *ms*-locus na) en men noemt de lijnen *isogeen*. De fertiele lijn kan verder gebruikt worden voor de instandhouding van de mannelijk steriele lijn en wordt instandhouderlijn of *B-lijn* genoemd. De mannelijk steriele lijn wordt als moederlijn gebruikt bij de hybridenzaadproductie en wordt *A-lijn* genoemd.

Wanneer men uitgaat van niet-homozygote *MsMs*-planten (voor de rest van het genotype) bij kruisbevruchters, dan zijn er twee mogelijkheden voor het ontwikkelen van *ms*-lijnen:

- Eerst *MsMs*-lijnen ontwikkelen en die vervolgens m.s. maken (zie hiervoor).
- Tegelijkertijd m.s. inkruisen en lijnen maken.

De tweede mogelijkheid verloopt als volgt (zie figuur 5.3):

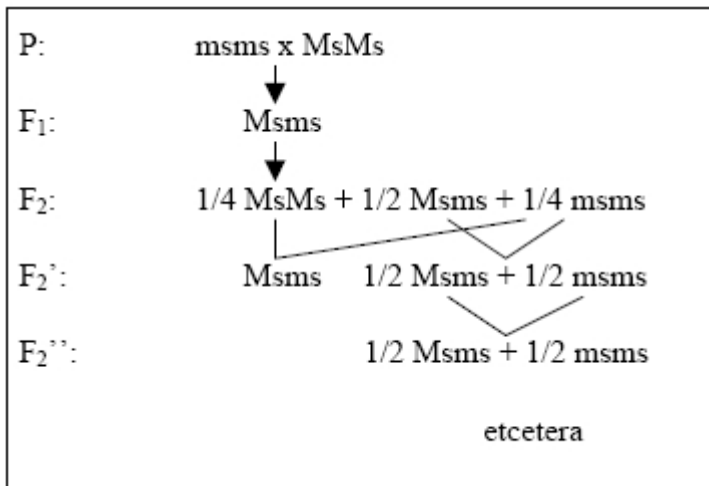


Fig. 5.3. Ontwikkeling van genetisch mannelijk steriele lijnen vanuit heterozygoot materiaal.

Via toetskruising op $msms$ worden $Msms$ -planten achterhaald. Die splitsen 1:1 $Msms:msms$ uit en de 'broertjes en zusjes' kunnen herhaald met elkaar worden gekruist totdat de lijnen voldoende homozygoot zijn.

5.1.6.2. Instandhouding van genetische mannelijke steriliteit

De instandhouding van g.m.s. geschiedt door kruising van een A-lijn met een B-lijn.

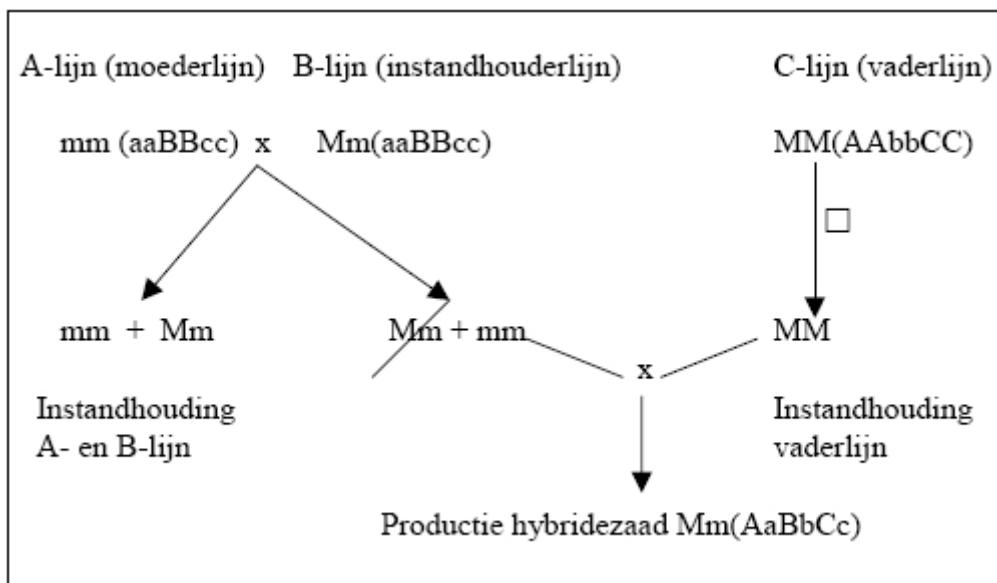


Fig. 5.4. Hybridezaadproductie met g.m.s.

De op de A-lijn geogoste zaden leveren dus weer zowel A- als B-lijn. Omdat het gaat om de instandhouding, zullen A- en B-lijn *isogeen* zijn. Dat wil zeggen dat de rest van het genotype van de A- en B-lijn identiek zijn, met andere woorden, alleen het ms -locus (en eventueel daaraan gekoppelde eigenschappen) splitst uit.

5.1.6.3 Gebruik van genetische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie

Bij vele gewassen is g.m.s. bekend, onder andere bij kool, zonnebloem, paprika en tomaat. Bij tomaat komen zelfs 4 soorten g.m.s. voor:

- Positionele m.s. (heterostylie, geen echte vorm van m.s.)
- Functionele m.s.
- Meeldraadloosheid
- Pollensteriliteit

Deze laatste vorm van g.m.s. bij tomaat is tevens voor zover bekend de enige vorm die in Frankrijk bij tomaat gebruikt wordt voor de productie van hybridezaad. Er zijn vele Ms/ms-loci. Het allel ms32 wordt gebruikt omdat het ook het korter worden van de meeldraden veroorzaakt, waardoor handbestuiving gemakkelijker verloopt. Wanneer het korter worden van de meeldraden zou berusten op dominante allelen, dan zouden de hybriden onbruikbaar worden. Al onze rassen zijn kortstijlig, omdat dan zelfbestuiving en -bevruchting het gemakkelijkst kan optreden. In Nederland worden overigens alle tomatenrassen (hybriden) met de hand geëmasculeerd en bestoven.

Dat g.m.s. zo weinig wordt gebruikt bij de zaadteelt van hybriderassen, komt waarschijnlijk omdat het inkruisen en de instandhouding lastig zijn. In de zaadproductie dient men 50 % B-lijnplanten uit de A-lijn te verwijderen. Praktisch kan dit bij een aantal gewassen voor het uitplanten van de planten op het productieveld, door ze iets langer op te kweken. Bij gewassen die normaliter ter plaatse gezaaid worden zoekt men naar selectiemogelijkheden via koppeling met zogenaamde signaalkenmerken, waardoor de planten in een jong stadium geselecteerd kunnen worden. Tegenwoordig kan men via merkers de m.s.-planten ook herkennen.

Met behulp van g.m.s. kan men alleen single cross hybriden maken zonder emasculatie, omdat de F_1 fertiel is. Bij vrucht- en zaadgewassen is dat een voordeel, omdat anders geen vruchten ontstaan (tenzij er *partenocarpie* is).

5.1.7 Cytoplasmatische mannelijke steriliteit

5.1.7.1 Het inkruisen van cytoplasmatische mannelijke steriliteit

Het inkruisen van c.m.s. is relatief eenvoudig omdat de m.s. via de moeder overerft. Door een c.m.s.-plant herhaald terug te kruisen met een fertiele inteeltlijn combineert men het steriele plasma met de genen van de inteeltlijn (zie figuur 5.5). Het is uiteraard ook mogelijk het intelen door middel van voortgezette broer-zus kruisingen met het c.m.s.-maken te combineren. Steeds dient rekening gehouden te worden met inteelt.

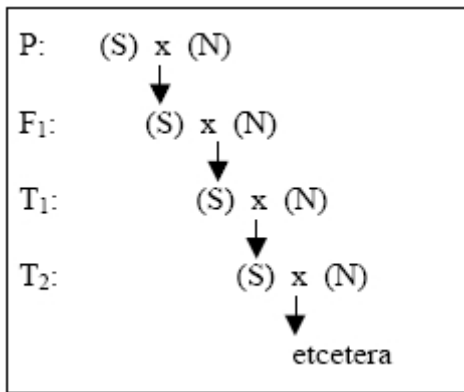


Fig. 5.5. Inkruisen van cytoplasmatische mannelijke steriliteit

5.1.7.2 Instandhouding van cytoplasmatische mannelijke steriliteit

De vaderlijn die gebruikt is bij het herhaald terugkruisen, is de B-lijn. De instandhouding van de A-lijn verloopt eenvoudig (zie figuur 5.6).

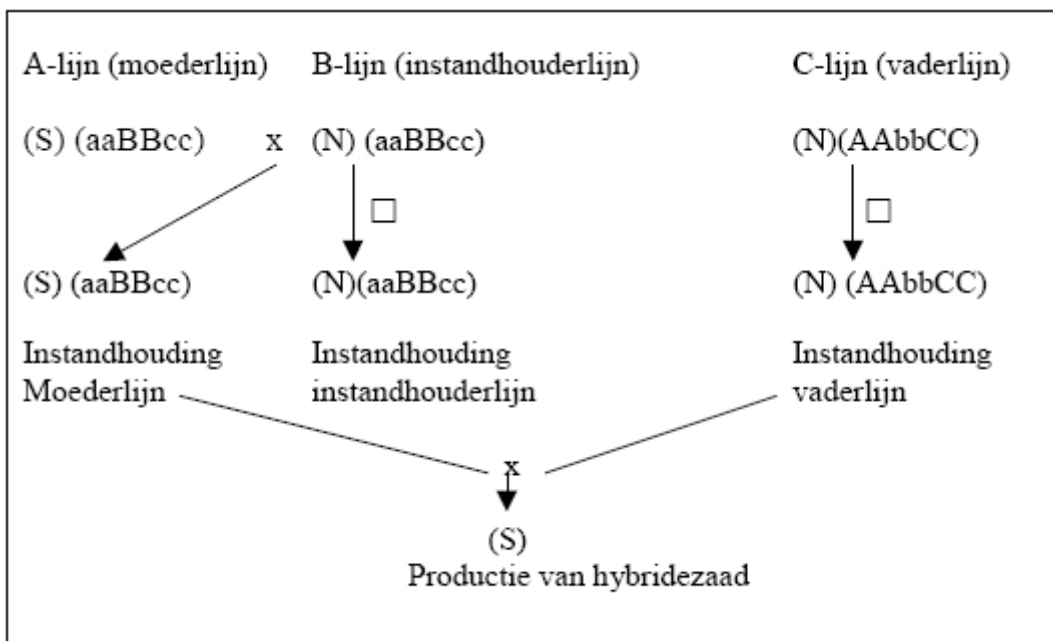


Fig. 5.6. Hybridezaadproductie met behulp van c.m.s. en instandhouding ouderlijnen.

De B-lijn wordt door zelfbevruchting instandgehouden. In de meeste gevallen gaat dat eigenlijk vanzelf; A- en B-lijn worden in dezelfde ruimte gezet, vliegen of bijen doen het bestuivingswerk en men oogst op de A-lijn de volgende generatie van de A-lijn en op de B-lijn de volgende generatie van de B-lijn.

5.1.7.3 Gebruik van cytoplasmatische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie

C.m.s is bruikbaar bij de productie van single en three way cross hybriden van gewassen die niet voor vruchten of zaden worden geteeld.

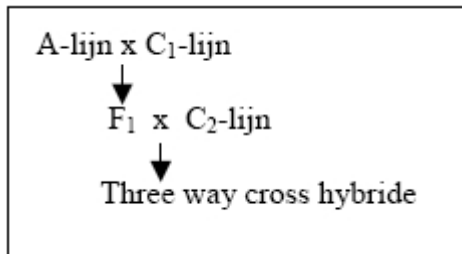
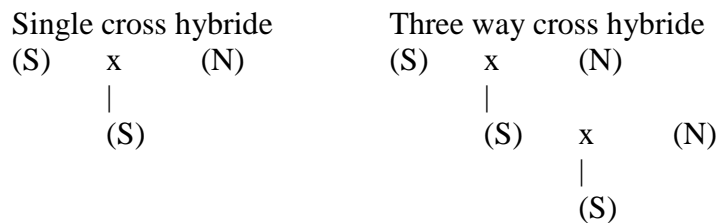


Fig. 5.7. Hybridezaadproductie met behulp van cytoplasmatische mannelijke steriliteit:



5.1.8 Cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit

5.1.8.1 Productie van cytoplasmatisch-genetisch mannelijke steriele lijnen

Zuivere c.m.s. wordt zelden aangetroffen, meestal zijn er naast (S)- en (N)-plasma ook Herstellergenen te vinden. (S)rfrf planten zijn eenvoudig te herkennen aan het feit dat ze m.s. zijn. Door een groot aantal fertiele planten op m.s. moeders te kruisen en tevens zelf te bevruchten, achterhaalt men de planten met het idiootype (N)rfrf. Het produceren van de A- en B-lijn verloopt als bij c.m.s.

Het produceren van de A-lijnen is bij alle typen m.s. een kostbare zaak. Door ervoor te zorgen dat de A-lijnen een hoge a.c.g. hebben, kunnen ze waarschijnlijk later met verschillende C-lijnen gecombineerd worden en verschillende hybriden leveren.

5.1.8.2 Instandhouding van cytoplasmatisch-genetisch mannelijke steriele lijnen

Zie instandhouding genetische en cytoplasmatische mannelijke steriliteit.

5.1.8.3 Gebruik van cytoplasmatisch-genetische mannelijke steriliteit bij de hybridezaadproductie

Door de combinatie van twee plasmatyten en al dan niet fertiliteitsherstel, kan men c.g.m.s. gebruiken voor de productie van zowel single cross hybriden, als voor three way en double cross hybriden, zonder te hoeven emasculeren.

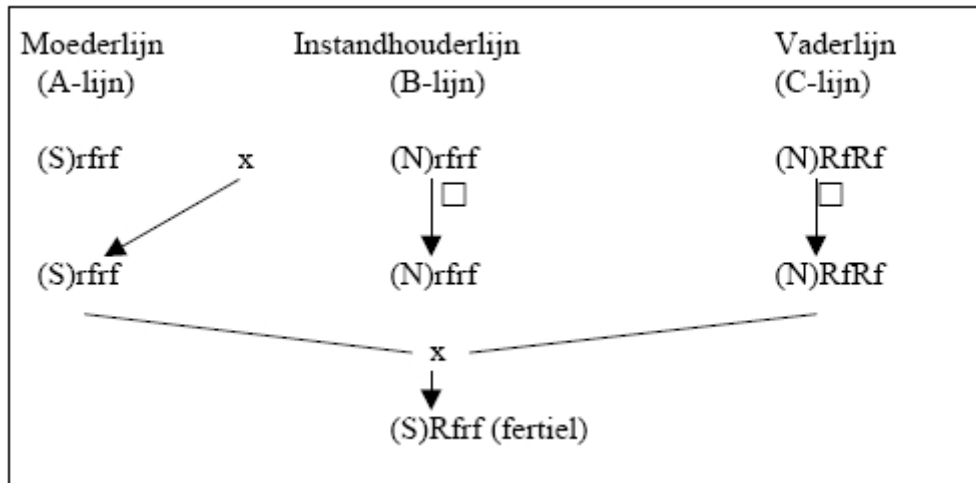


Fig. 5.8. Voorbeeld hybridezaadproductie met behulp van c.g.m.s. voor een vruchtgewas.

5.1.9 Toepassing van mannelijke steriliteit

5.1.9.1 Productie van hybriderassen

Mannelijke steriliteit opent de weg voor de veredeling van hybridegewassen. Door m.s. wordt zelfbevruchting voorkomen, zodat kruisbevruchting kan plaatsvinden. Er dient aan 4 voorwaarden te worden voldaan om tot een rendabele teelt van hybriderassen te komen:

- Volledige mannelijke steriliteit.
- Stabiel fertiliteitsherstel bij vrucht- en zaadgewassen.
- Goede hybridezaadzetting.
- Heterosis voor de gewenste eigenschappen.

5.1.9.2 Hybridezaadzetting

Om bij zelfbevruchters tot een goede hybridezaadzetting te komen is intensieve kruisbestuiving nodig. Veelal heeft de zelfbevruchter tijdens zijn evolutie factoren voor een goede kruisbestuiving verloren. Vaak zal het gebruik van m.s. dan ook slechts leiden tot het achterwege blijven van emasculatie en zal de bestuiving met de hand worden uitgevoerd. Voor tomaat zou dat al een besparing van 40 % op de kosten van zaadproductie betekenen.

Handbestuiving om hybridezaad te krijgen (eventueel voorafgegaan door emasculatie) wordt toegepast bij die gewassen waarvan weinig planten per m² geteeld worden en die veel zaden

per bestuiving leveren. Het zaad is wel duur, maar dat vormt voor bijvoorbeeld siergewassen en tomaat geen bezwaar.

5.1.9.3 Enkele voorbeelden

Uienhybriden hebben in het algemeen een betere kwaliteit en grotere uniformiteit (machinale oogst) dan de traditionele rassen. Hybriderassen van ui kunnen relatief gemakkelijk worden gemaakt omdat in de bestaande rassen A- en B-lijnen naast elkaar voorkomen.

Werkwijze:

- Zoeken naar (S)rfrf respectievelijk (N)rfrf planten in verschillende rassen.
- Inteelt van A- en B-lijnen.
- Proefkruisingen maken tussen A-lijn van het ene ras met B-lijnen uit andere rassen. De A-lijn wordt in stand gehouden door kruising met een B-lijn. Daardoor wordt op den duur het genotype van de A-lijn gelijk aan dat van de B-lijn. De A-lijn houdt echter het eigen plasmatype.

Voor hybridewortel heeft men c.g.m.s. planten ontwikkeld, die gebruikt worden bij de hybridezaadproductie. In de V.S. waren rond 1975 al hybriderassen van peen. In Nederland kwamen de eerste hybriderassen in 1981.

Bij radijs maakt men eveneens gebruik van m.s. voor de productie van hybridezaad. Enza was het eerste veredelingsbedrijf dat met hybrideradijs kwam (1982). De m.s. bij radijs is waarschijnlijk afkomstig uit Frankrijk. De m.s.-lijnen zijn op het I.V.T. (het voormalige instituut voor tuinbouwgewassen, thans PRI) opgezuiverd en men heeft daar B-lijnen ontwikkeld.

5.1.9.4 Problemen bij de toepassing van mannelijke steriliteit

Bovenstaande gewassen zijn alle kruisbevruchters, hetgeen nogal eens problemen wil geven. De A-lijnen worden in stand gehouden door kruising met de B-lijn, de B-lijn wordt in stand gehouden door zelfbevruchting. Dit zijn de twee scherpste vormen van inteelt.

Kruisbevruchters hebben in het algemeen veel last van inteelt. De planten worden kleiner, gevoeliger voor ziekten en de zaadopbrengst neemt af. Bij ui, maar vooral bij peen komt dit voor. Radijs schijnt minder last te hebben van inteelt.

Een ander probleem waar men soms mee te maken heeft is de milieugevoeligheid van de expressie van m.s. Bij ui vond men het volgende:

Tabel 5.6. Invloed temperatuur op expressie fertiliteit bij ui

Ouderlijn	Temperatuur 14 °C	Temperatuur 23 °C
A-lijn	Steriel	Steriel
B-lijn	Fertiel	Fertiel
C-lijn	Steriel	Fertiel

Bij een lage temperatuur vormt de C-lijn geen stuifmeel en kan dus geen hybridezaad worden geteeld. Bij peen komt het voor dat m.s.-planten bij bepaalde temperaturen toch fertiel

stuifmeel produceren. Het gevolg zal dan zijn dat er een bepaald percentage inteeltzaad in het handelszaad zit.

5.1.9.5 Milieu-invloed op de mannelijke steriliteitsexpressie

Milieufactoren kunnen de fertiliteitsexpressie van zowel normale als genetisch en/of cytoplasmatisch mannelijk steriele planten beïnvloeden. In de praktijk blijkt dat vooral c.m.s.-planten gevoelig kunnen zijn. Temperatuur lijkt hierbij de belangrijkste factor te zijn.

Andere factoren die van invloed zijn, zijn luchtvochtigheid, plantdichtheid, vermeerderingsmethode, daglengte en bodemvruchtbaarheid. Het is daarom van belang, dat indien gebruik gemaakt wordt van m.s., eerst terdege wordt gecontroleerd of het milieu hierop enige invloed heeft.

Ook wordt in de literatuur gewezen op de mogelijkheid gebruik te maken van milieuafhankelijke fertiliteitsexpressie. Gedacht wordt aan het intelen van m.s.-materiaal op plaatsen waar m.s. niet tot uiting komt. In “steriele” milieus kan dan hybridezaadteelt plaatsvinden op 100 % m.s.-planten.

De invloed van het milieu vindt, indien het geproduceerde pollen steriel is, of wanneer de normaal gevormde helmknoppen geen stuifmeel bevatten, in het algemeen plaats tijdens de meiose. Vaak kan binnen deze periode een specifieke gevoelige fase worden aangewezen. Wanneer de beïnvloeding in een eerdere periode plaatsvindt, zijn vaak antheren afwijkend of afwezig. Partieel fertiele of steriele planten zijn vaak gevoeliger voor het milieu, dan fertiele of steriele, waarbij de steriliteit van c.g.m.s. vaak stabiel is dan de fertiliteit van de “hersteld” fertiele planten.

Enkele gewassen bij welke de fertiliteitsexpressie soms milieu-afhankelijk is, zijn onder andere:

- *Beta*, biet/kroot.
Een hoge plantdichtheid bevordert de GA-vorming en de fertiliteit van de c.m.s.-suikerbiet. Ook een hoge temperatuur heeft een fertiliserende werking. Verder is gebleken dat een lange dag fertiliserend, een korte dag steriliserend werkt. Droogte bevordert steriliteit.
- *Brassica*, kool.
Bij het geslacht *Brassica* zijn thermolabiele steriliteit-inducerende genen aangetoond. Broccoliplanten van het msms-type waren bij hogere temperaturen steriel en bij lagere fertiel. Bloemkoolplanten met het genotype msms waren bij 17°C mannelijk steriel en bij 10 °C fertiel. Bij spruiten blijkt de pollenfertiliteit af te nemen naarmate de relatieve vochtigheid hoger wordt.
- *Raphanus*, radijs.
Verschillende partiele m.s. families werden mannelijk steriel in augustus, vervolgens vanaf half september tot en met april weer fertiel en vanaf mei weer m.s.
- *Lycopersicon*, tomaat.
Bij een g.m.s. mutant van tomaat is temperatuurgevoeligheid geconstateerd wat betreft de fertiliteit. Afwijkende morfologie en fertiliteit van de meeldraden trad hier op bij temperaturen hoger dan 30°C. Het gevoelige stadium was drie weken voor de bloei (meiose vindt ongeveer 10 dagen voor de bloei plaats).
- *Petunia*.

C.m.s planten en planten met normaal plasma bleken geen temperatuurafhankelijke fertiliteitsexpressie te vertonen. De hersteld fertiele planten waren, afhankelijk van de gebruikte herstellergenen bij 12°C altijd fertiel, bij 21°C partieel fertiel en bij 24°C geheel steriel.

- *Allium*, ui.
A- en B-lijnen van de Nederlandse variëteit “Rijnsburg” en de Poolse variëteit “Wolska” werden gebruikt om het effect te onderzoeken van temperatuur op de seksexpressie van uien. Veel lijnen bleken hierin stabiel te zijn. Veel andere echter reageerden wel op temperatuur. Tot nu toe zijn er twee uitgesproken invloeden gevonden op de seksexpressie van uien, namelijk temperatuurs- en GA-invloed.

5.2 Incompatibiliteit

5.2.1 Inleiding

Bij onze kruisbevruchtende gewassen kennen we verschillende natuurlijke systemen om enerzijds zelfbevruchting, dus inteelt, te voorkomen en anderzijds kruisbevruchting en dus genetische recombinatie te bevorderen. Eén van die systemen is de zelfincompatibiliteit en kruisingsincompatibiliteit tussen nauw verwante individuen. We hebben hier te maken met een zeer efficiënt systeem, waarbij langs fysiologische weg gametenvereniging wordt verhinderd, maar de gameten zelf volkomen intact zijn. Van steriliteit zowel aan moeders- als aan vaderszijde is geen sprake, daarom vermijden we het liefst de term zelfsteriliteit die in de Duitse literatuur nogal eens voorkomt.

Het verschijnsel incompatibiliteit is al in 1784 door Koelreuter waargenomen bij toorts (*Verbascum* sp.) en sindsdien hebben vele onderzoekers er bij diverse gewassen melding van gemaakt. Er worden drie incompatibiliteits-systemen onderscheiden:

- *gametofytisch*, bepaald door *één locus*,
- *gametofytisch*, bepaald door *twee loci*,
- *sporofytisch*, bepaald door *één locus*.

Bij het *gametofytische* systeem wordt de reactie bepaald door de haploïde kern van de stuifmeelkorrel en de diploïde kernen van de stamper en in het *sporofytische* systeem door beide genomen van de vaderplant, die het stuifmeel heeft gevormd en de diploïde kernen van de stamper.

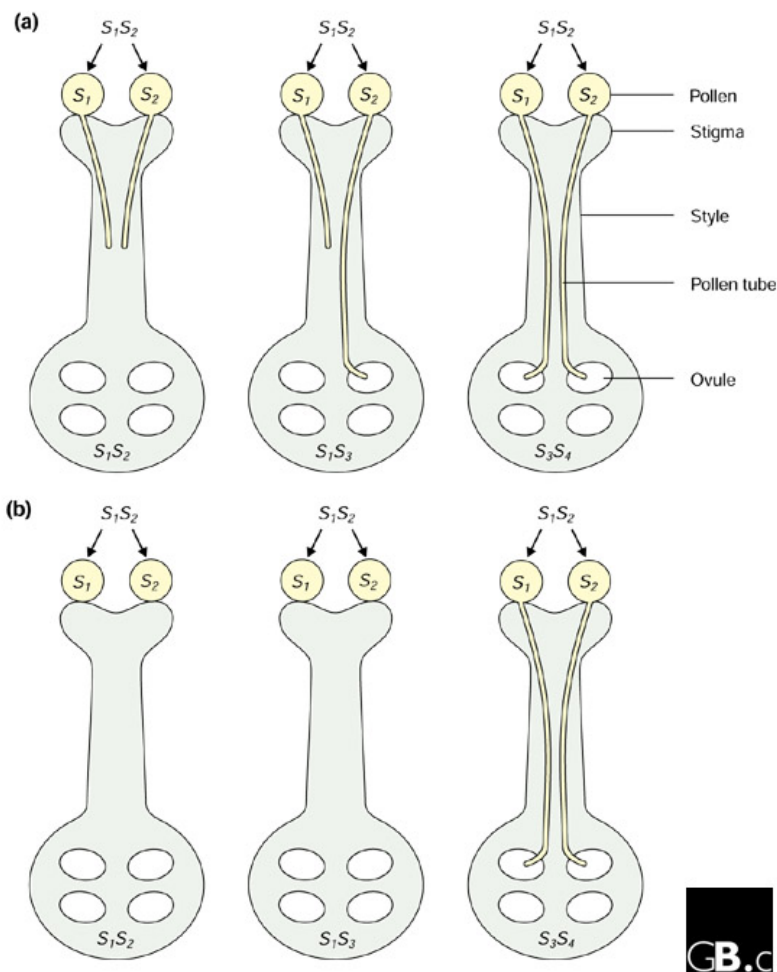


Fig. 5.9. Gametofytische (boven) en sporofytische incompatibiliteit (onder).

Gewassen met een gametofytisch 1-locussysteem zijn enkele kruisbevruchtende Nicotianasoorten, enkele kruisbevruchtende Lycopersicon- en Solanumsoorten en klavers. Het gametofytische 2-loci- systeem komt voor bij een aantal Gramineae. Het sporofytisch systeem komt onder andere voor bij de Cruciferen (Brassica, Raphanus) en wordt vooral bij kool gebruikt bij de productie van hybridezaad. Een uitgebreid overzicht is in onderstaande tabel opgenomen.

Tabel 5.7. Incompatibiliteitssysteem van 22 families (50 geslachten).

Systeem	Familie	Geslachten
Gametofytisch	<i>Solanaceae</i>	Lycopersicon, Nicotiana, Petunia, Solanum, Physalis
	<i>Scrophulariaceae</i>	Anthirrhinum, Nemesia, Veronica, Verbascum
	<i>Onagraceae</i>	Oenothera
	<i>Papaveraceae</i>	Papaver
	<i>Bromeliaceae</i>	Ananas
	<i>Rosaceae</i>	Prunus, Malus, Pyrus
	<i>Commelinaceae</i>	Tradescantia
	<i>Liliaceae</i>	Lilium, Hemerocallis
	<i>Papilionaceae</i>	Trifolium, Medicago, Lotus
	<i>Plantaginaceae</i>	Plantago
	<i>Gramineae</i>	Secale, Hordeum, Festuca, Phalaris, Lolium, Briza
	<i>Ranunculaceae</i>	Ranunculus
	<i>Chenopodiaceae</i>	Beta
	<i>Euphorbiaceae</i>	Euphorbia
<i>Cupuliferae</i>	Castanea	
Sporofytisch	<i>Compositae</i>	Cosmos, Crepis, Chrysanthemum, Bellis, Helianthus, Parthenium, Carthamus, Ageratum
	<i>Cruciferae</i>	Capselia, Iberis, Brassica, Raphanus, Cardamine
	<i>Sterculiaceae</i>	Theobroma, Cola
	<i>Primuliaceae</i>	Primula
	<i>Lythraceae</i>	Lythrum
	<i>Plumbaginaceae</i>	Armeria
	<i>Linaceae</i>	Linum

5.2.2 Gametofytische incompatibiliteit

Bij het gametofytisch incompatibiliteits systeem wordt de reactie tussen stuifmeel en stamper bepaald door het genotype van de gameten zelf. Dat wil zeggen als de mannelijke gameet een allel (of allelencombinatie) bezit die ook in het stamperweefsel voorkomt, dan treedt de incompatibiliteitsreactie op. In concreto: stuifmeel met de constitutie S_x is incompatibel op (de stampers van) alle planten die ook een S_x allel bevatten (bijv. S_xS_y , S_xS_z).

Gametofytische incompatibiliteit berust in de meeste gevallen op één locus, het S-locus. De monofactoriële gametofytische incompatibiliteit vertoont de volgende kenmerken:

1. *Remming* van de groei van de stuifmeelbuizen treedt als regel op *in het stijlweefsel*.
2. De S-factor vertoont *multiple allelie*; bij *Trifolium pratense* zijn meer dan 200 S-allelen bekend.
3. Incompatibiliteit treedt op wanneer *hetzelfde S-allel* aanwezig is *in de stuifmeelkorrel en in het stijlweefsel*.
4. De reactie van het stuifmeel wordt uitsluitend *bepaald door het genotype van de haploïde gameet*.
5. De *S-allelen* in het stijlweefsel werken *onafhankelijk* van elkaar.
6. Er bestaan verschillen *in sterkte tussen de S-allelen*;
7. *Polyploidie heft gametofytische incompatibiliteit op*.

Binnen het 1-locus gametofytische incompatibiliteitssysteem zijn 3 kruisingsresultaten mogelijk:

- $S_1S_2 \times S_1S_2 \rightarrow$ geen zaadzetting (zie figuur 5.1 a1):
- $S_1S_2 \times S_1S_3 \rightarrow S_1S_3 + S_2S_3$ (gedeeltelijke incompatibiliteit, zie figuur 5.1 a2)
- $S_1S_2 \times S_3S_4 \rightarrow S_1S_3 + S_1S_4 + S_2S_3 + S_2S_4$ (volledige compatibiliteit, zie figuur 5.2 a3)

Als de kruisingsouders beide S-allelen gemeenschappelijk hebben, is de combinatie incompatibel. Hebben zij één allel gemeenschappelijk, dan neemt de helft van de stuifmeelkorrels aan de bevruchting deel, namelijk die met het in de stijl niet voorkomende S-allel en wordt derhalve slechts de helft van de mogelijke S-combinaties in de nakomelingschap gerealiseerd. Zijn de beide S-allelen in moederplant en bestuiver verschillende dan is er volledige compatibiliteit. Bij volledige compatibiliteit (c) keren de oudertypen niet in de nakomelingschap terug. Bij onvolledige compatibiliteit (b) keert het *vadergenotype* in de nakomelingschap terug. Dit is van belang bij het uitvoeren van herhaalde terugkruisingen!

Opdracht

Geef de genotypen bij de reciproke kruisingen van de incompatibiliteitsallelen in de voorgaande voorbeelden.

Veel minder algemeen dan 1-locus gametofytische incompatibiliteitssysteem is het gametofytische incompatibiliteits systeem berustend op 2 loci. Dit type komt vooral voor bij Gramineëne (rogge, beemlangbloem, *Hordeum bulbosum*) en bij enkele nachtschade soorten. De bifactoriële gametofytische incompatibiliteit vertoont de volgende kenmerken:

1. *Remming* van de groei van de pollenbuis reeds *op de stempel* (geen ingroei).
2. De *reactie* van de pollenkorrel wordt uitsluitend *bepaald door het genotype van de haploïde kernen* in verhouding tot het genotype van de 2n-kernen in de stamper.
3. Op beide loci komt *multiple allelie* voor.
4. De *allelen* van de 2 loci werken in de meeste gevallen *onafhankelijk van elkaar*.
5. Voor incompatibiliteit moet de kern van de *pollenkorrel op ieder van de twee loci een allel gemeen hebben met de stamper* (complementaire werking).
6. *Polyploidie heft deze vorm van incompatibiliteit niet op*.

Op grond van de complementariteit van de S- en Z-genen zal bijvoorbeeld een S_1Z_1 -pollenkorrel incompatibel zijn met een $S_1S_2Z_1Z_2$ stamper, maar compatibel met een $S_1S_2Z_2Z_3$. Als we afzien van voor een locus homozygote genotypen dan zijn er 6 mogelijke groepen van kruisingsresultaten, afhankelijk van het aantal overeenkomstige allelen bij de ouders en het voorkomen van overeenkomstige allelen op één of twee loci:

Tabel 5.8. Mogelijke kruisingsresultaten bij 2-locus gametofytische incompatibiliteit

Aantal gemeenschappelijke allelen in ouders		voorbeeld	% van het pollen compatibel	Aantal genotypen in de F ₁
S-locus	Z-locus			
2	2	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_1Z_2$	0	-
2	1	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_1Z_3$	50	6
1	1	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_3Z_1Z_3$	75	12
2	0	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_3Z_4$	100	12
1	0	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_3Z_3Z_4$	100	16

0	0	$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_3S_4Z_3Z_4$	100	16
---	---	------------------------------------	-----	----

Als voorbeeld geven we de 6 genotypen van de kruising $S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_1Z_3$:

Tabel 5.9. Resultaten van de kruising $S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_1Z_3$.

Vrouwelijke gameten	stamper	Mannelijke gameten			
		S_1Z_1	S_1Z_3	S_2Z_1	S_2Z_3
S_1Z_1	$S_1S_2Z_1Z_2$	-	$S_1S_1Z_1Z_3$	-	$S_1S_2Z_1Z_3$
S_1Z_2		-	$S_1S_1Z_2Z_3$	-	$S_1S_2Z_2Z_3$
S_2Z_1		-	$S_1S_2Z_1Z_3$	-	$S_2S_2Z_1Z_3$
S_2Z_2		-	$S_1S_2Z_2Z_3$	-	$S_2S_2Z_2Z_3$

Omdat de allelencombinaties S_1Z_1 en S_2Z_1 ook in de stamper voorkomen, mislukken de bestuivingen met S_1Z_1 en S_2Z_1 pollenkorrels; de beide andere genotypen (S_1Z_3 en S_2Z_3) zijn wel compatible. Er ontstaan dus zes nakomelingschapsgroepen, waarvan er twee ($S_1S_2Z_1Z_3$ en $S_1S_2Z_2Z_3$) in een dubbele frequentie voorkomen.

Gaan we F_1 -planten onderling kruisen, dan kunnen reciproke verschillen voorkomen, bijvoorbeeld:

$S_1S_2Z_3Z_4 \times S_1S_1Z_3Z_4 \rightarrow$ incompatibel

$S_1S_1Z_3Z_4 \times S_1S_2Z_3Z_4 \rightarrow$ compatibel (50% van de pollen).

Opdracht

Bepaal de samenstelling van de nakomelingschap van de kruising:

$S_1S_2Z_1Z_2 \times S_1S_2Z_1Z_3$

5.2.3 Sporofytische incompatibiliteit

De *sporofytische incompatibiliteit* wordt bepaald door het S-genotype van de vaderplant en dat van de moederplant. Bij het sporofytische incompatibiliteitssysteem levert de kruising $S_1S_2 \times S_1S_3$ geen bevruchting op, omdat de vaderplant een S-allel gemeenschappelijk heeft met de moederplant, namelijk het S_1 – allel (zie figuur 5.1 b). De kruising $S_1S_2 \times S_3S_4$ is ook nu volledig compatibel.

Naast de tot nu toe veronderstelde onafhankelijke werking van de S-allelen, kennen we bij de koolgewassen ook dominante werking van de S-allelen, waardoor er veel meer kruisingen bevruchtingen opleveren. De kruising $S_2S_3 \times S_1S_2$ levert de volgende nakomelingen: $S_1S_2 + S_1S_3 + S_2S_2 + S_2S_3$ als S_1 dominant is over S_2 in de pollen. Uit dit kruisingsresultaat is te zien, dat het mogelijk is dat voor de S-allelen in de plant homozygotie kan zijn (S_2S_2). S-allel kan dus een ander aanwezig S-allel overheersen, zodat alleen de dominante S-allel de incompatibiliteitsreactie bepaalt. Er zijn vijf (eigenlijk vier) van deze *dominantieverhoudingen* mogelijk bij monofactoriële overerving.

Tabel 5.10. Sporofytische incompatibiliteitreacties met aanwezigheid van dominantie ($>$) en onafhankelijke overerving ($=$) van de S-allelen, waarbij $S_1 < S_2$ betekent: S_2 dominant over S_1 en $S_1 = S_2$ beide allelen komen tot expressie, codominantie).

Interactietype	I	II	III	IV	V
Pollen	$S_1 < S_2$	$S_1 < S_2$	$S_1 = S_2$	$S_1 = S_2$	$S_1 > S_2$
Stamper	$S_1 < S_2$	$S_1 = S_2$	$S_1 < S_2$	$S_1 = S_2$	$S_1 < S_2$

Type 5 is zelf-compatibel. Hoewel het een enkele maal voorkomt, is de frequentie ervan zeer laag, want het heeft een sterke negatieve selectiedruk door inteelt.

De resultaten van een kruising zijn volledig afhankelijk van de aard van de interallele reacties. Als voorbeeld nemen we de kruising $S_1S_2 \times S_2S_3$, waarbij de in de beide partners tot expressie komende allelen zijn onderstreept (tabel 5.11).

Tabel 5.11. Resultaten van de kruising $S_1S_2 \times S_2S_3$ bij de vier interactietypen.

♀ x ♂	Interactietype	Compatibiliteit	Genotypen F ₁
$S_1\underline{S_2} \times S_2S_3$	I	+	$S_1S_2 + S_1S_3 + S_2S_2 + S_2S_3$
$S_1\underline{S_2} \times S_2\underline{S_3}$	II	+	$S_1S_2 + S_1S_3 + S_2S_2 + S_2S_3$
$S_1\underline{S_2} \times S_2\underline{S_3}$	III	-	-
$S_1\underline{S_2} \times S_2\underline{S_3}$	IV	-	-
Reciprook:			
$S_2S_3 \times S_1\underline{S_2}$	I	+	$S_1S_2 + S_1S_3 + S_2S_2 + S_2S_3$
$S_2S_3 \times S_1\underline{S_2}$	II	-	-
$S_2S_3 \times S_1\underline{S_2}$	III	+	$S_1S_2 + S_1S_3 + S_2S_2 + S_2S_3$
$S_2S_3 \times S_1\underline{S_2}$	IV	-	-

Uit dit voorbeeld blijkt dat:

- homozygotie legitiem kan voorkomen;
- de ouderlijke genotypen terug *kunnen* komen. In andere kruisingscombinaties hoeft dit niet het geval te zijn, bijvoorbeeld:
 $S_1S_2 \times S_3S_4 \rightarrow S_1S_3 + S_1S_4 + S_2S_3 + S_2S_4$
- er reciproke verschillen mogelijk zijn bij de interactietypen II en III;
- het sporofytische systeem een 'alles of niets systeem' is. Gedeeltelijke incompatibiliteit komt niet voor.

N.B. Bedankt dat de begrippen 'dominant' en 'dominerend' allel in een andere betekenis worden gebruikt dan in de klassieke genetica. Vermijd de term 'recessief' allel voor de (in een bepaalde genotypische constitutie) niet tot expressie komend S-allel, maar hanteer bijvoorbeeld termen als 'niet-dominerend S-allel' of 'niet tot expressie komend S-allel'.

Opdrachten

- Een stamper met genotype S_xS_z (= x.z) wordt bestoven met stuifmeel van een buurplant met genotype S_xS_y (= x.y). Geef uit resultaat van deze kruising (+ = compatibel; - = incompatibel) bij de volgende dominantierelaties:
 - stamper $x > y > z$ en pollen $x > y > z$;
 - stamper $x < y < z$ en pollen $x < y < z$;
 - stamper $x < y < z$ en pollen $x > y > z$;
 - stamper $x > y > z$ en pollen $x = y = z$;
 - stamper $x < y < z$ en pollen $x = y = z$;
 - stamper $x = y = z$ en pollen $x = y = z$.
- Voer dezelfde bewerking uit met stuifmeel afkomstig van een plant met genotype S_yS_z .

3. Vergelijk het resultaat van reciproke kruisingen $S_1S_2 \times S_2S_3$ voor het gametofytische incompatibiliteitssysteem en de 5 typen van het sporofytische incompatibiliteitssysteem.

5.2.4 Fenotypische expressie van compatibiliteit, incompatibiliteit en incongruentie

Wanneer een normale rijpe pollenkorrel op een normale receptieve stamper terecht komt of gebracht wordt (natuurlijke respectievelijk kunstmatige bestuiving) en de combinatie pollen-stamper compatibel is, treedt een periode van intensieve samenwerking op tussen pollenkorrel en stamper. Gedurende deze periode worden de gameten of generatieve kernen naar de embryozak getransporteerd, waar zij versmelten met de eicel en de secundaire embryozakkern. Deze samenwerking begint met de kieming van de pollenkorrels in het stempelvocht, het binnendringen van de pollenbuizen in de stijl, de doorgroei van de pollenbuizen door de hele stijl heen het vruchtbeginsel binnen, waar de buizen via de micropyle van de zaadknoppen binnengroeien in de embryozak; daar worden de generatieve kernen geloosd en vindt de bevruchting plaats.

Is de pollen-stamper-combinatie incompatibel, dan treden als gevolg van een soort antigeen-antibodyreactie tussen pollenkorrel en stamper remmingsverschijnselen op ergens in de fase tussen de bestuiving en de bevruchting. In grote lijnen zijn deze incompatibiliteitsreacties in drie fenotypische categorieën onder te verdelen:

1. De incompatibiliteitsreactie vindt plaats *op de stempel*, waardoor de kieming van de pollenkorrels niet of in geringe mate plaatsvindt en in elk geval geen pollenbuizen de stijl kunnen binnendringen. Voorbeelden: soorten van de Cruciferae, Compositae en Gramineae.
2. De incompatibiliteitsreactie vindt plaats *in de stijl*; de pollen korrels kiemen wel op de stempel, en de buizen groeien de stijl binnen, maar ergens in de stijl treedt remming op en stopt de groei. Voorbeelden: soorten van de Solanaceae, Rosaceae, Scrophulariaceae.
3. De incompatibiliteitsreactie vindt plaats *in het vruchtbeginsel* (*Beta vulgaris*, *Physalis ixocarpa*, *Freesia* ssp., sommige *Lilium* spp.) of zelfs pas in de embryozak. Bij cacao worden zelfs nog de generatieve kernen geloosd, maar versmelting van de gameten vindt niet plaats.

Tenslotte is kort geleden (1972) bij mango (*Mangifera indica*) gevonden, dat na zelfbestuiving van bepaalde rassen wel bevruchting optreedt, maar de zygoten degenereren, terwijl na kruisbestuiving normale vruchtvorming plaats vindt. Er is nog niet bewezen, dat we hier met een incompatibiliteitsmechanisme te maken hebben.

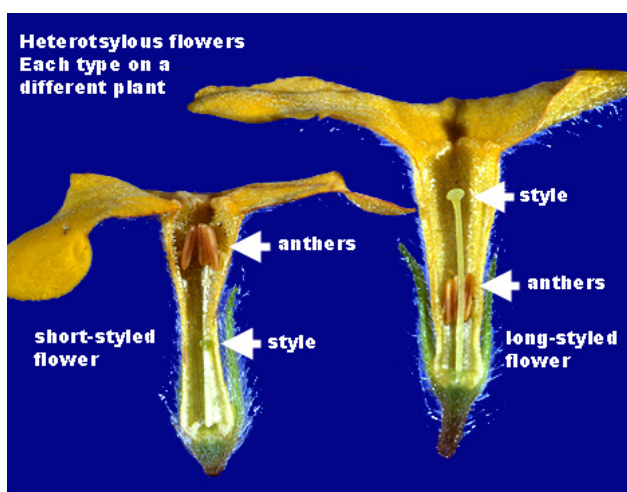
Bij kruisingen tussen soorten en geslachten kunnen ook reacties, zoals hierboven zijn beschreven, optreden. We spreken dan niet van incompatibiliteit maar van *incongruentie*. Er is sprake van incongruentie tussen soorten en geslachten als het pollen niet alle genetische informatie bezit, die nodig is om op de stamper te kunnen kiemen en door te groeien naar de zaadknop; er is geen “herkenning”. In dit verband wordt er gesproken van *barrièregenen* in de stamper en van *penetratiegenen* in het pollen.

Soms heeft kruising tussen verschillende soorten of geslachten slechts in één richting succes (unilaterale incongruentie).

5.2.5 Homomorfie en heteromorfie

Bij een aantal plantensoorten gaat de incompatibiliteit gepaard met of is gekoppeld aan een bepaalde bloembouw; *heteromorfie*. Dit in tegenstelling tot gewassen waarbij dit niet het geval is; *homomorfie*.

Heteromorfie uit zich meestal in de vorm van *heterostylie*, dit is het verschijnsel dat binnen een soort twee of drie verschillende typen planten voorkomen; respectievelijk planten met bloemen die een korte stijl hebben en planten met bloemen die een lange stijl hebben (heterodistylie). Heterotristylie komt bijvoorbeeld voor in het geslacht *Lythrum* (kattestaart). Heterodistylie komt bij verschillende *Primula* species voor (zie figuur 5.2). Bij de zaadteelt van dit gewas maakt men er gebruik van door de planten met lange stijlen als moeders te gebruiken.



Figuur 5.10. Heterodistylie bij *Primula*
(<http://www.inhs.uiuc.edu/~kenr/prairiephotos/lithcane.heterostyly.jpg>)

De planten met korte stijl en lange meeldraden zijn van het zogenaamde thrumtype (thrum=rafel of franje), de planten met lange stijl en korte meeldraden behoren tot het pintype. Distylie berust op een incompatibiliteitssysteem met slechts twee allelen:
Thrum = S_1S_2 (S_2 is dominant in pollen en stamper)
Pin = S_1S_1

Pin x pin en thrum x thrum kruisingen zijn theoretisch dus volledig incompatibel. In de praktijk levert het echter wel wat zaad op, al is het duidelijk minder als pin x thrum. Dit is van belang in verband met de instandhouding van de inteeltlijnen.

5.2.6 Aantonen van incompatibiliteit

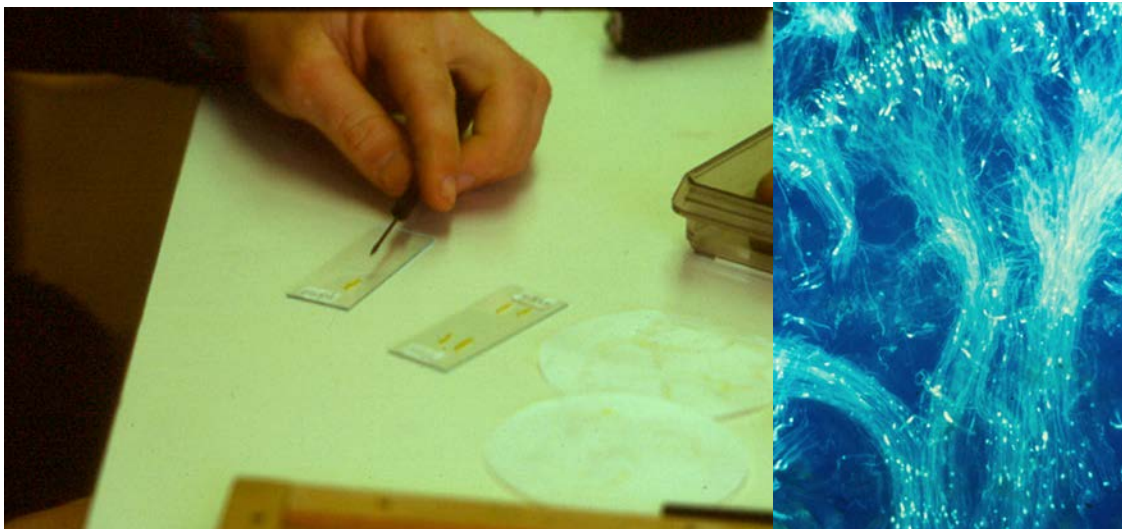
Wanneer weten we eigenlijk dat we te maken hebben met incompatibiliteit? Meestal is het aantonen van zelf- of kruisingsincompatibiliteit geen eenvoudige zaak. In de eerste plaats hebben we soms binnen 1 gewas verschillende S-allelen (tot zo'n 60 bij kool) die niet alle even sterk werken. Bovendien speelt het milieu dikwijls een belangrijke rol bij de sterkte van de incompatibiliteitsreactie.

Willen we onderzoeken of er incompatibiliteit binnen een groep planten is, dan moeten we er allereerst zeker van zijn, dat de planten mannelijk en vrouwelijk fertiel zijn. De vrouwelijke fertiliteit toetst men door de planten te bestuiven met een bekende mannelijk fertiele vaderplant. De mannelijke fertiliteit kan men redelijk betrouwbaar bepalen middels pollenkleuring of pollenkieming. De incompatibiliteitsrelaties kunnen worden onderzocht op diverse manieren.

Men zou de planten in alle richtingen kunnen kruisen inclusief zelfbestuivingen. Daar zitten een aantal bezwaren aan. In de eerste plaats kan de tijd tussen bestuiving en vrucht- en zaadzetting erg lang zijn. Bovendien kan men pas na herhaalde mislukte pogingen concluderen dat er een incompatibele reactie was. Wordt wel zaad gevormd, is er dan compatibiliteit of kan de incompatibiliteitsreactie door bijzondere omstandigheden uit zijn gebleven?

Bij de veredeling van hybriderassen van Brassica en Raphanus gebruikt men voor het vaststellen van een incompatibiliteitsreactie een methode die berust op een specifieke kleuring van callose in de groeiende pollenbuizen met anilineblauw. In de wanden van een groeiende pollenbuis is een dun laagje callose aanwezig, terwijl verder deze buis van tijd tot tijd wordt afgesloten met een calloseprop.

Onder de U.V.-microscopie licht de callose groen op. Daardoor steken de pollenbuizen af tegen het grijsblauwe stijlweefsel en kan men vaststellen of er remming van de pollenbuisgroei optreedt en waar.



Afbeelding 5.3. Prepareren van stampers en beeld van een compatibele reactie onder U.V.-microscopie (Foto's J. den Besten).

De Cruciferen vertonen bij volledig incompatibele combinaties remming op de stempel en ook de gekiemde pollenkorrels kunnen niet in de stijl penetreren. Bij compatibele reacties bedraagt het aantal gepenetreerde buizen meer dan 50. Daarnaast komen zwakkere S-allelen voor, die verschillende aantallen gepenetreerde buizen in de stijl toelaten. Op grond van deze aantallen onderscheidt men de verschillende S-allelen in sterkteklassen. De S-allelen kunnen zodoende worden geschilderd op hun bruikbaarheid in veredelingsprogramma's. Een dergelijke differentiatie is niet mogelijk wanneer alleen de zaadzetting wordt bekeken.

5.2.7 Het bepalen van het incompatibiliteitssysteem

Om te bepalen of we met gametofytische incompatibiliteit dan wel met sporofytische incompatibiliteit te maken hebben en bovendien in het laatste geval met welk interactietype, wordt dikwijls de volgende standaardprocedure gevolgd.

- a. Kies een aantal goed fertiele, strikt zelfincompatibele, overigens willekeurig gekozen planten uit de beschikbare heterogene kruisbevruchtende populatie. Fertiliteit is voor incompatibiliteitsonderzoek een eerste vereiste omdat steriliteit de resultaten zou kunnen vertroebelen. We moeten meer dan twee uitgangsplanten kiezen om de kans te ontlopen, dat twee gekozen planten toevallig hetzelfde genotype bezitten.
- b. Kruis de gekozen planten paarsgewijs en reciproom. Als er reciproke verschillen in kruisbaarheid zijn, dan hebben we niet te maken met het één-locus gametofytisch systeem te doen.
- c. Neem van één of meer F_1 's 16 tot 20 goed fertiele, overigens willekeurige planten. Het aantal te kiezen F_1 -planten is afhankelijk van het te verwachten aantal verschillende S-genotypen in de betrokken F_1 . Bij het één-locus systeem is dit aantal maximaal 4. Om in dit geval met 95 % zekerheid geen groep te missen, moet men minstens 16 planten nemen.
- d. Voer met deze F_1 -planten een compleet diallel kruisingsprogramma uit (inclusief zelfbestuivingen) en kruis de planten verder met beide ouders. Controleer zelf of het met bovenstaande standaardmethode inderdaad mogelijk is om gametofytische en sporofytische incompatibiliteit (beide berustend op 1 locus) van elkaar te onderscheiden en tevens vast te stellen met welk interactietype we te maken hebben.

De volgende interactietypen kunnen worden onderscheiden in geval van sporofytische incompatibiliteit:

- I: Codominantie zowel bij de vaders als bij de moeders.
- II: Codominantie bij de vaders en dominantie bij de moeders.
- III: Dominantie bij de vaders en codominantie bij de moeders.
- IV: Dominantie zowel bij de vaders als bij de moeders.
- V: Dominantie maar tegengesteld bij de vaders en moeders.

5.2.8 Het omgaan met incompatibiliteit in de praktijk

1. Globale werkwijze bij hybride kool of radijs.

Willen we heterosis optimaal gebruiken dan dienen we hybriderassen te maken. Met behulp van (sporofytische) incompatibiliteit zal dat er schematisch als volgt uit zien.

Productie single cross hybride met behulp van incompatibiliteit:

Ouderlijn A	x	Ouderlijn B
$S_x S_x$	x	$S_y S_y$
	$S_x S_y$	
	F ₁ -hybride	

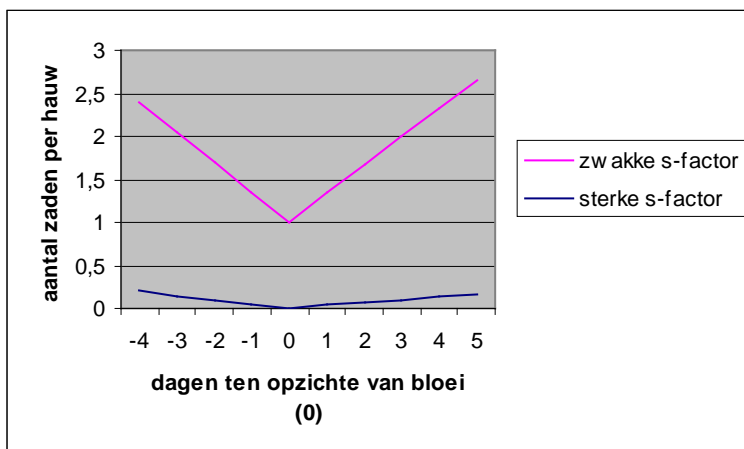
In het meest gunstige geval lukt zelfbestuiving nooit (geen emasculatie nodig), maar kruisbevruuchting altijd . In de praktijk echter is de werking van de S-factoren niet absoluut. Men onderscheidt sterke en zwakke S-factoren. Bij zwakke S-factoren zal toch nog een gedeelte van de pollenbuizen in de stijl kunnen groeien, waarna zelfbevruuchting tot stand komt. Wanneer dit het geval is voor bijvoorbeeld ouderlijn A uit bovenstaande kruising, dus wanneer S_x een zwakke S-factor is, zal tussen het hybridezaad ook wat inteelzaad van ouderlijn A voorkomen.

De werking van de S-factoren wordt verder beïnvloed door:

- de relatieve luchtvochtigheid,
- de temperatuur,
- de lichthoeveelheid,
- de aanwezigheid van een andere S-factor in de plant (de ene S-factor kan de werking van de andere verzwakken),
- de bloemleeftijd,
- CO_2 -gehalte van de lucht.

Tijdens het inteelproces kan men via de standaardmethode (paragraaf 5.2.7) het interactietype bepalen.

Het intelen zelf gaat door middel van knopbestuiving, dit is de bestuiving van de stempel van een nog niet open bloem met rijp stuifmeel, dat afkomstig is van open bloemen van dezelfde plant of inteeltlijn. Vooral in Japan is de relatie tussen bloemleeftijd en zaadzetting onderzocht.



Figuur 5.11. Curve van Kakizaki die de werking van de S-allelen aangeeft rondom het moment van het openen van de bloem.



Afbeelding 5.4. Knopbestuiving bij kool (foto's J. den Besten).

Met een standaardreeks van planten met een bekend S-genotype in homozygote vorm (S_1S_1 , S_2S_2 , etc.) kan men bepalen welke S-allelen in een onbekende plant aanwezig zijn. Het snelst is dat uiteraard met behulp van de al eerder ter sprake gekomen U.V.-methode.

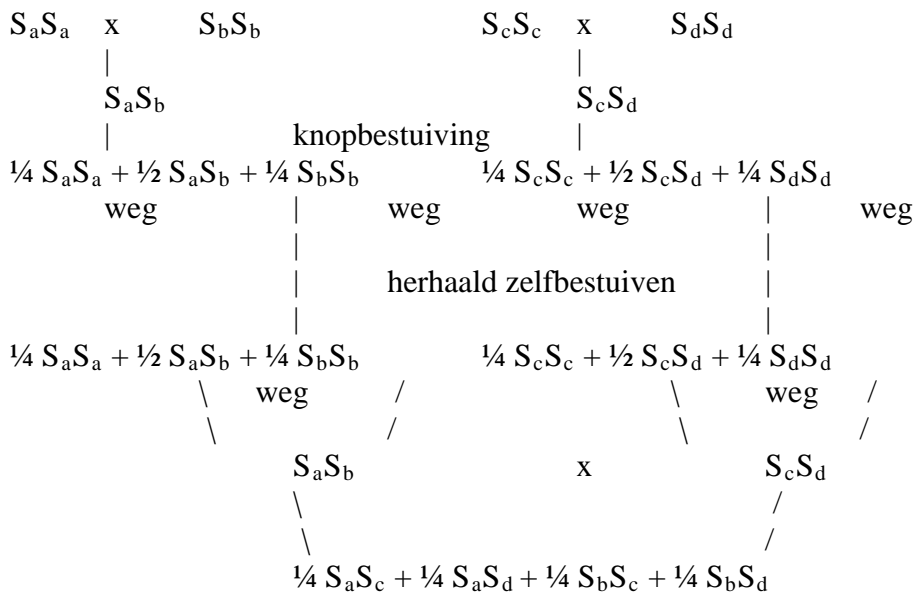
Bij het ontwikkelen van inteeltlijnen maakt men gebruik van knopbestuiving om de lijnen homozygoot te maken. Een alternatief hiervoor is het gebruik van antherencultuur gevolgd door chromosoomverdubbeling. Vervolgens wordt getoetst welke S-allelen de lijnen hebben (via toetskruisingen met lijnen met bekende S-allelen) en welke lijnen goed met elkaar combineren. Uiteindelijk kan men single, three-way of double-cross hybriden maken.

2. De methode van isogene lijnen.

Vooral bij de veredeling van koolgewassen maakte men op grote schaal gebruik van het 1-locus sporofytisch incompatibiliteitssysteem. Thans wordt vooral gebruik gemaakt van mannelijke steriliteit in kool. Met behulp van dat incompatibiliteitssysteem maakte men hoofdzakelijk single-cross hybriden die zeer uniform en productief zijn. Het nadeel is echter, dat de homozygote ouderlijnen een inteeltdepressie kunnen vertonen waardoor de zaadopbrengst gering is. Ook het maken (via knopbestuiving) van voldoende zaad van de inteeltlijnen voor de hybridezaadproductie kan te duur worden vanwege de arbeidskosten. Uiteindelijk zou het hybridezaad hierdoor te duur kunnen worden.

Enerzijds zoekt men naar andere methoden van intelen en vermeerderen van de ouderlijnen en anderzijds probeert men op andere, goedkopere manieren, hybriden te produceren. Daarbij kan gedacht worden aan double-cross hybriden of three-way-cross hybriden. Het gevolg is dan wel dat de uniformiteit en het heterosis-effect gering is ten opzichte van de single-cross-hybride. Een methode die de voordelen van de single-cross-hybride combineert met de voordelen van de double-cross-hybride is de methode van de isogene lijnen.

Methode van isogene lijnen:



De $S_a S_a$ en andere planten waarmee men start zijn heterozygoot. Via voortgezette knopbestuiving van de heterozygote $S_a S_b$ - en $S_c S_d$ -planten verkrijgt men uiteindelijk de homozygote en isogene lijnen $S_a S_a$ en $S_b S_b$ enerzijds en $S_c S_c$ en $S_d S_d$ anderzijds. De uiteindelijke single cross hybriden $S_a S_b$ en $S_c S_d$ zijn dus bijna helemaal homozygoot, maar de inteelt is enigszins opgeheven. Daardoor produceert men meer zaad en levert dat bovendien een uniforme double-cross-hybride met een behoorlijke heterosis. Omdat er een extra generatie tussen ouderlijnen en double cross zit, zijn bovendien minder knopbestuivingen nodig.

5.2.9 Incompatibiliteit en veredelingsmethoden

Al eerder is gewezen op het gevaar van te kleine families in verband met de kans op genetica drift, inteeltdepressie en genenverlies. Het gevaar voor genenverlies wordt in een familie groter wanneer bepaalde planten onderling niet kruisbaar zijn, bijvoorbeeld als gevolg van het feit dat de planten gedeeltelijk tot dezelfde incompatibiliteitsgroep behoren.

Voor lijnselectie is zelfbevruchting nodig. Dat is eventueel mogelijk door middel van knopbestuiving, maar dan krijgen we veelal te maken met een inteeltdepressie.

Wil men incompatibiliteit gebruiken voor het kweken van hybriderassen, dan moeten homozygote S-inteeltlijnen gemaakt worden, waarin de S-allelen volledig effectief zijn. Bij gedwongen zelfbevruchting selecteert men vaak ongewild op genetische achtergronden die de incompatibiliteit verzwakken, of ook wel op zwakke S-allelen. Het komt dan ook vaak voor dat na inteelt partiële of gehele zelfcompatibiliteit optreedt. De lijnen zijn dan wel homozygoot, maar niet meer bruikbaar voor de hybridezaadteelt.

Geheel nieuwe perspectieven worden geopend, indien bij zelfincompatibele gewassen monohaploïden kunnen worden verkregen. Dat zijn planten, die 1 genoom bevatten en na colchicine- of oryzalinebehandeling in 1 stap compleet homozygoot zijn. Men hoeft dan niet

geforceerd zelf te bevruchten. Dat scheelt tijd (5—8 generaties) en het gevaar van pseudocompatibele genotypen of zwakke S-allelen wordt omzeild.

Incompatibiliteit kan problemen geven wanneer teruggekruist wordt. Voor terugkruising zijn 4 mogelijkheden na de kruising A x B, namelijk:

1. moeder uit de eerste kruising als recurrent parent (als vader);
2. vader uit de eerste kruising als recurrent parent (als vader);
3. moeder uit de eerste kruising als recurrent parent (als moeder);
4. vader uit de eerste kruising al recurrent parent (als moeder).

Bij mogelijkheid 1 en 2 wordt de recurrent parent gebruikt als vader en bij 3 en 4 als moeder bij het terugkruisen.

5.2.10 Gebruik van koppeling bij het werken met incompatibiliteit

Het percentage inteeltzaad als gevolg van problemen bij de werking van de S-allelen bedraagt 0-80 %. Dit percentage is afhankelijk van de sterkte van de gebruikte S-allelen, de genetic background waarin de S-allelen zich bevinden en milieuomstandigheden tijdens de hybridezaadproductie. Percentages inteeltzaad tot 5% zijn niet uitzonderlijk, echter wel zeer ongewenst in verband met de uniformiteit van het gewas en vanwege het feit dat je als veredelaar dan ouderlijnen weggeeft en de hybride dus nagemaakt kan worden.

Zeker bij de huidige opkweeksystemen, waarbij indirect via zaaiplaten op eindafstand wordt gezaaid, zijn inteeltplanten zeer ongewenst. Selectie van inteeltplanten voor het uitplanten is niet echt mogelijk. Het is daarom van groot belang dat het percentage inteeltzaden zeer beperkt is.

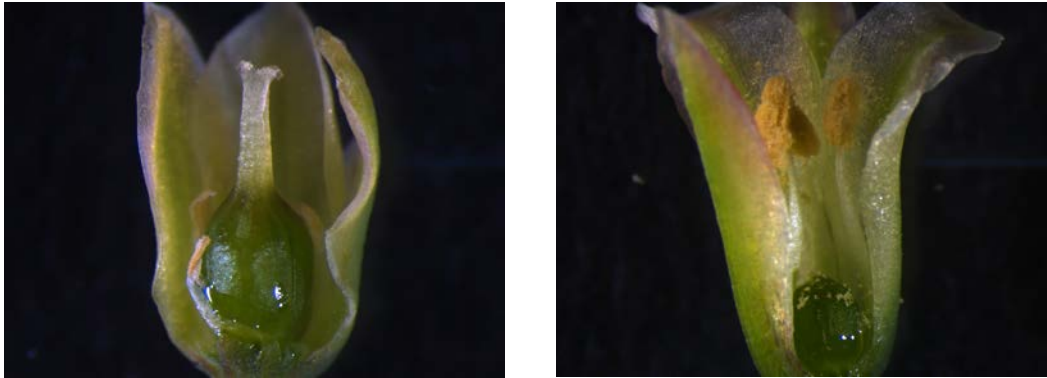
Tot voor kort werd ter controle van het percentage inteeltplanten van elke partij zaad (en zelfs van sorteringen binnen een partij) een monster uitgezaaid en aan jonge planten op inteeltkenmerken beoordeeld. Soms kan men echter aan planten in de juveniele fase geen onderscheid maken tussen hybride- en inteeltplanten. Het kan dan nadelig zijn om de planten tot 12 weken na zaaien aan te houden. Er is daarom behoefte aan een snellere methode.

Vaak zijn genen te vinden die vlak bij het S-locus liggen en die met electroforese- of moderne merkertechnologie snel zijn aan te tonen. De zaden worden geweekt, de zaadhuid wordt verwijderd en het zaad wordt gemacereerd in een bufferoplossing en gecentrifugeerd. Het deel met de enzymen wordt op een electroforeseplaat aangebracht en loopt onder invloed van een potentiaalverschil over de elektroforeseplaat. Het is ook mogelijk om de zaden te laten kiemen en delen van de kiemplant te nemen, maar dat duurt iets langer. De snelheid en richting van de beweging van de enzymen is afhankelijk van de lading en afmeting van de enzymen en het potentiaalverschil op de plaat. Door ervoor te zorgen dat de beide ouders genetisch zo verschillen dat het verschil met electroforese kan worden aangetoond, kan men met deze methode de inteeltzaden van hybridezaden onderscheiden. Het principe van detectie via merkers is in wezen niet anders als werken met electroforese. Wel zijn er momenteel heel veel merkers bekend en kan men soms met merkers aan 2 zijden van het S-locus werken, zodat de kans op verkeerde resultaten door overkruising heel gering is.

Het aantal inteeltzaden verschilt vaak per fractie en door van alle zaadfracties het percentage inteeltzaden te bepalen, kan men de zaadpartij in goede en slechte fracties uiteen leggen.

5.3 Tweehuizigheid

Tweehuizigheid kan als een vorm van mannelijke en vrouwelijke steriliteit worden gezien. Spinazie en asperge zijn voorbeelden van tweehuizige planten. Tweehuizigheid wordt niet gezien als een handig hulpmiddel bij de hybridenveredeling, maar meer als een verschijnsel dat nu eenmaal in bepaalde gewassen voorkomt en waar men dan gebruik van kunt maken.



Afbeelding 5.4. Vrouwelijke (links) en mannelijke (rechts) aspergebloem (www.plantbreeding.uni-kiel.de).

Absolute tweehuizigheid komt maar bij zeer weinig gewassen voor. Bij goed zoeken worden in asperge soms bessen op mannelijke planten aangetroffen en bij spinazie maken vrouwelijke planten aan het eind van de bloei, vooral als er geen zaadzetting heeft plaatsgevonden, ook mannelijke bloemen. Ook het milieu kan invloed uitoefenen op de geslachtsexpressie en de veredelaar kan daarvan gebruik maken om op vrouwelijke planten zelfbevruchtingszaad te kunnen oogsten.

Strikte tweehuizigheid zou problemen opleveren in de veredeling. Zo kunnen zelfbevruchtingen niet worden gemaakt en ook diallele kruisingsschema's zijn onmogelijk. Mannelijke planten kunnen niet worden beoordeeld op zaadeigenschappen. Wanneer bijvoorbeeld een scherpzadig (*S.*) spinazieras bestoven is door een rondzadig ras (*ss*), kan wel met een machine het rondzadige van het scherpzadige zaad worden gescheiden, maar dat zijn moederlijke eigenschappen. Het embryo kan genetisch nog steeds rond- en scherpzadig zijn.

Hoewel ook bij planten over *XX*- en *XY*-chromosomen wordt gesproken bij respectievelijk vrouwelijke en mannelijke planten, zijn deze onder de microscoop niet als zodanig te herkennen. Voor een deel kan de geslachtsexpressie wel verklaard worden via geslachtschromosomen. De praktijk is echter veel gecompliceerder zodat moet worden aangenomen dat (ook) geslachtsbeïnvloedende genen een rol spelen.

De ontwikkeling van de ouderlijnen van tweehuizige gewassen is niet eenvoudig omdat het sterke kruisbevruchters zijn die al snel last hebben van inteelt. In asperge kun je in mannelijke planten vaak wel enkele bessen vinden, met daarin kiemkrachtig zaad. Op basis van een *XY*-mannelijke plant kun je *XX*-, *XY*- en *YY*-nakomelingen vinden. De laatste worden aangeduid als supermannetjes. Op deze wijze herhaald zelfbevruchten is haast niet mogelijk. Het maken van inteeltlijnen vindt meestal plaats via herhaalde broer-zus-kruisingen en gaat een stuk langzamer dan zelfbevruchting. De komst van weefselkweektechnieken heeft de veredeling via antherencultuur en verdubbeling van haploïden enorm versneld. In korte tijd krijgt men de beschikking over homozygote vrouwelijke en mannelijke lijnen.

6. Opgaven

6.1 Vegetatief vermeerderde gewassen: de Tamaya

In het vakblad voor de bloemisterij 18(1993) 26-29, stond een artikel over het merk Tamaya, waaronder een begonia werd toen verkocht voor meer dan 18 euro per stuk (met droommarges dus!).

De Tamaya is een begonia met een geheel eigen gezicht (waarschijnlijk een soortkruising of een wilde soort) en dus afwijkend van de massa, moeilijk te vermeerderen (zeggen de marketingmensen) en met de mogelijkheid er meer dan de normale waarde aan toe te voegen. In het volgende wordt uitsluitend ingegaan op de verdelingstechnische zaken van dit vegetatief vermeerderde gewas.



Afbeelding 6.1 De Tamaya (<http://www.tamaya.com/>)

1. Geef een schematisch overzicht van hoe een veredelingsplan voor vegetatief vermeerderde gewassen er in het algemeen uit zal zien.
2. Zou je kunnen aangeven in een tijdsbalk hoeveel tijd er nodig is om het hele plan te doorlopen? Ter informatie kun je uitgaan van een generatieduur van 1 jaar (van zaad tot zaad).
3. Neem even aan dat de begonia een soortkruising is tussen een diploïde en tetraploïde soort. Kun je aangeven waarom het heel goed zou kunnen dat de kruising in de ene richting wel lukt, maar de reciproke kruising niet? Wat kun je zeggen over het ploïdeniveau van het kruisingsproduct?
4. Aannemende dat het bij 3 verkregen eindproduct steriel is, wordt het vervolg van de veredeling lastig.
Hoe zou je ervoor kunnen zorgen dat de Tamaya in meer kleurtjes beschikbaar komt?
Hoe zorg je ervoor dat er wat andere typen van de plant beschikbaar komen?
5. Wanneer we even teruggaan naar het ontwikkelen van meer kleurtjes bij dit gewas, is het probleem meestal het ontstaan van chimaeren. Kun je aangeven wat een chimaere is,

hoe/wanneer ze ontstaan, wat je kunt doen om chimaerie te voorkomen en wat je kunt doen om de chimaerie kwijt te raken?

6. De Tamaya is een vegetatief vermeerderde begonia (waarschijnlijk een gewone *Begonia albo-picta*), die beschermd moet worden om nateelt te voorkomen. Op welke wijze is dat in dit geval geregeld? Hoe zou je dat normaal doen en waarom doet men dat nu niet?



Afbeelding 6.2. *Begonia albo-picta* (www.pflanze-und-co.de)

6.2 Zelfbevruchters

Sla is een strikte zelfbevruchter. De slateelt, zeker onder glas, was bijna uit Nederland verdwenen. Door een combinatie van nieuwe rassen en andere teeltmethoden is sla weer helemaal terug.



Afbeelding 6.3. Jaarrond Salanova-sla in perspot op watercultuur van Delisse <http://www.deliscious.eu/NL>, www.salanova.com

Kijk ook eens op de website van Gipmans: <http://www.letsuse.nl/>

De rode kleur in sla is dominant en berust op 1 gen.

1. Wat is de snelste veredelingsmethode om een groene sla rood te maken?

De eikebladvorm is recessief en berust op 1 gen.

2. Wat is de snelste veredelingsmethode om een gewone sla van eikeblad te voorzien?
3. Geef aan hoe je van een gewone sla een rode eikebladsla maakt.
4. Stel dat de rode kleur in koppelingsfase gekoppeld is met gewoon blad (ipv eikeblad). Is het dan onmogelijk een rode eikebladsla te maken?
5. Stel dat je een aantal eigenschappen uit de salanova wilt combineren met een aantal eigenschappen uit de zogenaamde jumbosla. Welke methode ga je dan gebruiken en waarom?

6.3 Kruisbevruchters

Spinazie is een strikte kruisbevruchter vanwege het tweehuizige karakter van de plant. De oude rassen zijn populatierassen en de nieuwe rassen zijn hybriden.

Gebobbeld blad is dominant over glad blad.

Je kruist een gebobbeldbladig ras met een gladbladig ras en gaat daarna selecteren op gladbladigheid.

1. In welke generatie kun je voor het eerst selecteren:
 - a. als het oude populatierassen zijn?
 - b. Als het hybriderassen zijn?
2. Welke selectiemethode leidt het snelst tot een nieuw ras en hoe gaat die methode in zijn werk.?
3. De tweehuizigheid maakt het veredelen op zaadkwaliteit moeilijk. Kun je dat verklaren?
4. De zaden van spinazie kunnen scherp (dominant) of rond (recessief) zijn. De zaadvorm is een moederlijke eigenschap (eigenlijk zijn het geen zaden, maar vruchten) In een rondzadig ras is tijdens de zaadschoning vermenging opgetreden met wat scherp zaad.
 - a. Is dit een probleem? Zo ja voor wie en waarom.
 - b. Hoe denk je het ronde van het scherpe zaad te scheiden?
5. Tijdens de zaadteelt is een rondzadig ras deels bestoven door een scherpzadig ras.
 - a. Wanneer merk je dat op?
 - b. Hoe los je het probleem op?
6. Tijdens de zaadteelt is een scherpzadig ras deels bestoven door een rondzadig ras.
 - a. Wanneer merk je dat op?
 - b. Hoe los je het probleem op?
7. Valse meeldauw oftewel 'Wolf' oftewel *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae* is een probleem in de teelt omdat chemische bestrijding in korte teelten van bladgewassen geen optie is.
 - a. Wat is dus de meest voor de hand liggende veredelingstechnische oplossing?
 - b. Welke verdelingsmethode ligt daarbij voor de hand?
8. Inmiddels zijn al 8 fysio's van Wolf bekend, maar laten we het eenvoudig houden en uitgaan van een tweede fysio dat de resistentie van de rassen die resistent zijn tegen het eerste fysio, doorbreekt. De veredelaars proberen vinden een nieuw resistentiegen en proberen dit in te kruisen. Gek genoeg zijn de nakomelingen ofwel resistent tegen fysio 1 of wel tegen fysio 2. Wat de veredelaar ook doet, het blijft zo.
 - a. Wat is hier blijkbaar aan de hand?
 - b. Wat is dan de veredelingstechnische oplossing?
9. Hoe denk je over het gebruik van mannelijke steriliteit en incompatibiliteit bij de productie van hybriderassen?

6.4 Hybrideveredeling

Test je kwaliteiten als veredelaar (kweker) van een hybridesiergewas met dit spel!

Het doel is om door slimme selectie en kruising een goede basispopulatie op te bouwen, waaruit twee ouders worden geselecteerd voor de productie van een hybride ras. Het betreft het denkbeeldige siergewas 'digitopsis'.

De basis van het spel is een realistisch genetisch model, waarin een kwalitatieve eigenschap (kleur) en een kwantitatieve eigenschap (lengte) een rol spelen. Genetische koppeling tussen deze twee eigenschappen speelt ook een rol.

Een goed resultaat levert een highscore en loonsverhoging op, je kunt je nu ook meten met de rest van de wereld door jouw highscore aan onze scorelijst toe te voegen! (nieuw). Er is ook een pagina met uitleg over de genetica en theorie achter het spel.

http://www.plantbreeding.wur.nl/NL/software_kwekersspel.html

Download het spel, lees de uitleg en probeer het uit. Noteer je highscore en hoe je gehandeld hebt.

Aanbevolen literatuur

Acquaah, George, 2008. Principles of plant genetics and breeding. Blackwell publishing.

Chahal, Gosal, 2002. Principles and procedures of plant breeding. Alpha science.

Poelman, J.M. and D.A. Sleper, 1995. Breeding Field Crops, 4th ed. Iowa State University Press, Iowa.