

# **PLANTENVEREDELING: EEN DYNAMISCH VAK**

door prof.dr.ir. E. Jacobsen



**Inaugurele rede uitgesproken op 1 maart 1990  
bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar  
in de Plantenveredeling, in het bijzonder de  
genetische variatie, aan de Landbouwniversiteit  
te Wageningen**

# PLANTENVEREDELING: EEN DYNAMISCH VAK

## INLEIDING

*Mijnheer de rector en zeer gewaardeerde toehoorders.*

In deze openbare les wil ik u deelgenoot maken van een aantal ontwikkelingen in de plantenveredeling. Met enkele ervan wordt u regelmatig in de krant geconfronteerd omdat bepaalde aspecten actiegroepen in beweging zetten.

Ik werd in Wageningen tot veredelaar opgeleid waarvoor ik prof. Snee en mijn voorganger prof. Hermsen zeer dankbaar ben. Tijdens mijn eerste werkervaring op het MPI in Keulen kwam ik al met celbiologisch onderzoek in aanraking dat daar ten behoeve van het plantenveredelingsonderzoek uitgevoerd werd. Dit onderzoek riep tussen celbiologen en plantgeoriënteerde veredelaars grote spanningen op waarvan ik veel geleerd heb. Ik heb mij daar met ongereduceerde gameten, antherencultuur en regeneratie bij aardappel bezig gehouden, maar steeds vanuit een veredelingsvraagstelling. In Groningen is de lijn van onderzoek op plant en celniveau doorgezet en aangevuld met moleculair en biochemisch onderzoek waarbij mutaties een grote rol speelden. In mijn onderzoek hebben toepassingsaspecten altijd een rol gespeeld. Wel eens tot ergenis van genetici die dachten dat het daarom geen fundamenteel onderzoek was. De constatering dat biochemische, celbiologische en moleculair-biologische inzichten en technieken voor de plantenveredeling onontbeerlijk zijn heeft grote consequenties. Steeds meer problemen kunnen alleen met behulp van interdisciplinair teamwork opgelost worden. Ik heb de laatste jaren hier persoonlijk ervaring mee opgedaan door de genetica van de zetmeelvorming bij aardappel in inter-

disciplinair teamwork te onderzoeken.

### *Plantenveredeling*

Zoals u al gemerkt hebt is plantenveredeling dus een multidisciplinair vak. De kweker ontwikkelt rassen die door de teler in de land- en tuinbouw gebruikt worden. De geogste produkten kunnen direct door mens of dier gebruikt worden of als uitgangsmateriaal voor de industrie dienen. Dit geeft duidelijk aan dat de kweker alle ontwikkelingen en problemen bij de teelt, de consument en industrie moet kennen om nieuwe rassen te produceren. Het probleem van de kweker is dat de ontwikkeling van een nieuw ras 8-15 jaar duurt en dat hij dus een voortuitziende blik moet hebben. In het algemeen kan gesteld worden dat plantenveredeling alle menselijke activiteiten omvat die gericht zijn op het verkrijgen van planten met een beter genetisch bestel waarmee beter in de menselijke behoeften voorzien kan worden.

### *Doelstellingen*

Doelstellingen die recent geformuleerd zijn, hebben betrekking op:

1. toevoeging van waarde aan produkten. Dit kan betrekking hebben op voedingswaarde, voedingsveiligheid, verwerkingswaarde, esthetische waarde en houdbaarheid. Het gaat hierbij met name om eiwitten, aminozuren, zetmeel, suikers, oliën, vetten, vetzuren en secundaire metabolieten,
2. verlaging van produktiekosten per eenheid produkt. Hierbij gaat het om opbrengstverhoging, aanpassen aan gemechaniseerde zaai, verzorging en oogst. Hybride rassen spelen hierbij vaak een rol.

3. **aanpassing aan milieu.** Dit betreft abiotische factoren die het resultaat van het gewas negatief beïnvloeden, zoals koude, vorst, droogte, hitte, zout, luchtverontreiniging. Dit zijn complexe eigenschappen waarop moeilijk geselecteerd kan worden.
4. **vermindering van milieubelasting.** Resistentie tegen allerlei plaagorganismen en ziekteverwekkers kunnen de druk van de chemische bestrijding doen afnemen.

### *Het veredelingsproces*

Om gestelde doelen te bereiken bestaat het veredelingsproces uit 3 stappen, nl.:

#### 1. *Genetische variatie*

Elk veredelingsprogramma staat en valt met variatie die een genetische basis heeft. Het is vooral dit aspect van de plantenveredeling dat m.b.t. onderwijs en onderzoek aan mij is toevertrouwd. Ik zal dit later verder uitwerken.

2. *Selectie.* Als de vererving van gewenste variatie eenmaal bekend en in kweekmateriaal voorhanden is, is het mogelijk deze door kruising met andere eigenschappen te combineren. Selectie in de volgende generaties moet tot veelbelovende individuen, lijnen of populaties leiden die tot een ras afgewerkt worden.

3. Als het ras eenmaal verkregen is moet het in stand gehouden, vermeerderd en verhandeld worden. De instandhouding en vermeerdering is een zeer belangrijke activiteit van de kweker. De problemen hierbij hangen sterk met de vermeerderingswijze samen.

Gezien de enorme investeringen die tegenwoordig aan een ras ten grondslag liggen is het zeer belangrijk dat de marketingafdeling van een kweekbedrijf al bij het opstellen van het kweekplan betrokken is. Dit geldt des te meer nu de moderne technieken hun intrede gedaan hebben.

### *Genetische variatie*

Ik wil eerst stilstaan bij de hulpmiddelen die tot nu toe door het veredelingsonderzoek en de kweker gebruikt zijn om genetische variatie te verkrijgen en te gebruiken. Deze genetische variatie vormt de basis van elk veredelingsproces. Fenotypische variatie is binnen cultuursoorten voor veel eigenschappen aanwezig. Deze kan kwalitatief of kwantitatief van aard zijn. De eerstgenoemde vorm vererft eenvoudig en de tweede complex, waarbij milieu-factoren ook een rol spelen. De genetische variatie kan bij de tweede vorm onderverdeeld worden in een additieve component en non-additieve overdominantie. Additieve componenten kunnen in homozygote lijnen gefixeerd worden. In hybride rassen, een kruising tussen specifieke lijnen, kan ook overdominantie gefixeerd worden. Genetische variatie kan gevonden worden in moderne rassen, landrassen, spontane en geïnduceerde mutanten, primitieve rassen en verwante, niet gecultiveerde soorten die nog kruisbaar zijn. Zij worden in genenbanken bewaard en in stand gehouden. Veredeling, gericht op rassen, vindt binnen de soort plaats. De kweker maakt vaak gebruik van eigenschappen die door conventioneel veredelingsonderzoek uit wilde soorten in uitgangsmateriaal met voldoende cultuurwaarde zijn overgebracht. Het is met name dit

onderzoek dat de laatste jaren onder druk is komen te staan ten gunste van genetische manipulatie waarbij uit genetisch materiaal van alle levende organismen geput kan worden. Conventioneel veredelingsonderzoek ter verbreding van de genetische variatie vindt plaats op plantniveau en omvat:

1. *screening van (wild)materiaal*, op landbouwkundige eigenschappen waaronder ziekteresistentie. Recent onderzoek aan wilde emmertarwe toonde aan dat hierin zeer veel genetische variatie voor resistentie tegen gele roest aanwezig is. Dit onderzoek heeft tot de situatie geleid dat elke kweker niet meer met dezelfde resistentiegenen hoeft te werken. Ook voor achtergrondsonderzoek op cellulair en moleculair niveau is het onontbeerlijk aan het ontginnen van bestaande variatie intensief te blijven werken.

2. *(geïnduceerde) mutaties*.

De bron van genetische variatie kent vele beperkingen. Mutaties kunnen betrekking hebben op individuele genen, delen van chromosomen, gehele chromosomen en genomen. Ik wil kort ingaan op mutaties die individuele genen betreffen. De biochemische en moleculaire genetica maken zeer nadrukkelijk gebruik van mutaties om enzymatische processen en hun genen te bestuderen. Een zeer interessant voorbeeld is het werk van Mc.Clintock die in de 50'er jaren onderzoek verrichtte naar de genetische basis van *instabiele* eigenschappen. Zij concludeerde louter op basis van genetische analyses dat transposons in het gemuteerde gen en genoom aanwezig zijn die naar andere delen van het genoom kunnen springen waardoor er *reverse* in het gemuteerde gen optreedt. Dit materiaal is door moleculair biologen gebruikt om de *moleculaire*

basis van deze instabiliteit bloot te leggen. Dit heeft geleid tot de ontdekking van "inserts" in mutante genen. Op dit moment zijn meerdere transposons moleculair geïsoleerd en kunnen via genetische manipulatie bij andere plantesoorten binnen gebracht worden. In principe kan hiermee een *genmarkeringsysteem* opgebouwd worden als stap voorafgaand aan *klonering* van landbouwkundig belangrijke genen.

Mutaties spelen ook meer direct een rol in de veredeling. Vooral in de sierteelt-sector zijn bij gewassen als Chrysant en Alstroemeria vele mutanten binnen rassen geïnduceerd. Toch kan gesteld worden dat in Nederland het gebruik van mutaties als bron van genetische variatie een te kleine rol heeft gespeeld. Dit heeft duidelijk te maken met het feit dat de biochemische genetica onvoldoende door de veredeling als hulpmiddel geaccepteerd is. Met de introductie van cel- en moleculairbiologische technieken is de biochemische genetica opnieuw onder de aandacht gekomen.

### 3. *interspecifieke hybridisatie*

Soms is gewenste variatie niet aanwezig binnen de soort en is mutatie-inductie geen alternatief. Verwante soorten zijn dan vaak een bron van variatie. De eigenschap moet dan via kruising naar de cultuursoort overgebracht worden. Het gemak waarmee dit kan is afhankelijk van de mate van verwantschap. Deze bepaalt in hoeverre paring tussen homeologe chromosomen, die uitwisseling van genetisch materiaal mogelijk maakt, optreedt. Een voorbeeld waarbij voldoende uitwisseling optreedt is de combinatie tussen *Lycopersicon esculentum* en *L. peruvianum*.

Een terugkruisingsprogramma heeft geleid tot

introgessie van *Tm*-genen, die resistentie tegen tomatenmozaïkvirus geven. Bij aardappel zijn op deze wijze resistentiegenen tegen *Phytophthora infestans*, nematoden, virus x, y geïntroduceerd. Als paring tussen homeologe chromosomen achterwege blijft zijn allerlei extra handelingen nodig. Eén daarvan is translocatie geïnduceerd door bestraling. Bij granen heeft dat voor gele roest tot meerdere successen geleid. Deze manier is en blijft erg gecompliceerd zodat elke verbetering zeer welkom is. Een andere toepassing van interspecifieke kruising met terugkruising is plasma uitwisseling. Dit kan door terugkruising bewerkstelligd worden, omdat via bestuiving geen chloroplast - en mitochondrieel gecodeerd DNA overgaat. Dit gaat soms gepaard met onbalans tussen kern en cytoplasma waardoor cytoplasmatisch mannelijke steriliteit (cms) ontstaat. Cms speelt evenals zelfincompatibiliteit een dominante rol bij hybride rassen die vanwege opbrengstpotentie, uniformiteit en natuurlijke kwekersbescherming populair zijn. Nadelen zijn het langdurige terugkruisingsproces en de gelijktijdige overdracht van cp- en mt DNA. Dit is bij cms planten van *Brassica napus*, die het cytoplasma van *Raphanus sativum* bezitten, een probleem vanwege chloroplast gecodeerde koude-gevoeligheid. Celbiologische technieken kunnen bovengenoemde problemen het hoofd bieden.

#### *Wijze van reproductie*

Bij het veredelingsonderwijs worden de gewassen o.a. naar wijze van reproductie ingedeeld. De genetische consequenties die eraan verbonden zijn worden uitgebreid behandeld:



### *Vegetatieve vermeerdering*

De plant wordt via knollen, bollen of rhizomen vermeerderd. De nakomelingen zijn identiek en worden kloon genoemd. Een superieure kloon vormt aan het eind van de selectie de basis voor een nieuw ras. Het betreft vaak kruisbevruchtende, polyploïde gewassen die sterk heterozygoot zijn. Het grootste probleem is ziekten- (virus)-vrije instandhouding en vermeerdering. Het grote voordeel is dat het ras homogeen en heterotisch is.

### *Zelfbevruchting*

Na kruising en selectie in de volgende generaties ontstaan homozygote lijnen waarin gewenste eigenschappen gerecombineerd zijn. Een ras bestaat derhalve uit een lijn. Van kwantitatieve eigenschappen kunnen alleen de additieve effecten gecombineerd en gefixeerd worden. Een probleem is dat deze effecten pas in de  $F_5$ - $F_8$  generatie uitkristalliseren. De kweker heeft het grootste belang erbij van bepaalde combinaties zo veel mogelijk homozygote lijnen te krijgen voor schatting van de additieve variantie en voor selectie. De conventionele weg duurt te lang.

### *Kruisbevruchting*

*Random.* Bij veel soorten is kruisbevruchting regel. Er zijn allerlei systemen die kruisbevruchting bevorderen en zelfbevruchting tegengaan, zoals tweehuizigheid en zelfincompatibiliteit. Hierdoor wordt heterogeniteit en heterozygotie bevorderd en in stand gehouden. Het ras dat na selectie verkregen wordt is heterogeen en bestaat uit een groot aantal verschillende genotypen. Dit is een groot nadeel als homogeniteit gewenst is. Selectie is bij kruisbevruchtters, vooral als deze na de bloei plaats vindt, in vergelijking met zelfbevruchtters en

vegetatief vermeerderde gewassen inefficiënt. Via kunstmatige ingrepen als knopbestuiving en haploïdisatie is homozygotering, efficiëntere selectie en de ontwikkeling van hybride rassen mogelijk. Fundamenteel onderzoek naar de moleculaire basis van gametofytische en sporofytische incompatibiliteit is zover voortgeschreden dat genen coderend voor genprodukten, die een rol bij de opbouw van de incompatibiliteitsreactie in de stijl spelen, moleculair geïsoleerd zijn. Mogelijk is dit het begin van manipulatie van zelfincompatibiliteit in zowel kruis- als zelfbevruchtende gewassen.

*Gecontroleerd.* Een hybride ras is een  $F_1$ -populatie die door kruising van inteeltlijnen verkregen is. Dit levert heterotische groei-kracht, en homogeniteit op. Hybride rassen zijn daarom populair zowel bij zelfbevruchtters als kruisbevruchtters. Bij *zelfbevruchtters* is het voorkomen van zelfbevruchting en het bevorderen van kruisbevruchting een probleem. Bij tomaat is handemasculatie en handbestuiving nog steeds rendabel. Manipulatie met mannelijke steriliteit of zelfincompatibiliteit zijn aantrekkelijke alternatieven.

Bij *kruisbevruchtters* als maïs en suikerbiet wordt van cms gecombineerd met fertiliteitsherstellende genen gebruik gemaakt. Bij *Brassica* soorten, die van nature zelfincompatibel zijn, worden via eerder besproken methoden homozygote lijnen gemaakt. De kruisbestuiving tussen twee lijnen is dan gebaseerd op zelfincompatibiliteit die echter zelfbestuiving niet volledig uitsluit. Dit probleem kan via conventionele weg moeilijk opgelost worden. Klonering gevolgd door introductie van sterk werkende *SI*-allelen zou de mate van incompatibiliteit kunnen

beïnvloeden. Introductie van cms is een al eerder aangegeven alternatief.

### *Genetische manipulatie*

#### *Plantenbiotechnologie*

Ik heb al herhaalde malen aangegeven dat zich op verschillende plaatsen van het veredelingsproces problemen voordoen die op intact plantniveau moeilijk op te lossen zijn. De plantenbiotechnologie kan soms de helpende hand bieden en nieuwe doelstellingen mogelijk maken. Plantenbiotechnologie is het gebruik van celbiologische en moleculair biologische inzichten en technieken in planten met een economisch doel. Dit maakt veredeling(sonderzoek) op 4 niveau's mogelijk nl. populatie, plant, cel en molecuul.

#### *Celbiologische aspecten.*

De celbiologie houdt zich bezig met structuur en functie van en interactie tussen cellen en met differentiatie van organismen. Dit onderzoek dat vaak aan modelorganismen gedaan wordt levert steeds meer inzicht op over processen die aan o.a. celgroei, celdeling, en morfogenese ten grondslag liggen. Deze inzichten en technieken kunnen bij cultuurplanten en dus in de veredeling als hulpmiddel toegepast worden. De ontdekking van de hormonale controle van differentiatie was in de 50'er jaren het begin van de ontwikkeling van allerlei weefselkweek technieken. Deze worden op zeer verschillende wijzen als hulpmiddel in het veredelingsproces gebruikt. Competente plantecellen kunnen *in vitro* aanleiding geven tot scheutvorming of somatische embryogenese.

#### *In vitro vermeerdering.*

Veel vegetatief vermeerderde (sier)gewassen worden commercieel *in vitro* vermeerderd via (adventief)

scheuten, microknollen en rhizomen. Als het uitgangsmateriaal gezond is, is produktie van gezond pootgoed of plantgoed gewaarborgd. Ongewenste somaclonale variatie is bij sommige systemen een reëel gevaar. Vaak spelen genetische factoren een belangrijke rol. De kweker moet dit vroegtijdig onderkennen en als factor in zijn kweekprogramma opnemen. Een zeer interessante nieuwe mogelijkheid van vegetatieve vermeerdering is via kunstmatig zaad, door somatische embryo's in te hullen. Dit zou zelfs een alternatief voor zaadvermeerderde gewassen kunnen worden.

*Regeneratie.* Bij meer dan 1000 plantesoorten is regeneratie uit explantaten, al dan niet geïsoleerde microsporen, protoplasten en/of geïnduceerd callus mogelijk. Dit is routine bij soorten binnen de *Solanaceae* en *Brassicaceae* en een groot probleem bij vlinderbloemigen, zoals erwt en sojaboon en monocotylen zoals granen, grassen en *Alstroemeria*. Het feit dat ook hier genotypische effecten een rol spelen is voor de veredeling zeer belangrijk. Bij gerst, tarwe en een aantal koolsoorten wordt veel aandacht aan het massaal verkrijgen van verdubbelde haploïden geschonken om snel een betrouwbare indicatie van de additieve genetische variantie in bepaalde kruisingen te krijgen of homozygote lijnen voor hybride rassen.

*In vitro selectie.* Protoplast-, microspore- en calluscultuur brengt de mogelijkheid met zich mee op celniveau op veranderde eigenschappen te selecteren. Deze moet dan zowel op cel- als plantniveau tot expressie komen, terwijl een positieve selectiedruk mogelijk moet zijn. Elke cel kan dan als aparte selectie-eenheid beschouwd worden zodat varianten uit zeer grote aantallen geselecteerd kunnen worden. In

de praktijk zijn vooral dominante en extra-chromosomale mutaties voor deze benaderingswijze geschikt. Er voldoen maar weinig eigenschappen aan deze eisen, zoals herbicide resistentie. De hooggespannen verwachting m.b.t. het verkrijgen van resistentie tegen (*patho*)toxinen is slechts zeer ten dele uitgekomen. Expressie op celniveau gaat lang niet altijd samen met die op plantniveau. Voor allerlei (biochemische) kenmerken moet dit hulpmiddel steeds weer in de overweging meegenomen worden. *Somatische hybridisatie*. Door het maken van protoplasten met celwandverterende enzymen is fusie mogelijk geworden. Drie toepassingen zijn voor de veredeling van belang:

1. *synthese* van nieuwe soorten en *hersynthese* van bestaande soorten. In het verleden hebben interspecifieke fusies tussen aardappel-tomaat in de populaire pers grote aandacht gekregen. Op dit moment worden allerlei nieuwe combinaties binnen de *Brassicaceae* gemaakt. De geschiedenis met *Triticale* heeft geleerd dat het meer dan 50 jaar kan duren voordat een nieuwe soort zo uitgebalanceerd is dat het commercieel toegepast kan worden. Fusie is bij hersynthese zeer nuttig, als aan allopliden resistenties vanuit de oudersoorten toegevoegd moeten worden.
2. *plasmautwisseling*. Interspecifieke hybridisatie gevolgd door terugkruising kan tot plasmautwisseling tussen soorten leiden. Grote nadelen hierbij zijn de tijdsduur dat zo'n programma vergt en het feit dat zowel mitochondriën als plastiden uitgewisseld worden. *Cybridisatie*, fusie tussen protoplasten van twee soorten waaraan de kern van de donor niet meedoet, ondervangt genoemde problemen. Echter de plasmagenomen van beide

partners moeten direct of indirect herkend kunnen worden en plantregeneratie moet mogelijk zijn. Een ideale situatie zou zijn om aan het eind van het veredelingsproces van een hybride ras één van de beide partners via hybridisatie cms te maken. De genotypisch afhankelijke regeneratie moet dan wel een plaats in het veredelingsprogramma krijgen. Een eenmaal verkregen cms lijn met goede algemene combinatiegeschiktheid kan dan lang als combinatie gebruikt worden.

3. *overdracht van resistentiegenen* uit onverwante soorten is zeer complex als recombinatie tussen homeologe chromosomen niet optreedt. Het eerder genoemde voorbeeld over gele roest bij tarwe spreekt boekdelen. Sedert jaren worden verwoede pogingen ondernomen door fusie van acceptorprotoplasten met *bestraalde* donorprotoplasten *partieel genoomtransfer* te bewerkstelligen. De resultaten zijn nog steeds mager. Dit komt omdat er te veel genetisch materiaal van de donor overkomt en dat *introgressie* in het genoom van de acceptor onvoldoende plaatsvindt. Veel onderzoek is nodig om dit alternatief meer realiteitswaarde te geven.

In het algemeen kan gesteld worden dat aan celbiologisch werk ten dienste van de veredeling vaak *cytogenetische* aspecten verbonden zijn. Het gebruik van een flowcytofotometer is hierbij nuttig, maar vervangt niet de ogen van een cytogeneticus. Blijvende aandacht voor dit aspect is in mijn ogen een noodzaak.

### *Moleculair biologische aspecten*

De moleculaire biologie tracht verschijnselen te

verklaren door bestudering van de functie van bio-macromoleculen in relatie tot hun structuur en van de werkingsmechanismen van processen waar ze een rol bij spelen. Dit betreft ontrafeling van de moleculaire basis van regeneratie, differentiatie, regulatie, resistentie, synthese van aminozuren, eiwitten, koolhydraten, zetmeel en secundaire metaboliëten. Dit levert inzichten en technieken op die in de veredeling gebruikt kunnen worden.

#### *Genetic engineering vectoren voor planten*

Met de ontrafeling van de pathogene interactie tussen *Agrobacterium* en de plant, waarbij na verwonding van stengelweefsel een tumor ontstaat, is een zeer interessante bijdrage voor de veredeling geleverd. Hierbij speelt een tumorinducerend plasmide met daarop (transfer)T-DNA een hoofdrol. Dit T-DNA wordt o.i.v. plantaardige signaal-moleculen geactiveerd de bacterie te verlaten om in de kern van de plantecel opgenomen te worden. Op dit T-DNA zijn tumorinducerende genen aanwezig die in de plantecel aangeschakeld worden en tumorgroei veroorzaken. Dit natuurlijke overdrachtsysteem is door moleculair biologen van haar pathogeniteitsreactie ontdaan. De groep van prof. Schilperoort heeft hier een essentiële bijdrage geleverd. Hierdoor is een vectorsysteem ontstaan waarmee geïsoleerde genen naar het genoom van de plantecel overgebracht kunnen worden. De z.g.n. *binair*, ontwapende, *Agrobacterium* stammen worden nu zeer algemeen gebruikt. Het vectorplasmide bevat een *selectiemarker* en een kloneringsite voor introductie van het gewenste gen.

### *Moleculaire isolatie van genen*

Er zijn meerdere strategieën ontwikkeld die tot moleculaire isolatie van genen met bekende of onbekende functie leiden. Deze worden zowel in dierlijke, plantaardige als micro-organismen toegepast. Hierbij doet zich de ervaring voor dat sommige genen uit virussen en bacteriën nieuwe zeer gewenste eigenschappen in planten kunnen geven. Daarnaast kunnen genen in zowel plant, dier als micro-organisme, die betrokken zijn bij de synthese van allerlei producten, grote homologie bezitten. Dit betekent dat reeds geïsoleerde genen uit bacteriën en dierlijke organismen bij de isolatie van het plantaardige gen betrokken kunnen worden. Op dit moment zijn landbouwkundig interessante genen geïsoleerd uit:

1. *planten*. Coderend voor allerlei enzymen die een rol spelen bij pigmentsynthese, zetmeel, vrije aminozuren, koolhydraten en vetzuren. Genen coderend voor opslageiwit zijn bij allerlei leguminosen en enkele granen geïsoleerd. Een andere interessante groep van genen is betrokken bij de totstandkoming van sporofytische en gametofytische incompatibiliteit en bij de reactie van de plant op pathogene aantastingen (pathogeen gerelateerd). Manipulatie van zulke genen in *sense* en *antisense* oriëntatie zijn nieuwe mogelijkheden om in de plant effecten op te roepen die voor de veredeling interessant zijn.
2. *bacteriën*. Ingewijden weten dat toxine genen uit *Bacillus thuringiensis* en genen die resistentie tegen antibiotica en herbiciden geven voor de veredeling direct van belang zijn.



3. *virussen*. Op dit moment is er een enorme activiteit ontplooid om bij allerlei virussen het gen coderend voor *manteleiwtt* op te sporen. Dit eiwit veroorzaakt in de plantecel z.g.n. *cross-protectie*.
4. *dierlijke organismen*. Het tyrosinasegen is bij muis gekloneerd. Dit enzym speelt een rol bij melanine vorming in plant en dier en kan dus gebruikt worden om het plantspecifieke gen te isoleren.

#### *Restrictie Fragment Lengte Polymorfie (RFLP).*

Naast genen met een gedefinieerde functie worden ook allerlei *onbekende* single-copy-genen geïsoleerd die een rol bij genkartering spelen. Er is sprake van bruikbare polymorfie als probes van zulke genen met gedigesteerd genomisch DNA tussen verschillende genotypen andere hybridisatie patronen geven die na kruising monofactorieel vererven. Door met een groot aantal bruikbare probes te werken is het mogelijk een *moleculair* genetische kaart te construeren. Het grote voordeel van moleculaire probes is het grote aantal dat mogelijk is en het fenotypisch neutrale karakter, zodat ze als *indirecte* selectiemerker gebruikt kunnen worden. De moleculaire kaart moet dus met localisatie van landbouwkundige eigenschappen geïntegreerd worden. De toekomst zal leren hoe bruikbaar RFLP-merkers voor de praktische veredeling zullen zijn. Zeker is het dat ze een belangrijke rol bij localisatie van polygenen, taxonomisch onderzoek en bij eventuele klonering van moeilijk te isoleren genen spelen.

### *Herprogramming van genen*

Eerder is al genoemd dat genen geïsoleerd uit bacteriën en virussen in planten gebruikt kunnen worden. Dit is vaak niet rechtstreeks mogelijk. De regulatie van zulke genen moet aangepast worden: *expressiesignalen*. Via recombinant-DNA technieken kunnen gekloneerde genen in vector DNA opgenomen worden en van plantspecifieke *regulatiesignalen* voorzien worden. Het coderende deel moet eerst door een *plantspecifieke* transcriptiepromoter en transcriptieterminator geflankeerd worden zodat expressie in de plant mogelijk is. Op dit moment worden zulke *functioneel chimere* genen in de plant veel toegepast. Expressiesignalen afkomstig van bloemkoolmozaïkvirus of nopaline synthese spelen een belangrijke rol. Een nadeel is dat zulke ingebrachte chimere genen in alle organen van de plant aangeschakeld zijn. Onder stress omstandigheden kan dit in de plant nadelig zijn. Fijnregulatie is de volgende stap die voor de veredeling zeer belangrijk is.

*Transcriptie*. Transcriptie kan ook beïnvloed worden door het coderende deel van een gen (of een deel ervan) zodanig achter een promoter te plaatsen dat i.p.v. de coderende-, de *niet*-coderende streng afgelezen wordt. Hierdoor wordt *antisense* RNA gesynthetiseerd dat met normaal RNA reeds binnen de kern tot dubbelstrengs RNA kan hybridiseren. De synthese van functioneel eiwit wordt hiermee geblokkeerd. Deze techniek blijkt met *antisense* genen gebaseerd op cDNA voor een aantal kenmerken merkbare effecten te geven. Bij petunia kan hiermee de bloemkleur gemanipuleerd worden en bij aardappel de zetmeelsamenstelling.

### *Transformatie van cultuurplanten*

Door de ontwikkeling van transformatiesystemen, het inzicht hoe genen geïsoleerd en geprogrammeerd kunnen worden en de mogelijkheid getransformeerde cellen selectief te laten uitgroeien en regenereren is genetische manipulatie van een groot aantal cultuurplanten nu realiteit. Met *Agrobacterium* is een tweetal technieken ontwikkeld die veel gebruikt worden, nl. cocultivatie met protoplasten of met explantaten. Voor transformatie met kaal DNA wordt elektroporatie en een ballistisch systeem uitgewerkt. Er is een groot aantal cultuurplanten die voor regeneratie en dus voor transformatie recalcitrant zijn. Daarnaast is soms expressie van het selectiekenmerk in de cel een probleem. Deze problemen vergen in de toekomst veel aandacht. In het algemeen kan gesteld worden dat bij veel soorten regeneratie en transformatie genotype gebonden zijn. Met deze beperkingen zal rekening gehouden moeten worden. Al deze problemen kunnen omzeild worden door het ontwikkelen van transformatiesystemen *zonder* weefselkweekfase.

### *Toepassingsmogelijkheden*

1. *kwaliteit*. Door introductie van extra kopieën of anders geprogrammeerde versies van een gen, kunnen dosiseffecten verkregen worden. Met antisense genen kunnen allerlei enzymatische processen geblokkeerd worden. Zij zijn een dominant alternatief voor recessieve mutaties. Antisense genen zijn van belang bij allerlei kenmerken als zetmeel- en eiwitsamenstelling, bloemkleur,

kwaliteitsbehoud voor consumptie en verwerking. Hierbij kan gedacht worden aan verwelking, softening en chipskwaliteit.

2. *hybride rassen*. Manipulatie van cms is erg belangrijk. Bij instandhouding is naast sterilititeit fertilititeit van dezelfde lijn essentieel. Klonering en introductie van fertiliteitsherstellende genen kan heel veel terugkruisingswerk of lastige cybridisaties overbodig maken. Op dit moment wordt de kwekerswereld uitgedaagd i.p.v. cms of incompatibiliteit manipuleerbare dominante mannelijke sterilititeit in het kweekprogramma op te nemen.

3. *resistentie*. Klonering van plantaardige resistentiegenen tegen pathogene schimmels en bacteriën, nematoden en virussen maakt *a.* manipulatie van dit kenmerk zonder flankerende negatieve eigenschappen van de donor, *b.* screening van kweekmateriaal met horizontale resistentie op storende resistentiegenen met partieel effect, *c.* bestudering van de plant-pathogen interactie op genproductniveau en isolatie van niet gebruikte resistentiegenen in wild materiaal mogelijk. De in de (populaire) pers veelvuldig aangehaalde mogelijkheden met herbicide resistentiegenen, toxine producerende genen, manteleiwitgenen en PR-genen wil ik verder onbesproken laten.

*Veldproeven*. Op dit moment worden proeven met o.a. transgene aardappel en tomaat in het veld gedaan. De toegevoegde genen hebben betrekking op de zojuist genoemde herbicide, insecten en virusresistenties. Het betreft in de meeste gevallen genen die nog niet orgaanspecifiek gereguleerd zijn. De eerste indrukken zijn positief. Toch is gedetailleerd onderzoek nodig om inzicht in de

*directe en indirecte* effecten van geïntroduceerde genen op de plant te krijgen zoals:

1. stabiliteit van het kenmerk in het veld gedurende meerdere generaties, 2. pleiotrope effecten, 3. prestatie van de plant onder stress condities. De tijd zal leren in hoeverre het mogelijk is genen te introduceren die zich direct in de plant thuis voelen. Misschien is veredeling hierop nodig. De opwinding m.b.t. genetische manipulatie van planten is voorbij. Er moet nu hard gewerkt worden om gedane beloftes waar te maken. Gewasfysiologisch onderzoek aan gemanipuleerde planten is hierbij onmisbaar.

*Opwinding.* Ik heb hierboven getracht weer te geven welke nieuwe ontwikkelingen er in het veredelingsonderzoek gaande zijn. Ik heb laten merken dat al in de 70'er jaren spanningen ontstonden tussen "whole" plant gerichte veredelingsonderzoekers en celbiologen. Op dit moment zijn de ontwikkelingen in de veredeling zover voortgeschreden dat primaire invloed en kennis vanuit meerdere disciplines onontbeerlijk is. Eén ding is zeker het eindprodukt is en blijft een ras dat al dan niet één of meerdere gepatenteerde eigenschappen bevat. Dit maakt veredeling ingewikkeld. Interdisciplinair teamwork is onontbeerlijk. Er zijn in de veredeling zoveel nieuwe mogelijkheden ontstaan dat elk kweekbedrijf op eigen wijze erop zal moeten reageren. Eigen initiatief en eigen koers zal steeds belangrijker worden. Zoals bij de hybride rassen is aangegeven zijn er meerdere wegen die naar hetzelfde doel leiden. Welke de juiste is kan vroegtijdig ontdekt worden als voldoende inzicht, de juiste  $\text{cont}(r)$ acten en realiteitszin aanwezig zijn.

*Dames en heren,*

Aan het einde van mijn voordracht bij deze officiële aanvaarding van het ambt van hoogleraar rest mij nog het volgende:

*Mijnheer de rector en college van bestuur,*

Aan mijn benoeming is veel overleg voorafgegaan. Dit had betrekking op noodzakelijke aanpassingen die het plantenbiotechnologisch onderzoek bij de vakgroep mogelijk moesten maken. Wij zijn nu ruim 1 jaar verder en kunnen vaststellen dat veel gerealiseerd is. De infrastructuur en personele bezetting is aangepast. Ik ben u hiervoor veel dank verschuldigd. Helaas is één probleem niet opgelost. Wij hebben nieuwe laboratoria met geschoold personeel gekregen. De budgetaire ruimte laat eigenlijk onderzoek in deze laboratoria niet toe. Deze zorg vertrouw ik u hierbij toe en hoop dat een gesprek over dit punt tot een bevredigende oplossing zal leiden. Ik kan u dan verzekeren dat het in mij gestelde vertrouwen waargemaakt zal worden.

*Leden van de vakgroep,*

Het is een bijzondere ervaring om een vakgroep als jong afgestudeerde te verlaten en er later als hoogleraar in terug te komen. Het afgelopen jaar is zeer vruchtbaar geweest. Het in mij gestelde vertrouwen stel ik zeer op prijs. Mijn benoeming vond midden in de "groei en krimp" operatie plaats. De vakgroep is bereid geweest zeer diep in eigen vlees te snijden. Hierdoor konden personele aanpassingen snel gerealiseerd worden. Aan mij de taak

om de vernieuwing gestalte te geven. Ik hoop er in te slagen. Dit is alleen mogelijk met inzet van de gehele vakgroep.

*Leden van andere vakgroepen en het CPO,*

Het onderzoek is zo complex geworden dat samenwerking onontbeerlijk is. Via het VF-programma en allerlei projecten is er veel samenwerking ontstaan. Ik zal dit in de toekomst blijven nastreven.

*Hooggeleerde Parlevliet*

De afbakening van onze werkterreinen kan in principe tot een te grote afstand tussen de onderzoekssecties leiden. Het afgelopen jaar heeft bewezen dat er voldoende overlap is, waardoor dwarsverbanden ontstaan. De ontwikkelingen binnen de sector, de cluster en het CPO worden door ons beiden nauwgezet gevolgd. Ons gemeenschappelijk doel is de vakgroep ook op langere termijn een voldoende breed draagvlak te geven.

*Hooggeleerde Feenstra en leden van de werkgroep cel- en plantengenetica*

Scheiden is altijd een beetje lijden. Ik zal de vele intensieve gesprekken die wij beiden over onderzoek hadden niet vergeten. Wij hebben een aantal interessante successen behaald en ervaren dat tegenwind in financiering tot zeer interessant onderzoek kan leiden. Ik heb de werkgroep op een kritiek moment verlaten. Het onderzoek dat ik er heb mogen doen is met zeer veel plezier gedaan. Ik hoop, dat de werkgroep op korte termijn een nieuwe koers in de

botanische genetica zal gaan varen.

*Dames en heren studenten,*

Plantenveredeling is een interdisciplinair vak. Voor de oplossing van steeds meer problemen is onderzoek op moleculair en celniveau nodig. Ik hoop u voldoende gevoel voor realiteit bij te brengen. De volgende woorden van prof. Straub, voormalig directeur van het MPI in Keulen, zijn hierbij mijn leidraad:

Why travel to distant places  
look, enchantment is nearby

Dit was zijn relativerende kanttekening bij het enthousiasme van celbiologen over het belang van hun onderzoek voor toepassing in de veredeling. Vaak kunnen oplossingen inderdaad dichtbij gevonden worden als voldoende creativiteit aan de dag gelegd wordt. Ik hoop u het speelse element dat hierbij van groot belang is bij te brengen.

Ik dank u voor uw aandacht.