EMBRYO'S MAKEN DE PLANT

door prof.dr. Sacco de Vries



Inaugurele rede uitgesproken op 3 juni 1999.
Landbouwuniversiteit.

EMBRYO'S MAKEN DE PLANT

Meneer de Rector Magnificus, dames en heren,

Planten beginnen hun leven als embryo. Tijdens de embryogenese ontwikkelt zich uit een enkele cel, de bevruchte eicel, een plantenembryo dat uiteindelijk bestaat uit een groot aantal cellen. Deze cellen worden gerangschikt volgens een bepaald patroon, dat karakteristiek is voor het type plant. Het vakgebied dat zich bezig houdt met de vraag hoe een individu zich ontwikkelt uit een enkele cel is de ontwikkelingsbiologie en dit is het aandachtsgebied van de leerstoelgroep Moleculaire Biologie.
Vanuit wetenschappelijk oogpunt is de vorming van het plantenembryo een zeer boeiend proces. Niet in het minst omdat in planten de mogelijkheid bestaat om het gehele proces van embryogenese ook te laten beginnen van een andere cel dan de bevruchte eicel. Passend in de traditie van een ondernemende en op de praktijk gerichte universiteit als de onze is de wetenschappelijke interesse niet de enige reden dat wij aan plantenembryo's werken. Er bestaan een groot aantal toepassingen van plantenembryo's, zoals vermeerdering van planten, als middel om veredelingsprogramma's te versnellen en als voedingsmiddel. Daarmee is het plantenembryo niet alleen een pijler van de Kenniseenheid Plant, maar als het ware 'core business' van het gehele Wageningen Universiteit en Research centrum.

Onderzoek naar de embryogenese van hogere planten.

Plantenembryo's zijn normaal gesproken niet met het blote oog zichtbaar omdat ze ontstaan in het binnenste van een bloem, en wanneer ze ontwikkeld zijn, keurig

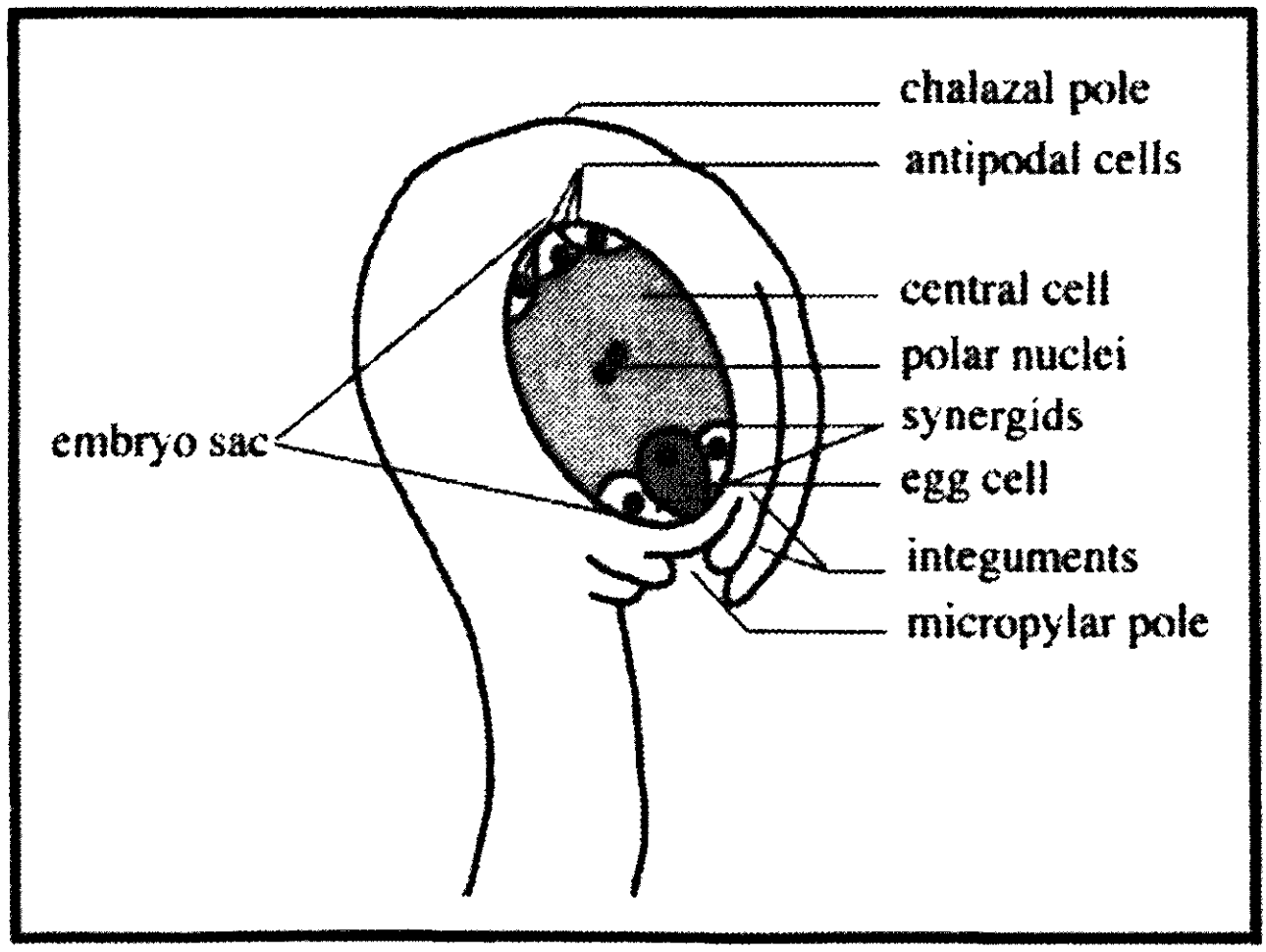
ingepakt en ingedroogd in een zaad verspreid worden door wind, water of dier.
Plantenembryo's leveren indirect een grote bijdrage aan onze voeding. In veel levensmiddelen zoals rijst, mais en alle granen bestaat het eetbare gedeelte uit endosperm en dit is het reservevoedsel dat het plantenembryo mee krijgt in het zaad. In andere gevallen, zoals bij peulvruchten bestaat het eetbare gedeelte zelfs uit het embryo zelf, al dan niet in combinatie met het zaad en de gehele peul.
Plantenembryo's maken tijdens hun ontwikkeling voor het eerst in het nieuwe leven van een plant twee belangrijke groepen van cellen, het primaire wortel- en scheutmeristeem. Uit deze meristemen ontwikkelen zich later alle organen van een volwassen plant, inclusief de bloemen. Mogelijk later aan te leggen organen zoals bijvoorbeeld zijtakken of knollen worden gemaakt met behulp van secundaire meristemen. Dit betekent dat planten het vermogen behouden om meristemen te maken, en dat dit niet alleen gebeurt in het embryo. Primaire meristemen moeten dus niet alleen in staat zijn om nauwkeurig alle organen van een plant te vormen, ze moeten dat ook zoals bijvoorbeeld bij bomen, eeuwenlang op dezelfde wijze blijven doen. Als nu het primaire meristeem in het embryo niet goed wordt aangelegd, dan kan dit ernstige gevolgen hebben voor het functioneren van de plant gedurende de gehele levenscyclus. Nog maar vrij recent zijn de eerste series genen geidentificeerd die betrokken zijn bij het aanleggen van de meristemen in het embryo.
Plantenembryo's kunnen ook worden gemaakt uitgaande van andere cellen dan de bevruchte eicel. In tegenstelling tot dieren, kunnen somatische, of gewone lichaamscellen van planten ook uitstekend embryo's vormen.

Deze somatische embryo's zijn in principe hetzelfde als de normale plantenembryo's en kunnen ook keurig tot volwassen planten uitgroeien. Hierop is een bloeiende bedrijfstak gebaseerd die zich bezig houdt met de vermeerdering, oftewel het klonen van planten volgens de zogenaamde reageerbuismethode.
Het zal u na deze korte opsomming niet meer verbazen dat plantenembryo's sterk in de belangstelling staan als onderzoeksobject bij de Landbouwuniversiteit en het DLO. Dit heeft er mede voor gezorgd dat Wageningen een grote naam heeft op het gebied van de reproductie van planten.
Ik wil u eerst laten zien hoe het plantenembryo gevormd wordt tijdens de normale ontwikkeling, en als illustratie gebruik ik daarvoor de 'modelplant' Arabidopsis thaliana of zandraket. Vanwege de beperkte grootte van het genoom (het erfelijk materiaal, DNA, zoals dat bij eukaryoten in de kern ligt georganiseerd), de korte generatietijd, bevruchting door middel van zelfbestuiving en uitgebreide collecties mutanten is Arabidopsis het modelorganisme bij uitstek geworden van ontwikkelingsbiologen. Wereldwijd vindt zeer veel onderzoek plaats aan Arabidopsis, zodat men de beschikking heeft over heel veel onderzoeksmethoden. Zo bestaan er wereldwijd grote collecties van mutanten en wordt het steeds eenvoudiger om van een interessant mutant fenotype te komen tot het gen dat bij het fenotype hoort.

Zygotische embryogenese: Gametogenese en bevruchting.

Het zygotische embryo dankt de naam aan het woord zygote, dat is afgeleid van het Griekse 'zugos' of 'zugon' hetgeen 'verbinding' of 'juk' betekent. De

zygote ontstaat nadat de fusie van de kern van de eicel en die van de spermacel compleet is. Uit de zygote wordt vervolgens het embryo gevormd. Alvorens over het embryo zelf te spreken wil ik u kort inleiden in de ontstaansgeschiedenis van de eicel.
De vrouwelijke gametofyt of de embryozak bestaat in Arabidopsis uit 8 haploide cellen[1]. Een daarvan is de eicel, geflankeerd door twee andere cellen, de synergiden, de kern van de centrale cel en drie antipodale cellen. Om deze structuur heen bevinden zich een aantal lagen weefsel, waaronder de binnenste en de buitenste integumenten. Deze lagen zullen later gezamenlijk de zaadhuid gaan vormen (Figuur 1).

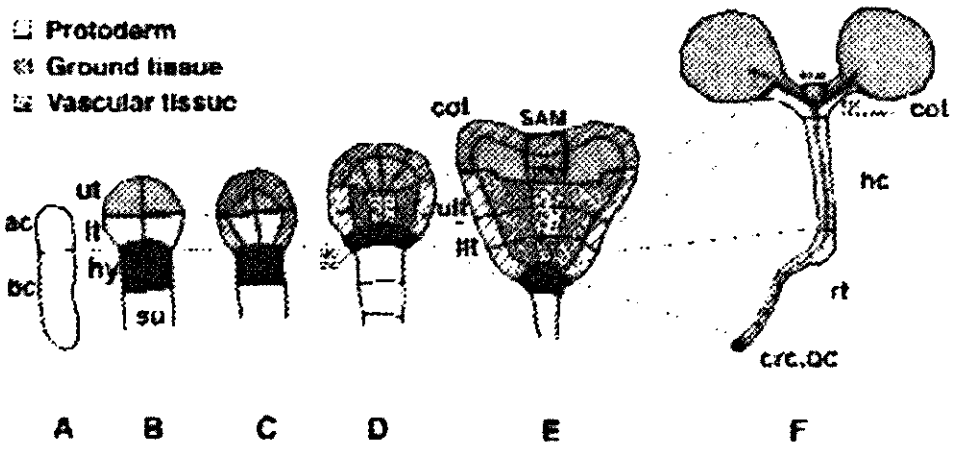


Figuur 1
Schematische voorstelling van de embryozak in Arabidopsis thaliana op het moment van de bevruchting.

In Arabidopsis bevindt zich de embryozak met daaromheen de integumenten en uiteindelijk de zaadhuid in een hauw. Deze hauw is het eindresultaat van de ontwikkeling van de stamper in de bloem.
Stuifmeel dat landt op de stempel, vormt na ontkiemen een pollenbuis die de stijl ingroeit en uiteindelijk zijn weg vindt naar de onderkant van het ovulum, daarin binnendringt via de zogenaamde micropilaire opening en zich vervolgens een weg baant door een van de synergiden. Uit de top van de pollenbuis komen er vervolgens twee spermacellen vrij. In tegenstelling tot dieren, vindt er bij planten dan niet een enkele, maar een dubbele bevruchting plaats. Eén spermacel fuseert met de eicel, om de zygote te vormen, en een tweede spermacel fuseert met de centrale celkern. De centrale cel vormt uiteindelijk een multinucleair endosperm. De zygote vormt uiteindelijk het embryo. In Arabidopsis ontwikkelen zich het endosperm en het embryo min of meer gelijktijdig, zij het dat de delingen in het endosperm vaak iets voorlopen op die van het embryo. In vergelijking met andere planten is er in Arabidopsis weinig endosperm en als het embryo volwassen is geworden lijkt het volledig verdwenen.

Zygotische embryogenese: het embryo.
Enige uren na de bevruchting begint de zygote zich in de lengte te strekken. De eerste zygotische deling resulteert dan in een basale cel, aan de onderzijde en een apicale cel, aan de bovenzijde. Dit is het eerste zichtbare teken van de apicaal-basale polariteit, die uiteindelijk zal bepalen waar zich de wortel en waar zich de stengel zal ontwikkelen. De basale cel deelt zich een aantal malen in dwarse richting, om een langere structuur te verkrijgen die uiteindelijk de suspensor wordt. De bovenste cel deelt zich eerst twee-

maal in de lengterichting en eenmaal dwars, om het zogenaamde octant of 8-cellig stadium te bereiken. Behalve een gedeelte van de uiteindelijke wortel, die van de bovenste cel van de supensor afkomstig is, wordt het gehele volwassen embryo gevormd uit de nakomelingen van de bovenste cel. Na het octant stadium wordt via een bijzondere richting in de volgende deling het zestien-cellig stadium bereikt. Nu hebben zich voor het eerst acht cellen gevormd die niet meer in contact zijn met de oppervlakte, en daarmee is het eerste zichtbare teken van het radiale patroon vastgelegd. Hierna wordt het delingspatroon wat ingewikkelder en onstaan middenin het embryo de eerste voorlopers van het transportweefsel, zodat nu het radiale patroon uit drie elementen, de epidermis, grond-weefsel en transportweefsel bestaat. Het apicaal-basale patroon ontwikkelt zich tegelijkertijd, en langzamerhand beginnen zich de onderdelen van het hypocotyl, het wortelmeristeem, de voorlopers van het scheutmeristeem en de twee kiemblaadjes te vormen. Dit ziet men in het zogenoemde hartstadium van de embryogenese. Verdere ontwikkeling in het torpedostadium levert een structuur op die er al behoorlijk als een kiemplantje uitziet, en op dit moment zijn dan ook de meeste onderdelen van de plant in aanleg klaar[2] (Figuur 2).



Figuur 2 Schematische voorstelling van de ontwikkeling van het Arabidopsis embryo.

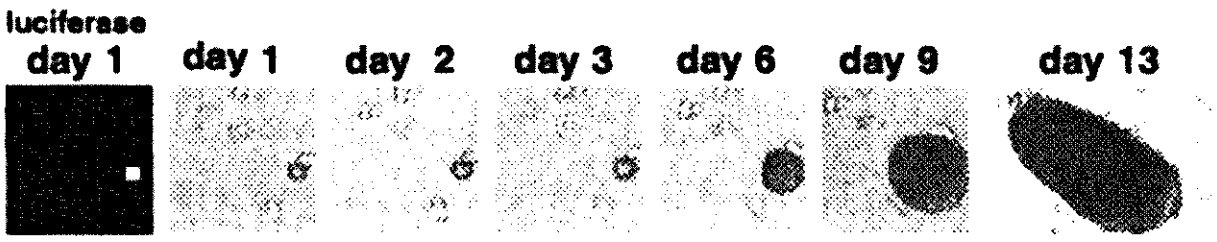
Veel van de kennis over de ontwikkeling van het embryo is afkomstig van de bestudering van mutanten die storingen hebben opgelopen in bijvoorbeeld de aanleg van een gedeelte van het embryo[3]. Dergelijke mutanten worden vaak genoemd naar datgene wat ze niet meer maken, zoals in het geval van de *stm* of *'shootmeristemless'* mutatie[4]. In deze mutant wordt geen scheutmeristeem meer gemaakt, en dit betekent dat het gen dat in deze mutant beschadigd is geraakt er normaal voor zorgt dat er zich wel een scheutmeristeem ontwikkelt. Het *STM* gen blijkt te coderen voor een transcriptiefactor, behorende tot een groep van eiwitten die bepalen welke gedeeltes van het DNA gebruikt worden en welke niet. Hiermee is het *STM* gen een van de regelgenen voor de aanleg van het scheutmeristeem. Er zijn echter meer genen betrokken bij bijvoorbeeld het aanleggen van het scheutmeristeem. Twee andere genen zijn interessant omdat een ervan, *wuschel*[5], net als het *STM* gen betrokken is bij de aanleg van alle scheutmeristemen, terwijl een ander gen, *zwille*, alleen betrokken is bij de eerste keer dat het scheutmeristeem wordt aangelegd in het embryo. Het bestaan van deze mutatie laat zien dat er een embryo-specifieke ontwikkelingsvariant bestaat van het scheutmeristeem[6].
Op deze wijze zijn nu een aantal genen geisoleerd die betrokken zijn bij de aanleg en de vorming van het scheutmeristeem. Zo heeft een andere groep van genen juist een tegenovergesteld effect op de aanleg van het scheutmeristeem, in die zin dat er 'teveel' van wordt gemaakt. Een van die mutanten, *clavata*1[7] genoemd heeft een scheutmeristeem dat veel meer delende cellen bevat dan normaal Dit verschijnsel ziet men ook in de *primordia timing* of *pt* mutant. De gevolgen hiervan zijn

dat er vele vertakkingen ontstaan en veel meer scheuten gevormd worden. Het *CLAVATA*1 gen is dus normaal betrokken juist bij het onderdrukken van de celdelingen in het meristeem, en codeert voor een receptorkinase, behorend tot een groep van eiwitten die betrokken is bij het opvangen en omzetten van signalen. In dit geval dus een signaal dat de celdeling afremt.
Zo ontstaat er een beeld dat het scheutmeristeem dynamisch in stand wordt gehouden door de snelheid van celdeling te regelen maar ook de snelheid waarmee de cellen verdwijnen uit het meristeem en differentieren tot bijvoorbeeld blad. Deze controle lijkt voor een groot gedeelte plaats te vinden vanuit de omringende reeds aanwezige weefsels. Dit betekent ook dat de eerste keer dat alle weefsels worden aangelegd in het embryo, dit nog zonder de aanwezigheid van een meristeem gebeurt. Kennelijk wordt er eerst een soort 'voorbeeld' patroon gemaakt, zodat het meristeem vanuit dit patroon de juiste signalen kan krijgen.
Een benadering die in onze groep is gevolgd maakt het mogelijk om naar ontwikkelende patronen te kijken die je eigenlijk niet kunt zien in gewone doorsneden. De techniek die hiervoor wordt gebruikt laat het aanschakelen van genen zien met behulp van een merker, in dit geval een blauwe kleur[9]. Op deze manier kunnen we bekijken wat er voor opdelingen gemaakt worden in het begin van de embryogenese. Een van deze merkers geeft aan dat al zeer vroeg de cellen in de bovenste helft van het embryo anders worden dan die in het onderste gedeelte. Door middel van een kruising tussen een plant met deze merker en een plant met een mutatie in de aanleg van het scheutmeristeem is te volgen of er bijvoorbeeld meer of minder scheutmeristeemcellen aanwezig zijn. Dit

soort experimenten kan helpen om het effect van een bepaalde mutatie nader te verklaren.
Ik hoop dat u aan de hand van deze voorbeelden nu een beeld heeft van het soort vragen dat gesteld wordt bij het bestuderen van de zygotische embryogenese en het soort antwoorden dat men kan krijgen uit de studie van mutanten en merkers.

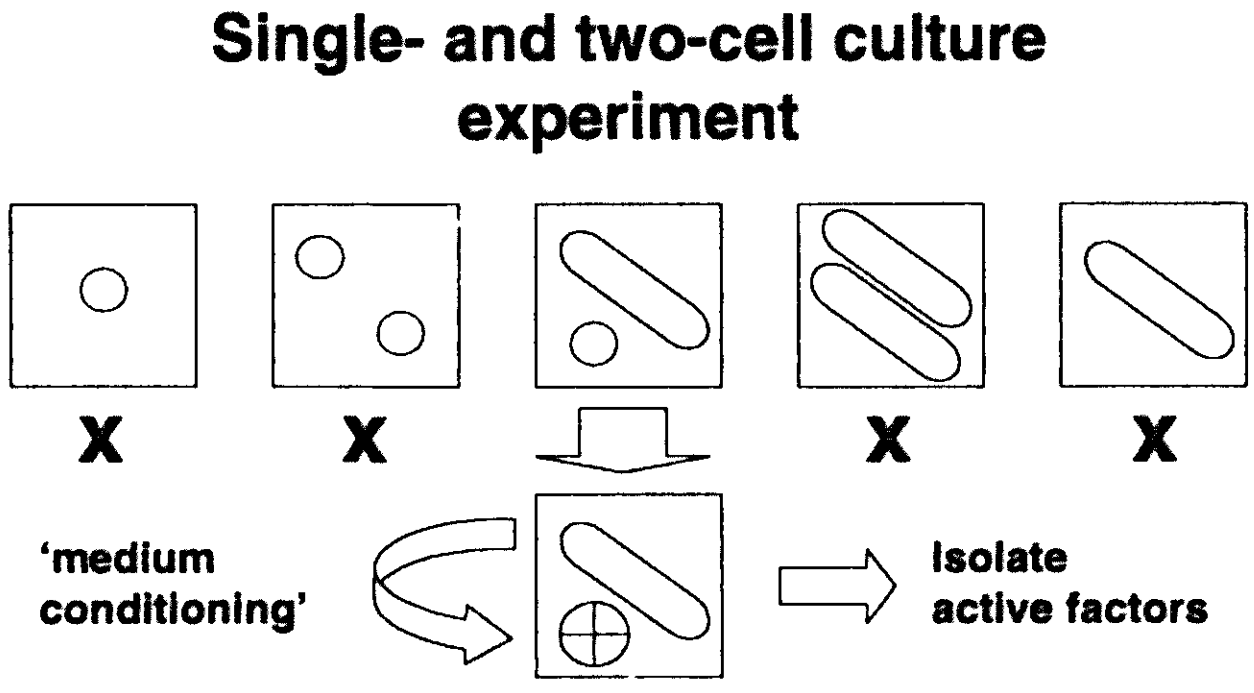
Somatische embryogenese.
Embryo's kunnen in planten ook gevormd worden zonder bevruchting en geheel in vitro vanuit gekweekte plantencellen. Dit betekent dat het hele proces van gametogenese waarover ik u eerder vertelde, of niet per sé nodig is voor de ontwikkeling van het embryo zelf, of dat er andere cellen zijn die de functie ervan kunnen overnemen. Dit is een belangrijke vraag om te beantwoorden, omdat het kan helpen antwoord te geven op vragen die verband houden met de oorsprong van het plantenembryo.
De zogenoemde somatische embryogenese wordt in de praktijk gebruikt door stukjes van een volwassen plantenonderdeel na behandeling met het plantenhormoon auxine cellen kunnen maken die embryogeen zijn geworden. Dit betekent dat ze na vrij eenvoudige behandelingen in staat zijn om opnieuw een volledig embryo te vormen[10]. Anders dan tijdens de zygotische embryogenese, die per definitie start vanaf de zygote, is het in de somatische embryogenese veel moeilijker om te voorspellen welke cel uiteindelijk het embryo zal vormen. Reeds in de jaren zestig was vastgesteld dat er in een kweek van plantencellen enkele cellen aanwezig zijn, die het vermogen hebben om een embryo te maken[11]. Dit was een waarneming, die de vraag opriep of er genen te vinden

zijn die gebruikt worden in dergelijke enkele cellen om embryo's te maken? Werk van onze groep heeft laten zien dat dit zo is, en een van deze genen codeert voor een eiwit, SERK (Somatische Embryogenese Receptor Kinase), genoemd en behorende tot dezelfde groep van eiwitten die betrokken is bij het opvangen en verwerken van signalen zoals besproken bij het aanleggen van het scheutmeristeem. Voor wat betreft SERK is als volgt bewezen dat het gen voorkomt in juist die enkele cellen die embryo's kunnen maken. De meeste genen bestaan uit een stuk dat de informatie bevat voor het eiwit dat door het gen gecodeert wordt en daarvoor een serie controle elementen die ervoor zorgen dat het eiwit op het juiste tijdstip, in de juiste cel en onder de juiste condities gemaakt wordt. Deze elementen worden in de meest eenvoudige vorm samen de promoter genoemd. Wanneer we nu het SERK eiwit, dat we niet zondermeer kunnen zien, vervangen door een eiwit dat normaal gemaakt wordt door vuurvliegjes, het luciferase, is de verwachting dat de SERK promoter ervoor zorgt dat luciferase gemaakt wordt op hetzelfde moment en in hetzelfde celtype als het SERK eiwit. Op deze manier zijn planten gemaakt die licht geven. Wanneer van die planten nu een celkweek gemaakt wordt, is de verwachting dat er ook enkele cellen zullen zijn die licht geven. Dat is ook zo, en toen we die enkele cellen volgden in hun ontwikkeling, bleek dat alleen de lichtgevende cellen embryo's konden maken[12] (Figuur 3).



Figuur 3
Ontwikkeling van een SERK promoter-luciferase bevattende cel tot een somatische embryo.

Een tweede vraag luidde of het proces van somatische embryogenese cel-autonoom is, m.a.w. of een enkele geisoleerde cel een embryo kan vormen zonder de aanwezigheid van andere cellen of de producten van deze cellen. Deze vraag is voor wat betreft embryogenese vanuit enkele cellen nog niet rechtsstreeks beantwoord, maar een van de meest elegante experimenten op dit gebied is gedaan door de groep van Koop[13], die met behulp van een enkel-cels kweek systeem vaststelde, dat alleen wanneer een tweede, niet delende cel aanwezig was, de eerste cel kon delen. Zo ontstaat het beeld van een suspensiecultuur die bestaat uit een groot aantal verschillende en elkaar wederzijds beinvloedende cellen waartussen continu communicatie plaatsheeft. (figuur 4)



Figuur 4

Het experiment van Spangenberg et al. (1985) dat de communicatie aantoont tussen plantencellen.

Op basis van deze en een groot aantal andere waarnemingen is duidelijk geworden dat ook de ontwikkeling van plantenembryo's in weefselkweek afhankelijk is van stoffen die worden uitgescheiden door andere plantencellen. Een hoofdmoot van ons onderzoek naar somatische embryogenese is het opzetten van testsytemen om te kunnen vaststellen wat deze stoffen zijn. In twee van dergelijke systemen blijkt dat zich bepaalde eiwitten in het kweekmedium bevinden die de juiste ontwikkeling van het embryo, maar ook de vorming van embryogene cellen bevorderen. Met behulp van een cellijn gemaakt door de groep van Terzi in Italie, is een van de gevonden eiwitten geïdentificeerd als een chitinase[14]. Dit enzym knipt de binding tussen twee suikers, N-acetylglucosa-

mine door. Het verbazende van deze ontdekking was dat het veronderstelde natuurlijke substraat van chitinases, chitine, alleen aanwezig is in de celwand van bepaalde schimmels en dieren met een exoskelet zoals bijvoorbeeld kreeften. In eerste instantie leek de zoektocht naar de natuurlijke plantensubstraten van dit enzym een moeizame onderneming, maar er blijkt toch in ieder geval een kandidaat voor zo'n chitinase substraat te vinden te zijn. Deze kandidaat is een ander eiwit dat behoort tot de groep van uitgescheiden eiwitten met een stimulerende activiteit op de embryogenese, de arabinogalactan proteinen of AGPs. Zo ontwikkelde zich een model waarbij in ieder geval twee uitgescheiden eiwitten, het chitinase en het AGP, op de een of andere manier betrokken zijn bij het proces van somatische embryogenese. Door te kijken waar de AGPs zich bevinden lijkt het er op dat ze gemaakt worden door cellen die niet zelf embryo's maken. Dit zou dus mooi passen in ons model waarbij andere cellen betrokken zijn bij het maken van embryo's in weefselkweek.
De vraag is nu of dergelijke helpercellen dan ook aanwezig zijn tijdens de zygotische embryogenese. Wij hebben dit nader onderzocht door naar zowel het AGP als het chitinase te kijken in ontwikkelende zaden en vonden inderdaad dat beide eiwitten zich in de onmiddellijke omgeving van het embryo bevonden. Dit versterkte weer het idee dat veel van de functies die gebruikt worden bij de normale zygotische embryogenese ook gebruikt worden bij de somatische embryogenese en andersom[15].

Moleculaire genetica in de somatische embryogenese.
Hoewel het overwegend biochemisch en celbiologisch

getinte onderzoek ons veel heeft opgeleverd, bleek gaandeweg dat de beperkingen van het werken met systemen voor somatische embryogenese waarbij geen genetica mogelijk is een groot nadeel is. Dit bracht ons ertoe om een systeem voor somatische embryogenese op te zetten in cultures van Arabidopsis, want in deze plant is, zoals ik eerder vertelde de genetica zeer sterk ontwikkeld[16]. Dit was in eerste instantie gebaseerd op mutanten met een hoog regeneratievermogen, maar is nu ook mogelijk in wild-types. Een van de toekomstige elementen waar wij aandacht aan gaan besteden betreft de vraag hoeveel genen er betrokken zijn bij het vermogen om somatische embryo's te maken en die een cel kunnen instrueren dat ze nu niet meer behoren tot een blad of stengel, maar zich moeten voorbereiden op een toekomst als nieuw embryo.

Vooralsnog lijkt het er op dat er een aantal genen is waardoor het vermogen tot het maken van somatische embryo's onderdrukt wordt. Planten waarbij deze genen zijn uitgeschakeld maken juist meer embryo's, maar deze planten hebben vaak ook andere afwijkingen die erop duiden dat de controle op het uitvoeren van celdelingen in bijvoorbeeld het scheutmeristeem verstoord is geraakt. Zo blijken verrassed genoeg zowel de *pt* als de *clavata*1 mutanten ook heel goed in staat om somatische embryo's dus een meer afgeleid effect[16]. Mogelijk zijn er nog veel meer van dergelijke genen, die in de normale situatie dus betrokken zijn bij het voorkómen van somatische embryogenese. Dit lijkt een voorbeeld van een negatief regulatiemodel, dat ook wordt gebruikt bij de controle van celdeling, hoewel ook daar de werkelijke situatie veel complexer is. Zo kunt u zich voorstellen dat somatische embryogenese spontaan begint als er bepaal-

de remmende factoren worden verwijderd, maar het zou ook goed kunnen dat dit slechts de eerste fase is, en dat daarna in zulke 'vrijgemaakte' of competente cellen pas gericht een embryogeneseprogramma kan worden aangezet.

Natuurlijke niet-zygotische embryogenese of apomixie en competentie voor embryogenese.
Het blijkt dat in een aantal plantensoorten zaden met daarin normale levensvatbare embryo's worden gevormd zonder bevruchting. Omdat deze embryo's van somatisch weefsel van de ouderplant afkomstig moeten zijn, is hun genetische samenstelling exact gelijk aan die van de moederplant[17]. Deze apomictische embryo's vertegenwoordigen een vorm van 'natuurlijk' klonen die van groot belang is voor de veredelingsindustrie. Apomixie zou, wanneer het geinduceerd kan worden in cultuurgewassen, een grote bijdrage kunnen leveren aan he bijvoorbeeld snel kunnen introduceren van rassen met betere eigenschappen en het versneld kunnen inspelen op veranderde vragen uit de markt. Er bestaan verschillende vormen van apomixie, die gekenmerkt worden door storingen in de meiose, zodat diploide gameten ontstaan. Deze gameten hebben geen bevruchting nodig om een embryo te vormen, ze doen dat spontaan. Niet alleen de gameten, soms kunnen ook cellen van het omringende maternale weefsel geinduceerd worden om een embryo te maken, die dan het normale zygotische embryo verdringt of wegcompeteert. In al deze gevallen blijken er dus behalve de eicel andere cellen te zijn die het maken van een embryo kunnen overnemen. In de meeste van deze cellen komt het eerder genoemde SERK gen tot expressie, en het blijkt dat ook in sitiu-

aties waar natuurlijke apomixie optreedt de voorloper-cellen van de apomictische embryo's dit gen tot expressie brengen. Dit ondersteunt het beeld dat zo langzamerhand van dit gen is gevormd, dat het de competentie van cellen aangeeft om een embryo te vormen.

Arabidopsis als modelsysteem: op weg naar het virtuele plantenembryo.

Er doen zich met het gebruik van Arabidopsis als modelsysteem geheel nieuwe mogelijkheden voor om het proces van embryogenese te leren begrijpen. Het Arabidopsis genoom is met een geschatte grootte van 120.000.000 baseparen aan DNA ongeveer een/dertigste van dat van de mens. De exacte basenvolgorde hiervan zal volgend jaar beschikbaar komen. Het moge duidelijk zijn dat het omgaan met deze informatie slechts kan plaatsvinden met behulp van geavanceerde volledig gecomputeriseerde gegevensbestanden. Dit brengt met zich mee dat in toenemende mate deze informatie uitsluitend nog 'in silico' aanwezig is en niet meer in bijvoorbeeld papieren vorm. Naar schatting zullen zich in het Arabidopsis genoom ongeveer 25.000 genen bevinden, waarvan de functie maar voor slechts een gedeelte bekend zal zijn.

Een van de methoden die men nu toepast om er achter te komen welke genen betrokken zijn bij een bepaald proces is om met behulp van zogenoemde DNA microarrays, of DNA chips naar het aan- en uitzetten van alle genen in een genoom tegelijk te kijken. Zo heeft een relatief simpel experiment waarbij gistcellen gekweekt werden in rijk en in arm medium een indruk gegeven van de reactie van het gehele gist genoom (zo'n 6000 genen) op een dergelijke behandeling, terwijl wij tot nu toe

gewend waren aan experimenten met slechts enkele of hooguit tientallen genen tegelijk. Hierdoor kon men bepaalde metabolische routes volledig in kaart brengen, niet alleen de enzymen die voor een bepaalde omzetting zorgen, maar ook alle controlegenen die zo'n route aan of uit zetten.
Wij hebben zelf onlangs een eerste DNA array experiment uitgevoerd om naar het aan en uitzetten van 12.000 genen, of ongeveer de helft van het Arabidopsis genoom te kijken tijdens de vorming van embryogene cellen in Arabidopsis. Met 11.400 gebeurde niets, 200 werden er uitgezet en 400 andere aangezet tijdens de embryo-inductie. De identiteit van al deze genen is direct bekend en kan via internet met een muisbeweging worden opgezocht en indien gewenst direct on line besteld om de echte versie thuisgestuurd te krijgen. Een groot probleem op dit moment is dat wij nog niet beschikken over goede verwerkingssystemen om dergelijke grote hoeveelheden data te kunnen hanteren en te interpreteren. Daarvoor is de ontwikkeling van een nieuw terrein als de bioinformatica nodig, waarin men een steeds verdergaande integratie van biologische gegevens opgeslagen in interactieve databases verwacht, om het hoofd te kunnen bieden aan de overmaat aan informatie die er nu geproduceerd wordt.
Mede op grond van dergelijke studies maakt men al computersimulaties van hele signaaltransductieroutes en biochemische pathways. Er bestaat sinds kort zelfs een gesimuleerde hypothetische minicel van 127 genen die keurig "leeft' van glucose, energie genereert, eiwitten maakt en afvalstoffen uitscheidt. Men kan via Internet DNA chip experimenten[18] en biochemische simulaties[19] geheel in silico uitvoeren[20].

Het is te verwachten dat over niet al te lange tijd de eerste geheel virtuele celdeling zal plaatsvinden. Uiteindelijk kunnen deze ontwikkelingen ertoe leiden dat er naast het zygotische en het somatische embryo ook het virtuele Arabidopsis embryo komt. In eerste instantie moet zo'n virtueel embryo het natuurlijk nog hebben van een wiskundige nabootsing van de regelmatige ontwikkelingspatronen in een echt embryo, maar uiteindelijk zullen in toenemende mate de genen en de ervoor coderende eiwitten kunnen worden ingevuld die deze ontwikkelingspatronen sturen. Hoewel dit nog een eind weg is, is het aardig om al eens na kunnen denken over de mogelijkheden hiervan. Voorspeld zou dan kunnen worden wat er gebeurt wanneer bepaalde groepen van genen uitgezet of op het verkeerde moment weer aangezet worden en welke delingen bijvoorbeeld cruciaal zijn en welke niet. Ook het interpreteren van bestaande en nieuwe mutante embryo fenotypes wordt mogelijk. Onmogelijk? Auto's en vliegtuigen worden nu al reeds voor een flink gedeelte eerst virtueel gebouwd en getest, voordat er een eerste echte model gemaakt wordt. Ik denk niet dat iemand dat had voorzien op het moment dat een flink gedeelte van het huidige wagenpark nog op de tekentafel stond. Een biologisch systeem is natuurlijk aanmerkelijk gecompliceerder en bevat veel meer verschillende onderdelen die met elkaar communiceren. Toch is het aantal morfologische beslissingen die een cel kan nemen (delen, niet delen, strekken, differentieren) mogelijk beperkt genoeg als uitkomst van alle moleculaire complexiteit om een virtuele benadering mogelijk te maken.

Financiering en commercialisering van plantenonderzoek.

Onderzoek is duur, erg duur zelfs en zal in de toekomst alleen maar duurder worden. Tot nu toe zijn de Landbouwuniversiteit, de stichting Nederlands Wetenschappelijk Onderzoek, de Europese Unie en een bekend veredelingsbedrijf in het noorden des lands financiers geweest van ons onderzoek en dan met name in de vorm van personeelsplaatsen. De experimenten die in de toekomst gedaan gaan worden zijn echter van een heel andere orde van grootte. Het maken van een bescheiden DNA chip verbruikt het hele jaarbudget van een NWO Onderzoeker-In-Opleiding. Het opzetten van sytemen voor het gebruik van biologische gegevens is zo duur dat dit landelijke en Europese initiatieven vereist. In de Verenigde Staten wordt op dit moment al ruim 500 miljoen dollar geinvesteerd in multidisciplinaire centra die zich gaan bezighouden met genoomanalyse en bioinformatica[20]. Per minuut worden er wereldwijd zoveel nieuwe DNA sequentiegegevens gegenereerd, dat voor het einde van de studie van de huidige eerstejaars de DNA volgordes van gehele genomen inclusief dat van onszelf bekend zal zijn. In dit veld geldt nog sterker dan in andere onderzoeksterreinen dat zonder investeringen er op korte termijn grote achterstanden opgelopen worden. Wil men dus in Europa bijblijven in deze tak van onderzoek dan moet er zeer veel geinvesteerd worden in bioinformatica.

Een voor de hand liggende oplossing is om deze investeringen te vergroten is door middel van exploitatie van kennis. Zelfs organisaties die van oudsher vrij toegankelijke biologische databases beheren zijn gedwongen om de weg van de 'verzilvering' op te gaan. Hoewel dit

grote risico's met zich mee brengt ten aanzien van de vrije uitwisseling van wetenschappelijke gegevens, is het aan de andere kant zo dat grote investeringen nodig om voortgang te boeken alleen worden gedaan als de commerciële belangen gewaarborgd zijn middels bescherming in de vorm van bijvoorbeeld patenten. Een erg goede ontwikkeling vind ik de bloei die kleine Nederlandse bedrijven, gespecialiseerd in bijvoorbeeld moderne weefselkweektechnieken of in moleculaire diagnostiek, op het moment meemaken. De mogelijkheid die deze bedrijven bieden om werkgelegenheid te bevorderen en technologie te behouden en mede te ontwikkelen is uiterst belangrijk. Een flink gedeelte van de promovendi en post-docs die in onze groep hebben gewerkt, werken nu in kleine en middelgrote bedrijven. De EU, en met name de collega's van DGXII die zich bezighouden met de Levenswetenschappen, hebben in het verleden een grote rol gespeeld bij het samenbrengen van collega's uit alle landen van de EU samen met bedrijven. Hierdoor is in de loop der jaren zowel een formele als een informele infrastructuur ontstaan die wat betreft belang voor het onderzoek ver uitgaat boven de directe doelstellingen van de projecten. Een voorbeeld hiervan is het door de Europese Unie gefinancierde European Plant Embryogenesis Network dat inmiddels een internationale bekendheid heeft verworven in het veld. Ook hier is gebleken, dat samenwerking tussen de 50 universiteiten en 10 bedrijven die deelnemen resultaten oplevert. Misschien het belangrijkste aspect van deze netwerken is dat veel promovendi en post-docs werk vinden bij andere aangesloten groepen en uiteindelijk terecht kunnen komen in deelnemende bedrijven. Hierdoor blijft de kennisstructuur niet alleen in stand,

maar ook binnen Europa.

Het is van het grootste belang om te komen tot nieuwe landelijke en Europese initiatieven om Arabidopsis onderzoek te stimuleren. In het bijzonder de vorming van het Arabidopsis thaliana embryo moet een speerpunt blijven in het plantenonderzoek. Het leren begrijpen van het functioneren van planten, en het zo goed mogelijk gebruik maken van de kennis die al is bijeengebracht maken dat een sterke Arabidopsis gemeenschap ook binnen WUR de enige weg is om op termijn concurrerend te blijven in het plantenonderzoek.

Zoals veel dingen is ook financiering van wetenschappelijk onderzoek onderhevig aan modeverschijnselen. Nog niet erg lang geleden was er algemeen grote zorg over de toename in de wereldbevolking, uitputting van grondstoffen en de verwoesting van de natuur en het milieu. Planten zijn een onmisbaar onderdeel van het herstel van de opgelopen schade. Het laatste wat men dan zou verwachten in Nederland is de sterk toegenomen tendens tot afbrokkeling van de middelen en posities voor plantenonderzoek. Helaas is hier sprake van een tendens die ook Europees en zelfs mondiaal waarneembaar is.
Het zal ook iedereen duidelijk zijn dat de onderwerpen universiteit en wetenschappelijk onderzoek zeer laag op de politieke agenda staan[21,22]. Gelukkig dient zich uit de hoek van het bedrijfsleven steeds meer ongerustheid aan over voortzetting van dit beleid. In een interview met de voorzitter van het VNO-NCW, betoogt deze dat er veel meer nadruk moet komen op technologie en wetenschapsbeleid[23]. Ik hoop dat deze signalen worden opgevangen en in klinkende euro's ten behoeve van het plantenonderzoek zullen worden omgezet.

Onderwijs.
Kort na mijn indiensttreding bij Moleculaire Biologie werd ik naar goed gebruik van wat pas veel later 'human resource management' genoemd zou worden, bij voorkeur ingezet bij onderwijselementen die een samenwerking met de collega's van Biochemie inhielden. Waar deze gezamenlijke onderwijselementen tot voor kort nog steeds de geest van de traditionele verschillen tussen beide disciplines weerspiegelden, zijn wij nu bezig met een herziening die meer zal aansluiten op de hedendaagse praktijk, waarbij deze verschillen vervagen. Onderwijselementen zoals de gezamenlijke vakken Celfysiologie I en II zijn daar goede voorbeelden van. Het is ook een gelukkige omstandigheid om lid te zijn van de richtingsonderwijscommissie (ROC) T34 Biotechnologie. De verantwoordelijkheid voor het programma en de gemakkelijke wijze van met elkaar omgaan en problemen oplossen is bijzonder stimulerend. Ook de rol van het Onderwijsinstituut Technologie en Voeding waar deze ROC onder resorteert is doortrokken van dezelfde dadendrang en wil om onderwijs te blijven verbeteren.
In de huidige ontwikkelingen aan de Wageningse universiteit op het gebied van onderwijs valt veel positiefs te ontdekken. Op het eerste gezicht moet er steeds meer met steeds minder worden gedaan. Nu verdelingsmodellen uitsluitend op basis van aantallen studenten tot het verleden behoren, is dit een stimulans om noodzakelijke stroomlijning en onderwijsvernieuwing juist nu door te voeren.
Basiskennis is natuurlijk basiskennis, maar waar vakken zich ontwikkelen zal ook de basiskennis mee moeten ontwikkelen teneinde de totale hoeveelheid in 5 jaar

mee te geven vaardigheden binnen de perken van het redelijke te houden. Veel onderwijs in basiskennis leent zich uitstekend voor het aanbieden van stof in een meer gevarieerde vorm, waarbij hoorcolleges afgewisseld worden met zelfstudie, simulaties via computerondersteund onderwijs in een Internet omgeving en geïntegreerd met praktika. Dergelijke vormen lenen zich ook beter voor probleem gericht onderwijs (PGO).
Een ander onderwijselement waar ik mij zeer betrokken bij voel is de cursus Bioinformatietechnologie, een initiatief van leden van de sectie Moleculaire Genetica van Industriële Microorganismen. Bij deze cursus werken vier verschillende onderzoeksgroepen nauw samen. In dit vak, dat afgelopen jaar voor het eerst is gegeven, wordt inzicht gegeven in de manieren waarop DNA sequentiegegevens worden verzameld en via Internet toegankelijk worden gemaakt.
Het belang van dit vak voor de opleiding van Wageningse ingenieurs is duidelijk onderkend en heeft aanleiding gegeven tot het opzetten van een verdergaand curriculum samen met collega's van DLO en de KU Nijmegen.
In Wageningen wordt over het algemeen onderwijs verzorgd dat zich kan meten met het beste in Nederland. In een recente aflevering van het alumniblad van de RUGroningen, las ik in een interview met een aan de RUG afgestudeerde biologe dat haar eerste wens destijds was om in Wageningen te gaan studeren, maar dat haar VWO examencijfers daarvoor niet hoog genoeg waren24. Deze waarschijnlijk onbedoelde ode aan het niveau van onze opleidingen illustreert mijns inziens wel de weg die gevolgd moet worden. Onderwijs van hoog niveau is prima te realiseren in een universitaire

instelling van bescheiden omvang zoals de LU, met de mogelijkheid van veel individueel contact tussen docenten en studenten.

Dankwoord.

Aan het einde van deze rede wil ik graag een aantal personen bedanken die een benoeming als deze mede mogelijk hebben gemaakt.
Daar zijn als eerste mijn ouders. Op geheel eigen wijze zijn jullie sterk betrokken geweest bij mijn opleiding die via thuisonderwijs in het Midden-Oosten en HBS in Leeuwarden uitmondde in een studie aan de Rijksuniversiteit Groningen. Vanaf deze plaats nogmaals mijn bijzondere erkentelijkheid voor jullie belangstelling en steun.
Jos Wessels, mijn promotor, heeft mij geleerd hoe men een wetenschappelijk stuk in het Engels moet schrijven. Dit is een vaardigheid die nooit onderschat moet worden en waar ik veel aan heb in mijn verdere carriere.
Harry Hoge die mij op het groene pad gebracht heeft.
Ton Bisseling, die mij in 1983 aannam als postdoc, en mij na slechts 9 maanden al zag vertrekken. Sindsdien ben ik bezig om dit goed te maken en en hoop dat nog lang te kunnen blijven doen. Moleculaire Biologie is een geweldig lab dat drijft op jouw vernieuwingsdrang en georganiseerde chaos.
Ab van Kammen, die mij de verantwoordelijkheid voor wat eerst nog de Penengroep heette heeft toevertrouwd. Ab, er zijn al veel lovende woorden over je gesproken en daar wil ik er nog een aan toevoegen. Het belangrijkste is het doen van aardige proeven en daar proberen we ons aan te houden.
Maarten Koornneef voor zijn ondersteuning van de voordracht en de Raad van Bestuur van Wageningen UR voor hun vertrouwen dat geresulteerd heeft in deze benoeming. Collega's binnen en buiten de LU zijn er te veel om op te noemen. Ik hoop dat we nog lang in de

gelegenheid zullen zijn om deze universiteit te blijven maken tot de unieke instelling in Nederland en in de wereld die het is.
De Embryogenesegroep or Embryogenesis group consists of a widely divergent and continuously changing collective of very different and temperamental people to whom I owe a large part of the successes we had. I apologize to them for the fact that it is only myself that has become a professor. I feel that all of you have become one today.
Ingrid, een betere steun, toeverlaat en vriendin kan niemand zich wensen. Dank zij jou, Nora en Peter heeft mijn leven glans.

Ik heb gezegd.

Referenties

1 Drews GN, Lee D, Christensen CA (1998) Genetic analysis of female gametophyte development and function. Plant Cell 10:5-17

2 Laux T, Jürgens G (1997) Embryogenesis: A new start in life. Plant Cell 9:989-1000

3 Mayer U, Jürgens G (1998) Pattern formation in plant embryogenesis: a reassessment. Sem Cell Dev Biol 9:187-193

4 Long, J.A., Moan, E.I., Medford, J.I. and Barton, M.K. (1996) A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the STM gene of Arabidopsis. Nature 379, 66-69.

5 Mayer, K.F.X, Schoof, H., Haecker, A., Lenhard, M., Jürgens, G. and Laux, T. (1998). Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the Arabidopsis shoot meristem. Cell 95, 805-815.

6 Moussian B, Schoof H, Haecker A, Jürgens G, Laux T (1998) Role of the ZWILLE gene in the regulation of central shoot meristem cell fate during Arabidopsis embryogenesis. EMBO J 17:1799-1809

7 Clark SE, Williams RW, Meyerowitz EM (1997) The CLAVATA1 gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in Arabidopsis. Cell 89:575-585

8 Steinmann, T., Geldner, N., Grebe, M., Mangold, S., Jackson, C.L., Paris, S., Gälweiler, L., Palme, K., Jürgens, G. (1999) Arabidopsis GNOM protein is an ARF GEF involved in coordinated polar localisation of auxin efflux carrier PIN1 (submitted)

9 Vroemen CW, Aarts N, In der Rieden PMJ, Van Kammen A, De Vries SC (1998) Identification of genes expressed during Arabidopsis thaliana embryo genesis using enhancer trap and gene trap Ds-transposons. In: Lo Schiavo F, Last RL, Morelli G, Raikhel NV (eds) Cellular integration of signalling pathways in plant development. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp 207-232
10 Reinert, J. (1959) Über die Kontrolle der Morphogenese und die Induktion von Adventivembryonen in Gewebekulturen aus Karotten. Planta 53, 318-333.
11 Backs-Hüsemann, D., Reinert, J. (1970) Embryobildung durch isolierte Einzelzellen aus Gewebeculturen von Daucus carota. Protoplasma 70, 49-60
12 Schmidt EDL, Guzzo F, Toonen MAJ, de Vries SC (1997) A leucin-rich repeat containing receptor-like kinase marks somatic plant cells competent to form embryos. Development 124:2049-2062
13 Spangenberg, G., Koop, H.-U., Schweiger, H.-G. (1985) Different types of protoplasts from Brassica napus L.: Analysis of conditioning effects at the single cell level. Eur. J. Cell. Biol. 39, 41-45
14 De Jong, A.J., Cordewener, J., Loschiavo, F., Terzi, M., Vandekerckhove, J., Van Kammen, A. and De Vries, S.C. (1992) A carrot somatic embryo mutant is rescued by chitinase. Plant Cell 4, 425-433.
15 Van Hengel, A.J., Guzzo, F., Van Kammen, A. and De Vries, S.C. (1998) Expression pattern of the carrot EP3 endochitinase genes in suspension cultures and in developing seeds. Plant Physiol. 117, 43-53.

16 Mordhorst AP, Voerman KJ, Hartog MV, Meijer EA, van Went J, Koornneef M, de Vries SC (1998) Somatic embryogenesis in Arabidopsis thaliana is facilitated by mutations in genes repressing meristematic cell divisions. Genetics 149:549-563
17 Koltunow, A.M. (1993) Apomixis - Embryo Sacs and Embryos Formed Without Meiosis or Fertilization in Ovules. Plant Cell 5, 1425-1437.
18 www.cmgm.stanford.edu/pbrown
19 www.e-cell.org en www.nrcam.uchc.edu
20 Shapiro, L. (1999) Exploring the systems of life, Science 284, 80-83.
21 Rampjaar. Piet Borst. NRC, 30 jan. 1999.
22 Universiteit heeft geen markt. Kasja Weenink en Elsbeth Brouwer. De Volkskrant, 22 september 1998.
23 Concurrentiepositie van bedrijven is verslechterd. Verslaggeving. De Volkskrant, 19 mei 1999.
24 Broerstraat 5, Alumniblad RU Groningen, maart 1999