

PLANTENVEREDELING, EEN VAK APART

Rede

**op 30 september 1982
in de Aula van de Landbouwhogeschool
gehouden door**

**Prof.Dr.Ir. J. Sneepe
bij zijn afscheid als hoogleraar
in de Plantenveredeling
aan de Landbouwhogeschool**

PLANTENVEREDELING, EEN VAK APART

Inleiding

Ongeveer 100 jaar geleden kreeg de plantenveredeling in Nederland gestalte. Er werd aanvankelijk voornamelijk in de zelfbevruchtende granen en in de suikerbieten veredeld. De aardappelveredeling kwam iets later. Grassen en groenvoeders en de tuinbouwgewassen kregen hun grote ont-plooiing pas na de Tweede Wereldoorlog.

Het onderzoek werd ook 100 jaar geleden al bedreven en wel aan de Rijks Hoogere Land-, Tuin- en Boschbouwschool. De naam van Luitje Broekema zij hier genoemd. Dat onderzoek kreeg in 1912 met de op-richting van het Instituut voor Veredeling van Landbouwgewassen, be-ter bekend als Instituut voor Plantenveredeling (I.V.P.), vaste voet. Het onderwijs in de Plantenveredeling kreeg in 1923 een eigen leerstoel. Een gunstige situatie.

De overheid heeft het onderzoek verder nog krachtig bevorderd door de stichting van het Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen (I.V.T) in 1943 en de Stichting voor Plantenveredeling (S.V.P.) in 1948. Daarnaast het Instituut voor Rassenonderzoek van landbouwgewassen (thans RIVRO) in 1942.

Voor wat de keuring betreft werd in 1932 de Nederlandse Algemene keuringsdienst opgericht. De tuinbouwkeuringsdiensten zijn van wat latere datum.

De kweekbedrijven kregen een belangrijke stimulans door de erkenning van het kwekersrecht in 1941.

En zo werd de plantenveredeling, mede door de nauwe samenwerking tussen alle genoemde geledingen, een vak apart, dat gemeten naar het aantal gekweekte rassen en de afzet van zaaizaad en pootgoed, uittorent boven een land van geringe omvang.

Verwachting en werkelijkheid

De plantenveredeling is in sterke mate een synthetiserend vak. Het moet van velerlei basiswetenschappen delen opsporen en op bruikbaarheid toetsen. Het moet al die delen bijschaven, bijstellen, in elkaar passen en

het geheel bruikbaar maken voor toepassing.

Dat niet alles van een leien dakje is gegaan, zal geen verwondering wekken. Naast de vele vruchtbare impulsen, die de plantenveredeling in haar ontwikkeling kreeg uit andere vakgebieden zoals de genetica, de plantenziektkunde, de fysiologie, de teeltwetenschappen en nog vele andere, zijn er ook stukken aangereikt, ja soms zelfs opgedrongen, die niet hebben voldaan aan de hoge verwachtingen, die de aanreikers ervan koesterden. Weer andere stukken (methoden) hebben zeer veel tijd en inspanning gekost alvorens zij bruikbaar waren gemaakt om te functioneren. Enkele voorbeelden hiervan mogen als illustratie en lering dienen:

a. Toen p.m. 1700 de kennis over de sexualiteit bij planten weer op een behoorlijk peil was gekomen heeft de wetenschappelijke wereld deze kennis in de eerste plaats toegepast op soort- en geslachtskruisingen (Fairchild, Koelreuter, Linnaeus, Haartman, en vele anderen). Zij maakten vele tientallen, waarschijnlijk zelfs honderdtallen, soort- en geslachtskruisingen al twee eeuwen voor de eerste protoplastenfusie werd gerealiseerd. Zij waren toen al bezig met recombineren en genetisch manipuleren. Kennis werd opgedaan over de grenzen van de kruisbaarheid, over het optreden van steriliteit bij bastaarden van ouders, die taxonomisch ver van elkaar stonden en over de bastaardgroeikracht (Koelreuter, 1766).

Voor de sierteelt is hiermee een uitbreiding van het assortiment bereikt, voor de verbetering van de voedsel- en voedergewassen heeft het veel minder opgeleverd. We mogen zelfs aannemen, dat de overdreven belangstelling voor de soort- en geslachtskruisingen de aandacht van de kruisingen binnen de soort heeft afgeleid. De intra-soortkruising was meestal minder spectaculair, maar voor de plantenveredeling veel belangrijker. Deze kruisingen kwamen pas tegen 1800 op gang (o.a. door Knight, zie Roberts, 1929) en ontplooiden zich pas ten volle in de loop van de 19e eeuw. De omvang van de soort- en geslachtskruisingen werd evenwel maar zeer geleidelijk teruggebracht tot de juiste proporties.

b. In de tweede helft van de 19e eeuw werd het doelbewust kruisen in de graanveredeling reeds veel toegepast en het leidde tot goede resultaten. De kruisingspopulatie werd beselecteerd met lijnselectie. Henry de Vilmorin kreeg zijn Datteltarwe, Luitje Broekema zijn Wilhelminatarwe en ook de Mansholts werkten met kruisingen en lijnselectie. In de aardappelveredeling vóór 1900 kruiste Geert Veenhuizen met opvallend veel succes.

Het is daarom onbegrijpelijk dat Hugo de Vries, een van de herontdekkers van de wetten van Mendel, in 1907 in het Engels en vervolgens in het Nederlands een boek liet verschijnen, getiteld: 'Het veredelen van kultuurplanten' (1908), waarin hij zich fel keert tegen het kruisen bij granen en het langer dan in één generatie selecteren. Deze en ook andere stellingen bewijzen, dat De Vries, ook in het licht van die tijd gezien, niet veel van de plantenveredeling had begrepen. Toch wilde hij de veredelaars beleren. De plantenveredeling verzette zich, ook in publicaties, tegen de opvattingen van De Vries, destijds een man van groot gezag. Hiermede werd bewezen, dat de plantenveredeling een zelfstandig vak was geworden en in staat om wat het van buiten opgedrongen kreeg, naar waarde te schatten.

c. Toen in 1937 de werking van colchicine op planten bekend werd, ontstond er min of meer een euforie. Velen vonden dat de plantenveredeling nu maar snel met dit wondermiddel wonderplanten moest gaan kweken. Men verkocht de huid al voor de beer geschoten was. De populaire pers ging er zich mee bemoeien en joeg het vuurtje nog verder aan. Wellensiek was één van de eersten die het colchicine-onderzoek ter hand nam. Tien jaar later (1947) schreef hij: 'Geen wonder dat van de kunstmatig verwekte polyploïden hoge verwachtingen werden gekoesterd. Deze werden echter niet verwezenlijkt en na een periode van geweldig enthousiasme omtrent de magische werking van colchicine, ontstond een gevoel van diepe teleurstelling'. De auteur voegt daar aan toe: 'Dat is echter niet gerechtvaardigd'.

Inderdaad heeft de colchicine nuttige diensten kunnen bewijzen bij een aantal siergewassen en bij het maken van allopolyploïden. Geïnduceerde autopolyploïde rassen verschenen echter pas in 1955 op de Rassenlijst voor landbouwgewassen. Dus ruim 15 jaar later. De groep van gewassen

met autoployploide rassen is buiten de sierteelt beperkt gebleven tot de kruisbevruchters, die om vegetatieve delen worden geteeld: bieten, stoppelknollen, raai-grassen, klavers en radijs.

De uiteindelijke plaats van de colchicine staat daarom in geen verhouding tot de hooggespannen verwachtingen, die er in de beginfase van werden gekoesterd en die men ook meende a priori te moeten verkon-digen.

d. Eerder nog dan de genoommutatie met behulp van colchicine was de mutatie op chromosoom- en genniveau door straling object van onder-zoek geworden.

De tijd omstreeks 1926/1927 kan worden beschouwd als uitgangspunt voor de wetenschappelijk verantwoorde, door straling geïnduceerde muta-ties. Eén van de eersten, die op de basisleggende proeven van Muller aansloot met onderzoek bij planten (gerst en mais) was L.J. Stadler.

In en na de Tweede Wereldoorlog kwamen ook de chemische mutagen-tia naar voren. En in de vijftiger jaren leek het wel of maar weinigen zich de relativerende woorden van L.J. Stadler herinnerden, die hij bij zijn verslag van vierjarige proefnemingen in 1930 had geschreven: 'The practical value of induced mutation in the improvement of crop plants has been much overrated, at least as regards immediate application'. En weer verkocht men de huid voor de beer geschoten was.

Bij de vegetatief vermeerderde sierteeltgewassen heeft de geïnduceerde mutatie vaste voet gekregen en zijn en worden vaak nieuwe rassen langs mutagene weg gekweekt. Op de Nederlandse Rassenlijst voor landbouw-gewassen noch op die voor groentegewassen staat evenwel ook maar één ras dat na mutatie-inductie is ontstaan.

Simmonds (1979) zegt over de inductie van mutaties: '. . . the tech-nique has simply taken its place as one more addition to the plant breeder's repertoire, occasionally very useful, but usually irrelevant ..'.

Hij trekt twee behartenswaardige lessen uit een dergelijke situatie:

1. Het is noodzakelijk dat met beperkte, duidelijke en biologisch ver-antwoorde onderwerpen wordt begonnen.
2. Het verkrijgen van een mutant is één ding, maar het uitselcteren van de gunstige genotypen en het tot een gebruiksklaar ras maken

4

vraagt meestal net zoveel inspanning als een klassiek veredelingsprogramma.

e. Mitochondriëncomplementatie

Na 1966 laaide een strovuurtje op rond de publicaties van McDaniel en Sarkissian (1966) over de mogelijkheid uit mengsels van geïsoleerde mitochondriën van potentiële ouderplanten hun combinatiegeschiktheid voor een hybride ras op het laboratorium te voorspellen. Deze methode zou een grote hoeveelheid werk kunnen besparen. Dus iedereen spitste de oren. Maar het leek er op, dat men zijn lesjes had geleerd. Slechts op een relatief beperkt aantal plaatsen werd nagegaan in hoeverre de theorie met de werkelijkheid klopte en of de in vitro bestudeerde mitochondriën een werkelijk beeld gaven van wat zich in vivo afspeelde. Omdat bij de meeste gewassen de mitochondriën niet met de vaderlijke gameet meegaan rezen a priori al enige vragen.

Binnen tien jaar na de eerste publicatie, was duidelijk geworden, dat mitochondriëncomplementatie in vitro niet bruikbaar is voor het bepalen van specifieke combinatiegeschiktheid. In Nederland hebben Van Gelder & Miedema (1975) goed werk gedaan en de veredeling behoed voor nodeloze uitgaven.

f. Hybride rassen

Kort na de ongelukkige publicatie van Hugo de Vries kreeg de plantenveredeling een gunstige impuls door de onderzoeken over bastaardgroeikracht van East (geciteerd door Shull, 1952) en Shull (1909).

Reeds Koelreuter (1766) had in niet mis te verstane woorden de bastaardgroeikracht beschreven en ook de mogelijke betekenis ervan voor de praktijk aangeduid. Beal (1880) had reeds de vergrote groeikracht van de nakomelingschap van een kruising tussen twee populaties van mais beschreven. Shull (1909) gaf echter de weg aan om eerst inteeltlijnen te maken en daarmee vervolgens enkelvoudige kruisingen. Maar zaadteelt op ingeteelde lijnen, die kennelijk een grote inteeltdepressie vertoonden, was moeilijk. Bovendien moesten lijnen worden gevonden, die goed met elkaar combineerden.

In 1918 kwam D.F. Jones (geciteerd door Shull, 1952) met het idee van de vierwegkruising (double cross). Hoewel dit concept, ook achter-

af gezien, volkomen juist was, duurde het evenwel nog tot 1940 alvorens de helft van het Amerikaanse maisareaal met hybriden werd be-teeld. Het vierweg-schema moest nl. nog worden ingevuld met vier in-teeltlijnen, die met elkaar een goed ras konden voortbrengen, dat aan de vele eisen van de boer voldeed. En dat kostte veel tijd.

Bij de ontwikkeling van hybride rassen hebben de cytoplasmatische mannelijke steriliteit en de zelf-incompatibiliteit een grote rol gespeeld. In een aantal gevallen is één van deze vormen van voorkoming van zelfbevruchting zelfs een *conditio sine qua non*. Ook hier heeft het traject tussen de ontdekking en het aan de markt brengen van hiermee gemaakte rassen meer tijd gekost dan theoretisch was voorzien.

f.1 Mannelijke steriliteit

Bij uien werd de cytoplasmatische mannelijke steriliteit (cms) reeds in 1925 ontdekt. In 1943 publiceerden Jones & Clarke een goed schema voor de produktie van hybride rassen, waarbij de moederstam via zaad in stand werd gehouden. Het duurde evenwel nog 10 jaar alvorens er in enige omvang hybride rassen met acceptabele eigenschappen op de Amerikaanse markt kwamen (Duvick, 1959).

Bij maïs heeft Rhoades in 1933 reeds cms beschreven. In 1944 werd het later veel gebruikte T-plasma ontdekt. Maar het heeft tot een eind in de vijftiger jaren geduurd voordat hybride rassen, op deze basis ge-kweekt, in het verkeer kwamen.

De cms moest eerst worden ingekweekt in de bestaande, goede inteelt-lijnen en er moest gezocht worden naar goedwerkende fertiliteitsher-stellende genen, die vervolgens in de bestaande vaderlijnen moesten worden ingekweekt.

Bij bieten ontdekte Owen in 1942 cms (Duvick, 1959). In de VS, waar diploïde bieten werden gebruikt, was in 1958 een kwart van het areaal met hybride rassen bezet (Duvick, 1959). In Nederland, waar triploïde bieten gevraagd werden, duurde het tot omstreeks 1960 voor de eerste rassen, gekweekt met behulp van cms op de markt kwamen.

f.2 Zelfincompatibiliteit

Reeds in 1932 beschreef Pearson uitgebreid een veredelingsmethode,

waarbij de zelfincompatibiliteit gebruikt zou kunnen worden bij de produktie van hybride rassen in koolgewassen. Pas omstreeks 1950 kwamen de eerste (Japanse) hybride rassen proefsgewijs in omloop. In Nederland kwamen de koolhybriden in de zestiger jaren goed op gang. De kwaliteit is thans zeer goed. Een hybride ras kweken is vaak niet zo moeilijk, maar een hybride ras, dat zoveel goede eigenschappen heeft, dat een boer of een tuinder het graag wil telen, vergt grote inspanning.

Met het voorgaande is bedoeld twee veel voorkomende situaties in de plantenveredeling te adstrueren:

1. De vaak onevenredige en onevenwichtige verwachtingen die rond nieuwe ontwikkelingen worden gewekt. Verwachtingen, die nogal eens van buitenaf worden gevoed en waarbij de populaire pers sedert enkele decennia zijn partijtje meeblaast.
2. De lange tijd, die nodig is om ook een rake nieuwe vinding te doen uitmonden in rassen, die beter zijn dan de bestaande. En dat is het wezenlijke doel van de plantenveredeling. Het is een zware opgave, want boer en tuinder eisen een veelheid van eigenschappen, die vaak niet alle positief gecorreleerd zijn.

Het kan zijn nut hebben van een historisch perspectief uit het heden te beschouwen en van daaruit de toekomst te bevroeden.

Eén van de onderwerpen, die momenteel veel belangstelling trekt van plantenveredelaars, genetici, moleculair-biologen en biochemici, is de biotechnologie van hogere planten.

Plantenbiotechnologie

Dit begrip is niet duidelijk omschreven. Zowel over 'planten' als over 'biotechnologie' bestaat verschil in opvatting. In het volgende zal onder 'planten' worden verstaan de zaadplanten, hoewel dan enige in de tuinbouw geteelde gewassen, zoals varens en champignons, er buiten vallen. De plantenbiotechnologie is in tenminste twee onderdelen te splitsen:

1. Het industriële gebruik van plantecellen voor de produktie van farmaceutica, reuk- en smaakstoffen, enzymen, enz.
2. Genetische manipulatie met als einddoel een volledig gestructureerde plant met gewijzigde genetische samenstelling.

Voor plantenveredelaars is het tweede onderdeel het interessantst. Maar helaas is het woord genetische manipulatie ook al niet erg gelukkig gekozen. Genetische manipulaties zijn al eeuwen oud. Door selectie wordt nl. de genetische samenstelling van een populatie veranderd. En die veranderingen werden nog veel ingrijpender toen men doelbewust ging kruisen (18e eeuw) en later ook nog mutaties ging induceren. Met een variant op De Groot, Van Kammen en Sybenga (1982) zou genetische manipulatie, zoals die in de moderne zin wordt bedoeld, als volgt omschreven kunnen worden:

De fusie van somatische cellen (protoplasten), de overdracht van geïsoleerde genomen of delen ervan tot aan een enkel gen toe, de overbrenging van extra-nucleair DNA of delen ervan en wel naar recipiënte cellen, met het doel genetische transformatie van somatische cellen tot stand te brengen, zonder tussenkomst van de generatieve fase.

Anderen rekenen bij de plantenbiotechnologie ook de inductie van mutaties, toegepast bij cellen. Nog weer anderen willen er ook inducties van mutaties op weefselniveau bij rekenen. En enkelen willen er zelfs antherencultures en de vermeerdering in vitro bij onderbrengen (weefselkweek). Dit gaat veel te ver. Het zou inhouden dat menige tuinbaas voortaan plantenbiotechnoloog zou heten. In principe doen zij nl. vaak hetzelfde als een moderne weefselkweker, maar dan niet in vitro.

Celcultures en regeneratie

Selectie van volwassen planten is een tijdrovende procedure, die populatie-genetisch maar zelden optimaal zal zijn vanwege de noodzakelijke beperktheid van de aantallen, die geteeld kunnen worden. Daarom is er steeds belangstelling voor geweest om al aan kiemplanten zoveel mogelijk eigenschappen vast te stellen. Dit is maar voor een klein deel van de totaal te beselecteren eigenschappen mogelijk gebleken. Eigenschappen als strobtevigheid, afrijpingsziekten, vruchtvorm en -kwaliteit, korreluitval, produktiviteit en vele andere kunnen principieel niet aan kiemplan-

ten worden bepaald. Zelfs bij vele resistenties blijken er verschillen te bestaan tussen de kiemplant en de volwassen plant. Lang niet alle genen komen in alle stadia tot expressie.

Bij micro-organismen kan men met enorme aantallen op een zeer beperkte oppervlakte in vitro selecteren. Daarom kan het op het eerste gezicht aantrekkelijk lijken ook plantecellen in vitro te gaan beselecteren.

Daarbij moet worden aangetekend:

- a. Selectie in plantecelcultures heeft alleen kans op succes als er gemuteerde cellen aanwezig zijn, hetzij spontane, die eventueel reeds in het weefsel van herkomst aanwezig geweest kunnen zijn, dan wel geïnduceerde mutanten.
- b. Een plantecel is geen micro-organisme, maar heeft een andersoortige bouw en is een onderdeel van een gedifferentieerd complex geheel dat de plant nu eenmaal is. Een protoplast reageert anders dan een cel en een cel weer anders dan een weefsel en dit weer anders dan een gedifferentieerde plant.
- c. Eventuele selectie zal vrijwel steeds chemisch of fysisch moeten gebeuren.
- d. Een aantal voor de veredeling van essentiël belang zijnde eigenschappen zal in principe niet in cel- of protoplastencultures kunnen worden beselecteerd. Wat voor kiemplanten geldt, geldt hier nog in versterkte mate.

Voor sommige in de literatuur genoemde gevallen van succesvolle selectie in celcultures ontbreken tot dusver de waterdichte bewijzen. Het is opvallend dat zelfs bij de veel gebruikte *Daucus carota* nog maar weinig sluitend genetisch onderzoek aan de uit celcultures gewonnen planten is gevolgd (Sung & Dudits, 1981).

- e. Lang niet alle genen komen in een cel tot uitdrukking. Vele genen komen pas in latere fasen van de ontwikkeling van de plant tot expressie. Het omgekeerde geldt ook: in de cel kunnen genen tot expressie komen, waarvan het effect in de eruit verkregen plant niet meer aantoonbaar is.

Los van het voorgaande zijn aan het selecteren in cel(protooplast-)cultures nog enige andersoortige beperkingen verbonden:

1. Vele belangrijke gewassen laten zich nog niet regenereren. Die vallen daardoor bij deze procedure af.
2. Als regeneratie lukt, brengt dat vaak een verscheidenheid aan types voort. Krijgt men op plantniveau wel terug wat men meende geselecteerd te hebben? Shepard et al. (1980), die met aardappelprotoplasten werken, denken aan bestaande genotypische variatie van de cellen binnen een plant (in hun geval binnen mesophyl-weefsel). Wenzel et al. (1979) kregen bij dihaploide aardappelen maar weinig somaklonale variatie. Die werd echter vergroot wanneer de callusfase in het regeneratieproces werd verlengd. Thomas et al. (1982) schrijven de variatie eveneens toe aan gebeurtenissen in het callusstadium. Zij kregen nl. uit callus, afkomstig uit één cel, diverse typen van planten.

Van Harten et al. (1981) kregen uit callus, afkomstig van blad- en bloemstelen van aardappelen in meer dan de helft van de gevallen afwijkende typen t.o.v. de uitgangsplant. Met deze methode werd dus hetzelfde bereikt, maar met veel minder inspanning dan met de procedure weefsel-protoplast-cel → callus-plant. Hierop wijzen ook Thomas et al. (1981).

De variatie, die na regeneratie optreedt, wordt voor een niet onbelangrijk deel veroorzaakt door ploïdie-veranderingen, inclusief aneuploidie, chromosoombreuken, e.d., voor een deel door kleinere genotypische verschillen.

Zou het zoeken naar waardevolle knopmutanten in moderne vorm herleven?

Protoplastenfusie

De fusie van lichaamcellen of somatische hybridisatie staat tegenover de fusie van geslachtscellen, dat is de bekende hybridisatie via kruisingen. Deze techniek kan leiden tot:

- a. soort- en geslachtshybriden, zelfs als de ouders zo sterk verschillen, dat hybridisatie via normale kruisingen niet mogelijk is;
- b. cybriden, dat zijn cellen waarbij de kern in een andersoortig cytoplasma is ingebracht.

Ad a. In de sierteelt zijn reeds vele soort- en geslachtshybriden bekend. Soms spontaan ontstaan, vaak via kruisingen verkregen. Wellicht kan protoplastenfusie nieuwe mogelijkheden scheppen met verwijderde kruisingen, die tot dusver nog niet zijn geslaagd of onmogelijk zijn door steriliteit of strikte apomixie van de ouders. Door de bijzondere appreciatienormen bij de siergewassen liggen hier kansen voor zinvol werk, vooral bij de vegetatief vermeerderde groepen. Mitotische stabiliteit is echter een voorwaarde.

Bij de land-, tuin- en bosbouwgewassen zijn eveneens vele soort- en geslachtshybriden gemaakt met diverse bedoelingen:

Soms om nieuwe gewassen te verkrijgen, zoals *Triticale*, *Raphano-brassica*, *Festulolium*, Gekruist raaigras.

Soms voor hersynthese van natuurlijke allopolyploïden, zoals in het geslacht *Brassica*.

Soms voor het toevoegen van bepaalde eigenschappen als resistenties: vele van onze aardappelrassen bevatten genetisch materiaal uit andere *Solanum*-soorten. Door selectie in de terugkruisingsgeneraties op meer dan één eigenschap, is naast resistentie tevens vaak een verbeterde opbrengst verkregen.

Soms ook om gebruik te maken van de op de kruising volgende mitotische instabiliteit, die tot haploïden kan leiden, zoals bij de kruising van *Hordeum vulgare* en *Triticum aestivum* met *H. bulbosum*.

In gevallen, waar een gewenste soortkruising ter verkrijging van b.v. resistentie langs generatieve weg niet mogelijk blijkt, kan aan protoplastenfusie worden gedacht (o.a. in komkommerachtigen). Daarbij moet dan wel aan een aantal voorwaarden worden voldaan:

1. karyologische stabiliteit van het fusieprodukt (hybride cel)
2. de hybride cel moet te regenereren zijn tot een volwaardige plant
3. deze moet tenminste vrouwelijk fertiel zijn
4. het gewenste gen uit het vreemde genoom moet worden overgedragen aan het genoom van het cultuurgewas.

Voor dit laatste is de fertiliteit belangrijk opdat in een meiose recombinatie tussen homeologe chromosomen mogelijk is.

Een voordeel van de protoplastenfusie is de allopolyploidie die door samenvoeging van de genomen ontstaat. Daardoor wordt de steriliteit vaak omzeild. Helaas wordt de overkruising tussen homeologe chromo-

somen daardoor belemmerd.

Problemen bij de protoplastenfusie zijn:

- Bij vele belangrijke gewassen is regeneratie van cel tot plant nog niet mogelijk.
- Selectie van fusieproducten in een celsuspensie is vaak zeer moeilijk of onmogelijk.
- Mitotische en meiotische instabiliteit bij verwijderde soorten en geslachten.
- Een fusie van onverwante soorten zal maar zelden een zinvol eindprodukt opleveren, b.v. de fusie van aardappelen en tomaten, die aardappelen noch tomaten voortbrengt. Misschien kan er bij bepaalde siergewassen iets bruikbaar uitkomen.
- Chromosomen van onverwante soorten, zullen, ook wanneer zij al in één cel zijn samengebracht, vaak geen genen uitwisselen.

Conclusie:

In de gevallen, waarin het nog niet is gelukt langs generatieve weg vreemde genomen bij elkaar te brengen, is protoplastenfusie aantrekkelijk. Regeneratiemogelijkheid is echter een absolute voorwaarde. Ook protoplastenfusie is gebonden aan grenzen van verwantschap tussen de ouders, wil er een zinvol en hanteerbaar produkt uit voortkomen.

Ad b. Cybridisatie

Bij de samenbrenging van twee vreemde genomen door kruising, treedt nogal eens eliminatie op van één van de genomen. Daardoor blijft één genoom over en dus een haploide. De plantenveredeling gebruikt inderdaad al vele jaren deze techniek voor het produceren van haploiden. In principe is het ook mogelijk langs deze weg een kern in vreemd cytoplasma te bedden. De herhaalde terugkruising, waarbij steeds de planten met het gewenste plasma als moeder worden gebruikt, wordt algemeen toegepast. Zo is uit de kruising *Triticum timopheevi* x *T. aestivum* een cms-tarwe verkregen met het cytoplasma van *T. timopheevi*.

Bij protoplastenfusies vindt ook wel kerneliminatie plaats, waardoor in een deel van de gevallen de kern in een mengsel van beide plasmata komt te liggen. De onbeantwoorde vraag bij overbrenging van cms is, of de werking van de cms veroorzakende organellen dominant dan wel

recessief is en of er tussen de twee groepen organellen een gelijke fitness bestaat. Slaagt men er in de kern alleen in het steriliserende plasma te krijgen, dan behoeft die vraag niet te worden beantwoord.

Conclusie:

Wanneer de cybridisatie in vitro geen al te grote moeilijkheden oplevert, kan zij, wanneer detectie van de gewenste combinatie in een celsuspensie en regeneratie ongestoord mogelijk zijn, een welkome aanvulling van de klassieke werkwijzen vormen voor het verkrijgen van cytoplasmatische mannelijke steriliteit.

DNA overbrenging naar protoplasten

Het is thans in principe mogelijk (en bepaalde technieken worden reeds als routine uitgevoerd) om bij een protoplast DNA in de volgende vormen in te voeren:

- a. celkernen (genomen) (zie ook protoplastenfusie en cybridisatie)
- b. chromosomen
- c. delen van chromosomen
- d. organellen
- e. DNA stukken, ingebouwd in een plasmide (in principe zijn ook andere vectoren mogelijk).

De overbrenging van hele genomen gebeurt reeds eeuwen door kruising. Dit kunnen intra-soortkruisingen zijn, maar ook intersoort- of zelfs intergeslachtskruisingen. Een heel arsenaal van technieken is op dit gebied ontwikkeld. Er hebben ook spontaan heel wat verenigingen van vreemde genomen plaats gevonden. Onze broodtarwe, die drie verschillende genoomparen bezit, is millennia geleden spontaan ontstaan door natuurlijke soortkruisingen. Andere gewassen, die niet identieke genoomparen hebben zijn o.a. haver, koolzaad, tabak, katoen, vele siergewassen.

Bij de overbrenging van chromosomen en chromosoomarmen heeft de tarwe al decennia lang model gestaan. De aneuploïden-technieken van

b.v. Sears, Riley, Law en vele anderen zijn algemeen bekend. Mogelijk kan de genetische manipulatie een uitbreiding en vergemakkelijking van de overbrenging bewerkstelligen.

Het combineren van een kern met vreemde organellen is van belang omdat bepaalde organellen de dragers zijn van cms. De overbrengingsmogelijkheid was tot dusver de herhaalde terugkruising. In een gewas met een korte of gemakkelijk te verkorten generatieduur is dat niet erg tijdrovend. Beperkingen worden wel opgelegd, wanneer de cms uit zeer onverwante soorten of geslachten moet komen. Kruisbaarheid, vrouwelijke fertiliteit van de bastaard e.d. kunnen dan wel moeilijkheden opleveren. Overbrenging van organellen met de nieuwe in vitro technieken zou daarom zeer welkom zijn. Een anticiperende vraag is hoe bij een directe overbrenging de dominantie en concurrentieverhoudingen tussen organellen van uiteenlopende herkomst zich zullen openbaren.

De overbrenging van bepaalde genen naar een andere plant, die overigens zijn genotype zoveel mogelijk moet behouden, gebeurt ook langs de klassieke weg van de herhaalde terugkruising. Verandering van een gen kan ook wel met puntmutatie worden bereikt. De techniek van invoering van een in een plasmide ingebouwd gen zal een belangrijke rol kunnen spelen, vooral nu recentelijk Schell, Van Montagu en medewerkers (geciteerd door Marx, 1982) erin zijn geslaagd het tumorverwekkende deel uit het Ti plasmide van *Agrobacterium tumefaciens* te elimineren. Toch blijft nog een flink aantal barrières te nemen. Vele belangrijke eigenschappen zoals opbrengst, droogte- en koudetolerantie, maar ook vele vormen van duurzame resistentie zijn polygeen bepaald, d.w.z. door vele genen die door het gehele genoom verspreid liggen. Terwijl de DNA transformatie zich vooralsnog zal moeten richten op monogeen bepaalde eigenschappen, zijn voor de plantenveredeling juist de kwantitatieve (polygeen bepaalde) eigenschappen zeer belangrijk. Ook aan de recipiënte zijde wordt, voor het slagen, een aantal voorwaarden gesteld:

Het DNA moet zodanig worden opgenomen, dat het wordt geïntegreerd in de kern en onverminkt door de meiose gaat (bij de vegetatief vermeerderde gewassen is een regelmatige mitose of cytoplasmatische overerving voldoende). Verder moeten van het ingebrachte DNA de boodschappen kunnen worden overgeschreven door het boodschapper RNA,

dat vervolgens het ribosoom tot translatie, d.w.z. tot de produktie van de gewenste eiwitten moet kunnen bewegen. De complicaties zijn nog vele! Die te overwinnen is de moeite waard!

Het onderzoek in Nederland

Het onderzoek kan in hoofdzaak worden verdeeld in:

- a. het zuiver fundamentele onderzoek, dat het inzicht in de moleculaire genetica tracht te verdiepen en in hoofdzaak analytisch-verken-
nend is gericht
- b. het onderzoek, dat uiteindelijk kan uitmonden in technieken, die
toepasbaar zijn voor het verkrijgen van betere rassen en daardoor op
de synthese is gericht.

Bij een nieuwe ontwikkeling ontstaat gauw de lust om op alle fronten mee te doen. Dat zijn voor het onderzoek goede impulsen, maar in een klein land is dat ten enenmale onmogelijk. Wel zal men de nieuwe technieken in huis moeten halen, maar verder zal er een keuze gemaakt moeten worden uit de onderwerpen die bij de aanwezige infrastructuur passen. Daarbij zal men zich goed op de hoogte moeten blijven stellen van wat er op de wereld gebeurt. Dat ligt de Nederlander overigens wel! De keuze zal overleg tussen het zuiver fundamentele en het meer op toepassing gerichte onderzoek vergen. Gelukkig zijn er in Nederland dergelijke overlegstructuren aanwezig, o.a. ingesteld door de NRLO, ook al wordt daar bij de beleidsbepaling niet altijd uitputtend gebruik van gemaakt.

Ook binnen de LH is een coördinatie van op elkaar aansluitend onderzoek van fundamenteel tot meer op toepassing gericht onderzoek zeer gewenst. Het is daarom verheugend, dat pogingen worden ondernomen om tot werkgroepen op het gebied van de plantenbiotechnologie te geraken.

Van de plantenveredeling uit gezien lijkt het aantrekkelijk in de eerste plaats de onderwerpen te kiezen, die aansluiten bij reeds toegepaste veredelingsmethoden:

1. Onderzoek, transformatie en transplantatie van organellen om meer gewassen toegankelijk te maken voor het kweken van hybriden

via cms.

2. Analyse van de oorzaak van mutaties en epigenetische effecten bij regeneratie van protoplasten om de zuiverheid van geregenereerde planten na te gaan en uit te vinden of het verschijnsel nieuwe mogelijkheden biedt voor de vegetatief vermeerderde siergewassen.
3. Overbrenging van een resistentiegen(en) uit verwijderde soorten of geslachten en de inbouw in het genoom van de recipiënt. Daarbij zal naast inbouw ook onderzocht moeten worden of bij gewenste recessiviteit vervanging van bestaande dominante genen mogelijk is.
4. Verder wegliggend in de tijd is het onderzoek, dat, in samenwerking met de fytopathologie, de analyse maakt van de genexpressie voor resistentie en virulentie, gevolgd door amplificatie via klonering van resistentiegenen en integratie in het genoom van een recipiënt, waar het dan tot expressie moet komen.

Ook al zou een belangrijk deel van de verwachtingen van de nieuwe in-vitro technieken werkelijkheid worden, dan nog zal de zgn. klassieke veredeling ongetwijfeld de basis blijven voor de produktie van verbeterde rassen. De nieuwe techniek zal nooit meer kunnen worden dan één van de wapens in het arsenaal, dat de veredeling tot haar beschikking heeft. Verder zal na een succesvolle in-vitro ingreep altijd nog een groot deel van het klassieke veredelingsprogramma moeten volgen, van selectie tot vermeerdering en introductie toe.

Het staat daarom vast dat die klassieke veredeling onmisbaar blijft en de nodige aandacht moet blijven behouden. Het beleid, dat, met de lessen van het verleden in gedachten, een harmonieuze synthese weet te maken uit het takenpakket van de plantenveredeling, vormt de best denkbare ondersteuning voor het behoud van de vooraanstaande positie van Nederland op rassengebied.

Gevolgen voor de kweekbedrijven

Het moment lijkt nog niet gekomen, dat de kweekbedrijven zelf onderzoek gaan verrichten op het gebied van de subcellulaire technieken. Het lijkt veeleer voor de hand te liggen dat eerst het onderzoek op Universiteiten en Instituten uit de in hoofdzaak analytisch-verkennende fase

komt en overgaat naar de synthetische fase, waarbij dan zal blijken wat voor de veredeling perspectieven biedt en wat niet. Dat onderzoek zal een ingang moeten hebben aan de fundamentele kant en een uitgang met het maken van aanpassingsvormen voor praktische toepassingen. Voor een efficiënt verloop is het nodig dat hiertoe alle krachten worden gebundeld en dat er een vruchtbare communicatie en samenwerking komt tussen alle specialiteiten en alle niveaus. Dat is een betere koers dan het binnenhalen van op commerciële leest geschoeide buitenlandse concurrenten van onze kweekbedrijven.

De activiteiten van commerciële researchbedrijven, vooral Amerikaans, richten zich ook op het aanvragen van octrooirechten op veredelingsmethodieken. Deze ontwikkeling staat geheel naast dan wel haaks op het kwekersrecht, dat de gekweekte nieuwe rassen beschermt.

Nu is het niet de eerste keer in de geschiedenis dat getracht wordt octrooirecht op een verdelingsmethode te verkrijgen. De bekende D.F. Jones van de maïs double cross heeft ooit eens een patent gehad op het gebruik van mannelijke steriliteit bij het maken van maïshybriden. En Rabbethge & Giesecke (Klein Wanzleben) hebben omstreeks 1950 een patent gekregen op het kweken van triploïde suikerbieten. Beide patenten hebben in hun tijd nogal wat stof doen opwaaien. Zo schreef mijn voorganger, wijlen prof.dr. J.C. Dorst, in de eerste band van *Euphytica* (1952) een artikel tegen laatstgenoemd patent onder de titel: 'A questionable novum'. Hij wijst er in het artikel op dat in de plantenveredeling het nieuw gemaakte produkt, het ras, moet worden beschermd en niet de methode. Dat laatste is schadelijk voor het algemeen belang.

De kwekers moeten iedere methode kunnen toepassen om de landbouw te verzekeren van een aanhoudende stroom van verbeterde rassen. Toepassing van een methode garandeert in de plantenveredeling nog niet het ontstaan van een succesrijk ras. Daar komt heel wat meer bij kijken. Gelukkig is van beide octrooien niet veel terecht gekomen. Het is evenwel noodzakelijk waakzaam te blijven, want thans worden er weer octrooi-rechten verleend en nog wel op verdelingsmethoden, die in wezen zelfs helemaal niet nieuw zijn.

Zo is in de VS recentelijk een octrooi verleend aan een commercieel researchbedrijf op een verdelingsmethode in *Brassica*'s, die berust op

het vegetatief instandhouden van niet ingeteelde kruisingsouders. Die instandhouding gebeurt dan met weefselkweek in-vitro. Maar het principe en de methode met vegetatieve instandhouding, zij het dan niet in-vitro, is al bijna zestig jaar oud.

Het betrokken bedrijf heeft al aangekondigd dat: '(it) will aggressively defend its patent position' (Seedsman's Digest, July, 1982).

Dit soort bedrijven is ook bij het Europese Octrooi Bureau actief. Hier ligt een gevaar voor de kweekbedrijven.

De Rijksoctrooiwet en het Europese Octrooiverdrag sluiten in vrijwel gelijkkluidende bewoordingen de bescherming van planten- en dierenrassen via een octrooi uit, evenals werkwijzen van wezenlijk biologische aard voor de voortbrenging van planten of dieren. Maar niet uitgesloten worden de microbiologische werkwijzen en de hierdoor verkregen voortbrengselen. De vraag moet nu beantwoord worden of de nieuwe technieken met plantecellen tot de microbiologische werkwijzen moeten worden gerekend of niet. Zal men ook genen afzonderlijk gaan beschermen? Zeker een zaak om goed in de gaten te houden!

Mogelijke activiteiten van de kweekbedrijven op het gebied van de in-vitro technieken moeten in de eerste plaats worden gezocht in de weefselcultuur, met inbegrip van de meristeeamcultuur. Sommige bedrijven verzorgen die met eigen faciliteiten, b.v. voor de instandhouding en vermeerdering van hoogwaardig uitgangsmateriaal, andere maken gebruik van stichtingen of particuliere werkplaatsen. In totaal zijn er in Nederland reeds een twintigtal plaatsen waar weefselkweek wordt toegepast. Wanneer het fundamentele en op toepassing gerichte onderzoek op cellulair en subcellulair niveau verder is gevorderd en is gebleken wat voor de veredeling bruikbaar is, dan kan een kweekbedrijf met eigen faciliteiten de volgende stap, nl. die naar het cellulaire onderzoek, min of meer geleidelijk nemen.

Het onderwijs

Tenslotte nog een zeer belangrijk onderdeel: het onderwijs.

Het Hoger onderwijs in de Plantenveredeling in Nederland onderscheidt zich van dat in de meeste andere landen, doordat het niet als ondergeschikt deel van een ander vak zoals plantenteelt of erfelijkheidsleer wordt gegeven. En het onderscheidt zich van dat in alle landen, doordat het gedurende de gehele studie wordt gegeven: nu van de KA-fase tot en met de doctoraalfase, straks zelfs van het eerste jaar in de propaedeutische af. De Wageningse situatie geeft de student gelegenheid zich een beter referentiekader op te bouwen en ook zijn keuzevakken met meer kennis van zaken te kiezen.

Een derde verschil met andere landen vormen de aard en de omvang van excursies en practica en een verplichte praktijktijd voor het laatste deel van de studie.

Het is verheugend te bemerken dat bij de in deze maand begonnen tweefasen-structuur die principes zoveel mogelijk zijn gerespecteerd. Vastgesteld moet echter worden dat de eerste-fase-ingenieurs straks in feite een vierjarig curriculum hebben. Dat zal hun positie op de internationale markt niet versterken. In Nederland zullen zij de wetenschapstoepassers worden.

De studenten, die naar de tweede fase kunnen doorstromen zullen ondanks hun grotere kennis, zeker van het onderzoek, helaas geen onderscheidende titel krijgen en zullen het daardoor op de markt buiten Nederland onnodig moeilijk krijgen. Zij zouden met wat aanvullend onderzoek een eenvoudige doctorstitel moeten kunnen verwerven. Dit is het geval in b.v. Duitsland (Doktor) en Frankrijk (Docteur de troisième cycle). Deze tweedefasers zouden daarmee kunnen voldoen aan de eisen, die vele buitenlandse werkgevers stellen, zoals de internationale veredelingsinstituten. Boven de eenvoudige doctorstitel zal onze huidige titel moeten worden gehandhaafd: Duitse en Franse equivalenten Doktor habil., resp. Docteur ès Sciences.

Het is verheugend, dat aan de Hogere Agrarische Scholen in het laatste decennium de belangstelling voor en het onderwijs in de plantenveredeling is toegenomen. De kweekbedrijven kunnen zodoende een beter

opgeleid middenkader opbouwen. De eerstefasers, die de Landbouwhogeschool straks gaat afleveren (geleidelijk aan beginnend in 1986/1987), zullen de concurrentie van de abiturienten van de Hogere Agrarische Scholen mogelijk gaan voelen. Zij zullen zich moeten onderscheiden door een wetenschappelijk inzicht, een wetenschappelijke attitude, een deugdelijke achtergrondkennis en een uitgebreide training in allerlei technieken, ook de verfijnde, die zojuist zijn besproken.

De doctores 1e en 2e graad (of wat de titel ook moge worden) zullen straks de leidende posities moeten innemen. Zij zullen de wezenlijke inhoud van wat de basiswetenschappen te bieden hebben goed moeten kennen en tevens goed moeten kunnen keuren en kiezen van wat hierbij voor de plantenveredeling bruikbaar is. Zij zullen straks de vooruitgang van het vak moeten dragen.

Het is goed, dat ook in het onderwijs de Plantenveredeling een vak apart is geworden. Daardoor kan de synthese tussen fundamenteel en meer op toepassing en toepasbaarheid gericht onderzoek worden veilig gesteld en in harmonie bloeien.

LITERATUUR

- Beal, W.J., 1880. Indian corn. Michigan State Board Agric., 19th Ann. Rep.: 279-289.
- Dorst, J.C., 1952. A questionable novum. *Euphytica* 1:81-83.
- Duvick, D.N., 1959. The use of cytoplasmic male sterility in hybrid seed production. *Economic Botany* 13:167-195.
- Gelder, W.M.J. van & P. Miedema, 1975. Significance of mitochondrial complementation for plant breeding: Negative evidence from a study on maize. *Euphytica* 24:421-429.
- Groot, B. de, A. van Kammen & J. Sybenga, 1982. Genetische manipulatie in dienst van de landbouw. Nat. Raad Landbouwk. Onderzoek, Studierapport 14a:1-63.
- Harten, A.M., H. Bouter & C. Broertjes, 1981. In vitro adventitious bud techniques for vegetative propagation and mutation breeding of potato (*Solanum tuberosum* L.). II. Significance for mutation breeding. *Euphytica* 30:1-8.
- Jones, H.A. & A.E. Clarke, 1947,. The story of hybrid onions. Yearbook Agric. 1943-1947:320-326.
- Koelreuter, J.G., 1766. Dritte Fortsetzung der vorläufigen Nachricht von einigen das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen und Beobachtungen. In: Ostwald's Klassiker der exakten Wissenschaften, Nr. 41:188-194.
- Marx, J.L., 1982. Ti plasmids as gene carriers. *Science U.S.A.* 216:1305.
- McDaniel, R.G. & I.V. Sarkissian, 1966. Heterosis: Complementation by mitochondria. *Science U.S.A.* 152:1640-1642.
- Pearson, O.H., 1932. Breeding plants of the cabbage group. Agric. Exp. Station Berkely, Bull. 532:22 pp.
- Rhoades, M.M., 1933. The cytoplasmic inheritance of male sterility in *Zea mays*. *J.Genet.* 27:71-93.
- Roberts, H.F., 1929. Plant hybridization before Mendel. Princeton Univ. Press: 374 pp.
- Shepard, J.F., D. Bidney & E. Shakin, 1980. Potato protoplasts in crop improvement. *Science U.S.A.* 208:17-24.

- Shull, G.H., 1909. A pure-line method in corn breeding. *Am. Breeders' Ass.* 5:51-59.
- Shull, G.H., 1952. Beginnings of the heterosis concept. In: Gowen, J.W. (ed.): *Heterosis*, Iowa Sta. Coll. Press: 14-48.
- Simmonds, N.W., 1979. *Principles of crop improvement*. Longman: 408 pp.
- Stadler, L.J., 1930. Some genetic effects of X-rays in plants. *J. Heredity* 21:3-19.
- Sung, Z.R. & D. Dudits, 1981. Carrot somatic cell genetics. In: Panopoulos, N.J. (ed.): *Genetic engineering in the Plant Sciences*. Praeger: 11-37.
- Thomas, E., S.W.J. Bright, J. Franklin, V.A. Lancaster, B.J. Miflin & R. Gibson, 1982. Variation amongst protoplast-derived potato plants (*Solanum tuberosum* cv. Maris Bard). *Theor. Appl. Genet.* 62:65-68.
- Vries, H. de, 1908. *Het veredelen van kultuurplanten*. Tjeenk Willink & Zn.: 350 pp.
- Wellensiek, S.J., 1947. *Grondslagen der algemeene plantenveredeling*. Tjeenk Willink & Zn.: 541 pp.
- Wenzel, G., O. Schieder, T. Przewozny, S.K. Sopory & G. Melchers, 1979. Comparison of single cell culture derived *Solanum tuberosum* L. plants and a model for their application in breeding programs. *Theor. Appl. Genet.* 55:49-55.