

Plantenveredeling

Domesticatie en voedselzekerheid

Prof.Dr.Ir. Evert Jacobsen

18.04.2015 Andijk

www.cisgenesis.com



Overzicht

- Achteruit, Opzij en Vooruit kijken
- Domesticatie,
- genetische variatie
- Nieuwe technieken
- Toekomstige taak van het vak

De Plantenveredelingssector in Nederland

Er zijn meer dan 350 bedrijven actief in:

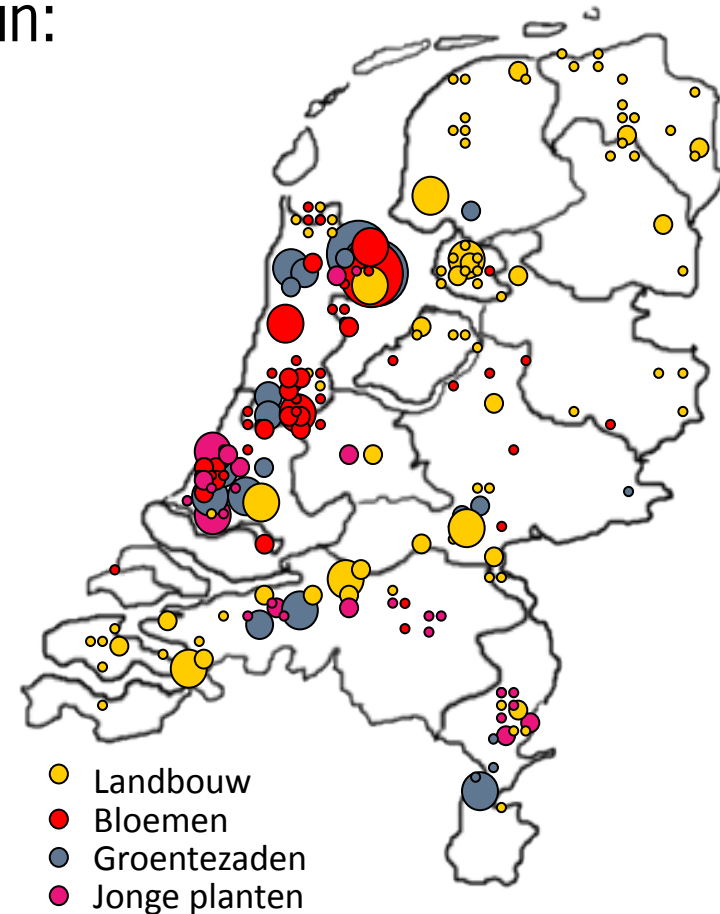
Planenveredeling/selectie

Vermeerdering

Productie van stekken, zaden
en jonge planten

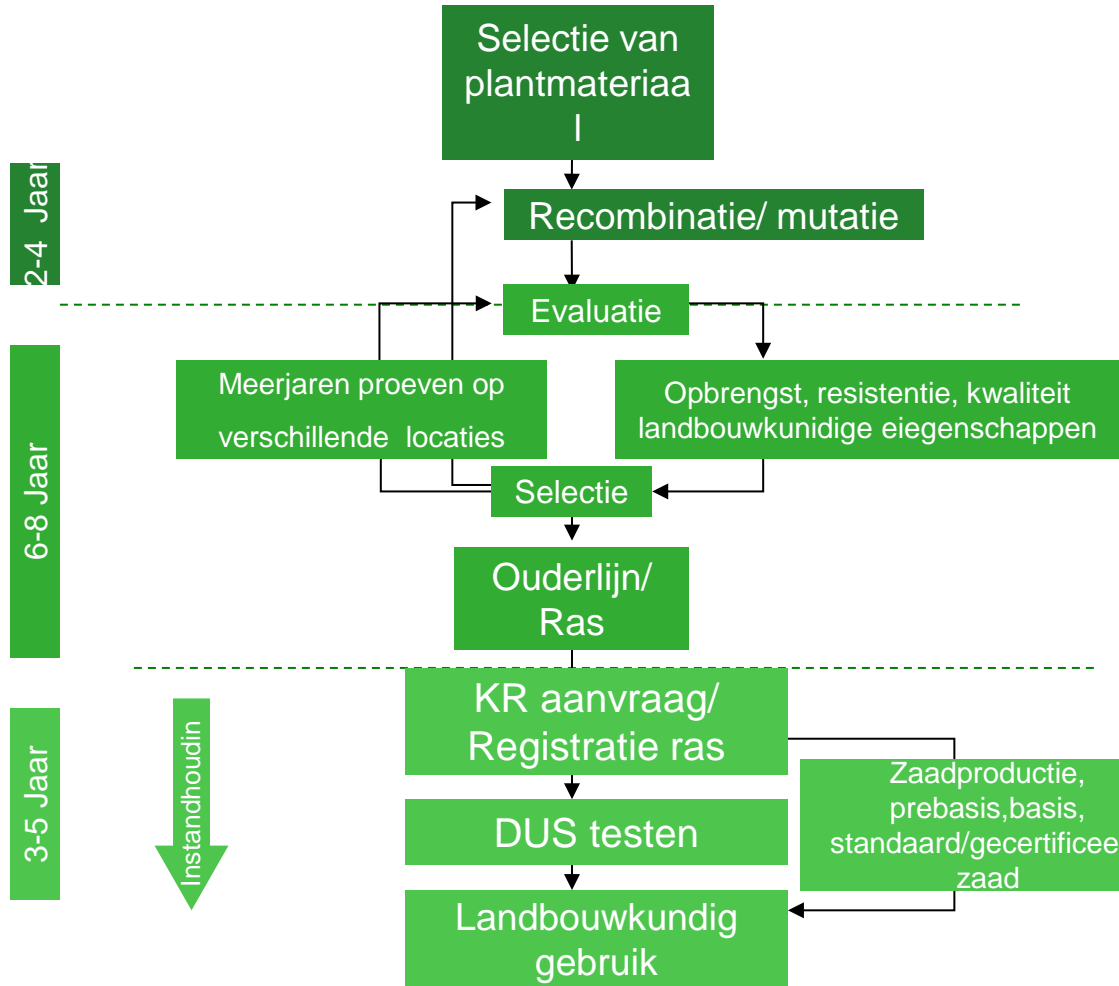
Weefselkweek

Handel in plantmateriaal



Plantenveredeling en veredelingstechnieken

Instituten/universiteiten Pre-breeding



- (Soorts)kruising
- Antheren cultuur
- Embryo rescue
- Mutagenese
- Protoplastenfusie
- Genetische modificatie?
- Reverse breeding?
- Cisgenese?
- Zinc fingers?
- GM haploidisatie?
- Merker technologie
- **Genoomanalyse**
- **Genotype predicts phenotype**
- Veldproductie
- Weefselkweek

Tijdspad van de Plantenveredeling

- **10.000 jaar geleden:** onbewuste ontdekking van genetische variatie die de eerste domesticatiestappen hebben mogelijk gemaakt
- **6.000-3000 jaar geleden:** primitive landbouw start met bewaring van zaad van het beste materiaal
- **Begin 1900:** Kruisingsveredeling start na ontdekking van de wetten van Mendel. Selectiemethoden van vegetatief vermeerderde, zelf – en kruisbevruchtende gewassen
- **1930s:** Klassieke veredelingsmethoden via o.a. bevruchtingsbiologie, mutatieinductie en hybride rassen
- **1960s:** Celbiology wordt onderdeel van de plantenveredeling met de bijbehorende *in vitro* technieken
- **1980s:** Planten biotechnologie met **GMO** en **Marker Assisted Breeding**
- **2000:** Ontrafeling van het gehele plantengenoom met alle nieuwe mogelijkheden voor de plantenveredeling, zoals “genomic selection”

Wat is plantenveredeling?

Het totaal van de inspanningen om tot verbeterde rassen te komen

Basisaspecten:

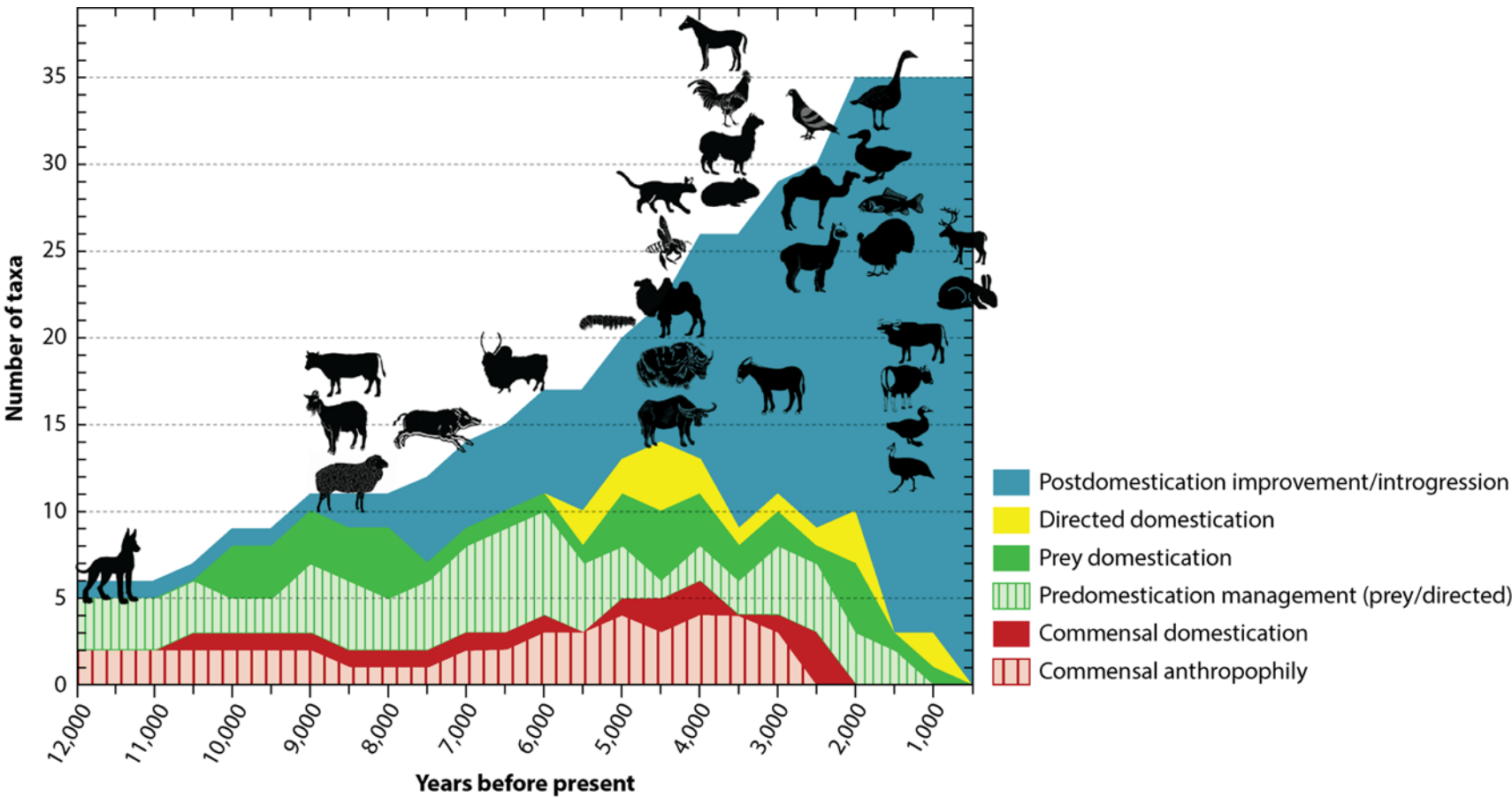
- **Domesticatie**
- **Genetische variatie:** “breeders’ gene pool”
- **Selectiemethoden:** zelfbevruchters, kruisbevruchters, vegetatief vermeerderd en hybride rassen
- **Instandhoudingsselectie** van een ras

Domesticatie

- De mens heeft planten en dieren gedomesticeerd om permanent over hun nuttige eigenschappen te kunnen beschikken
- Domesticatie (van het Latijn domus, huis) is het proces waarmee de mens dieren en planten (door selectie en fokken), zodanig van eigenschappen verandert zodat deze steeds meer aangepast raken aan het leven dichtbij en in dienst van de mens.
- Voedsel, sierplanten, genezende werking, bouw materiaal, veevoer voor wol-, ei-, vlees- en melkproductie, etc..

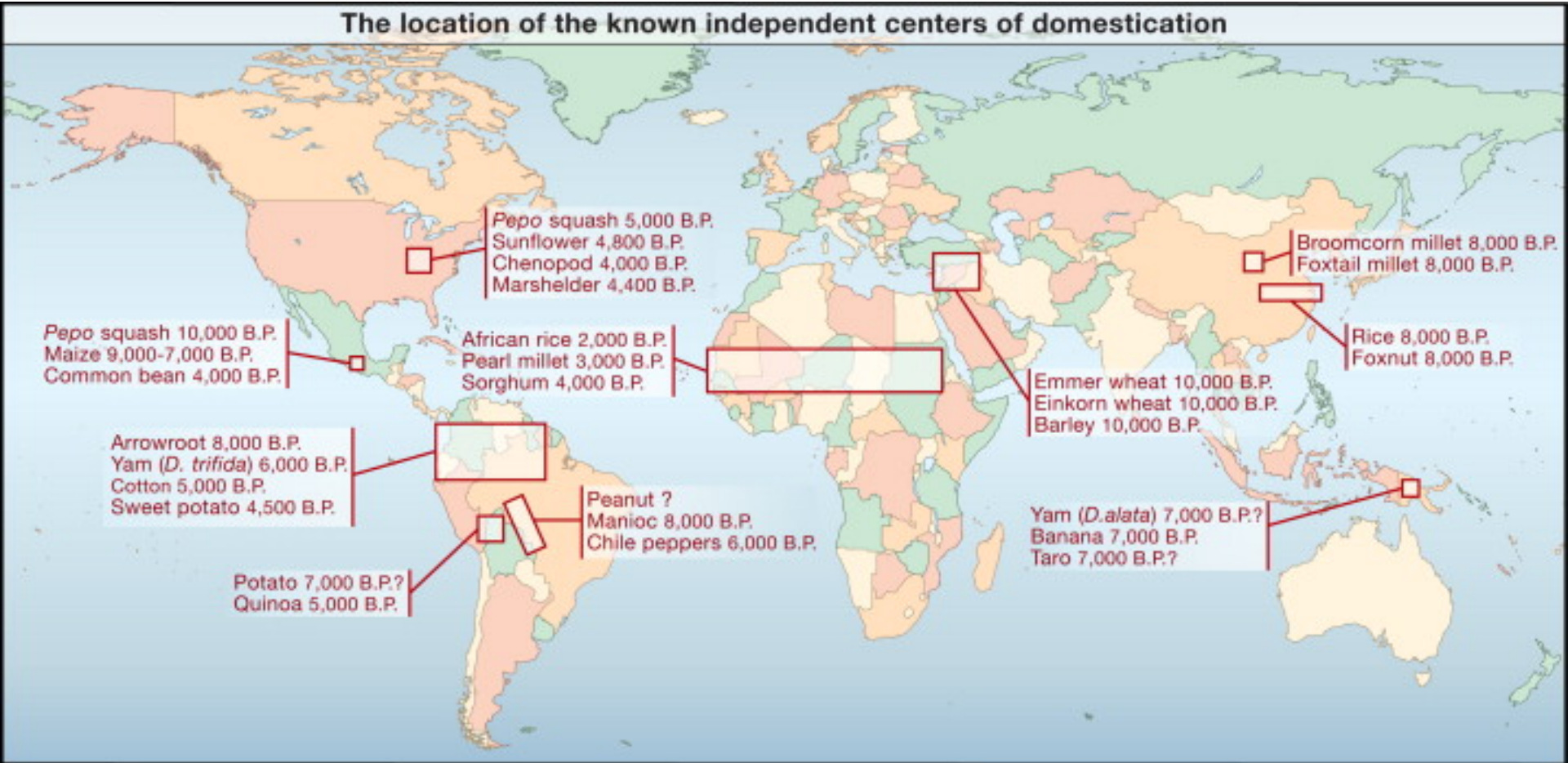
Basis: genetische variatie binnen elke soort

Samenvatting over de timing en toename van dier domesticaties vanaf het Holoceen tot 500 jaar geleden



AR Larson G, Fuller DQ. 2014.
 Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 45:115–36

Enkele onafhankelijke centra voor gewasdomesticatie



Voor elke regio zijn de belangrijkste gewassen aangegeven en ingeschat wanneer zij gedomesticeerd werden, gebaseerd op beschikbare archeologische aanwijzingen

Genetische variatie in de (klassieke) PV

- **Genetische variatie (GV)** is het bestaan van verschillen (variatie) in het genetisch materiaal binnen een soort of tussen een kruisbare soort (**breeders' gene pool**)
- Basis van GV is mutatie (spontaan of geïnduceerd). Dit proces gaat altijd door
- **Biotechnologie** heeft ervoor gezorgd dat vandaag in principe genetische factoren van alle organismen voor de PV beschikbaar zijn
- **Doelgerichte**, genspecifieke, mutaties via nieuwe technieken zoals Crisp/Cas9

Zonder genetisch gebaseerde variatie geen plantenveredeling mogelijk

Belangrijke domesticatiestappen in de PV

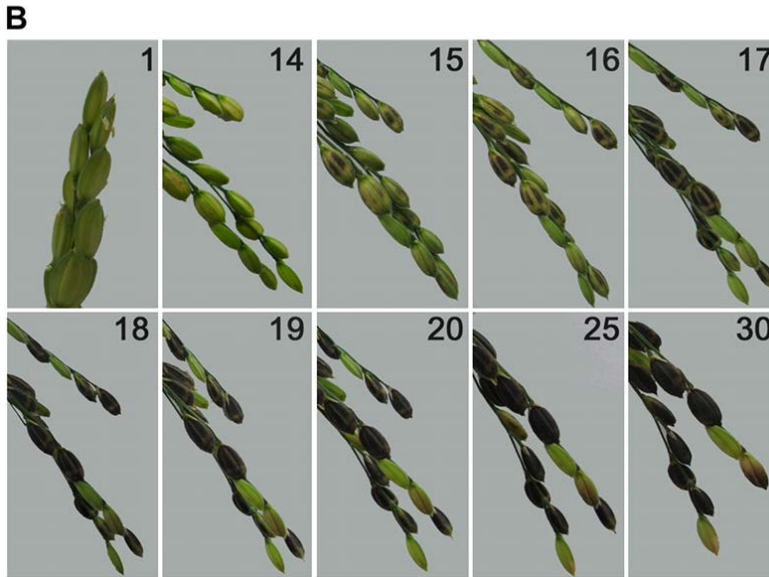
1. Binnen de soort

2. Super-domesticatie:

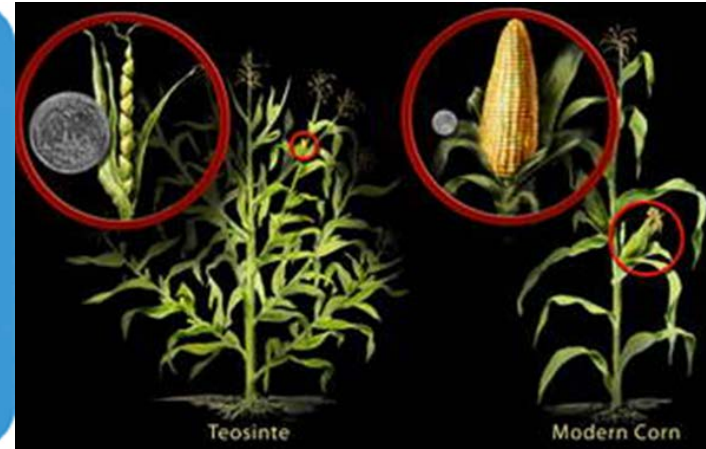
- Introgressies and translocaties vanuit **kruisbare soorten**
- Specifieke allelcombinaties voor **heterosis** in hybride rassen
- Nieuwe gewassen door **soortskruisingen**
- Genetische modificatie **trans- and cisgenen**
- **Gen specifieke** mutaties via Crisp/Cas9 technologie

Domesticatie van rijst en maïze voor enkele eigenschappen

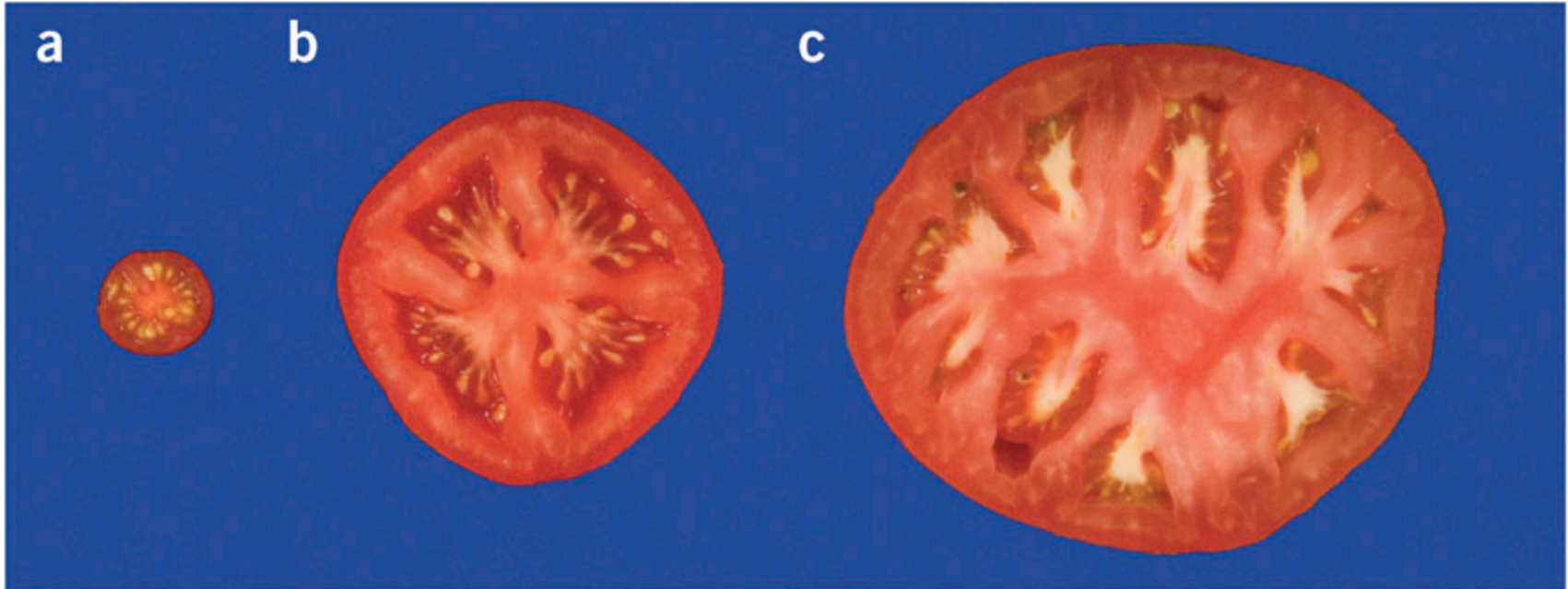
Genetische verandering van zwart naar wit rijstkafje. Deletiemutatie in *Black* hull gen 4 van 22 bp



Mutatie van een gen dat meerrijen op een maïskolf geeft
Insertiemutatie in *tb1* dat apicale dominantie veroorzaakt



Domesticatie van tomaat: vruchtgrootte



A: vrucht van de nauw verwante soort *S. pimpinellifolium*

B: Industrietomatenras met intermediaire vruchtgrootte; toename van de omvang kwam vnl tot stand door meer celdelingen


C: ras met grote vrucht voor de versmarkt; toename van omvang ook door een groter aantal hokken

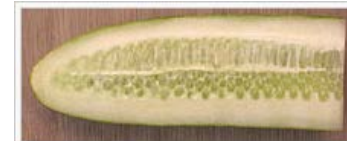
Domesticatie komkommer mbv F-factor en parthenocarpie



Mannelijke bloem van 'Gele Tros' 



'Gele Tros' 



Lengtedoorsnede rijpe komkommer 

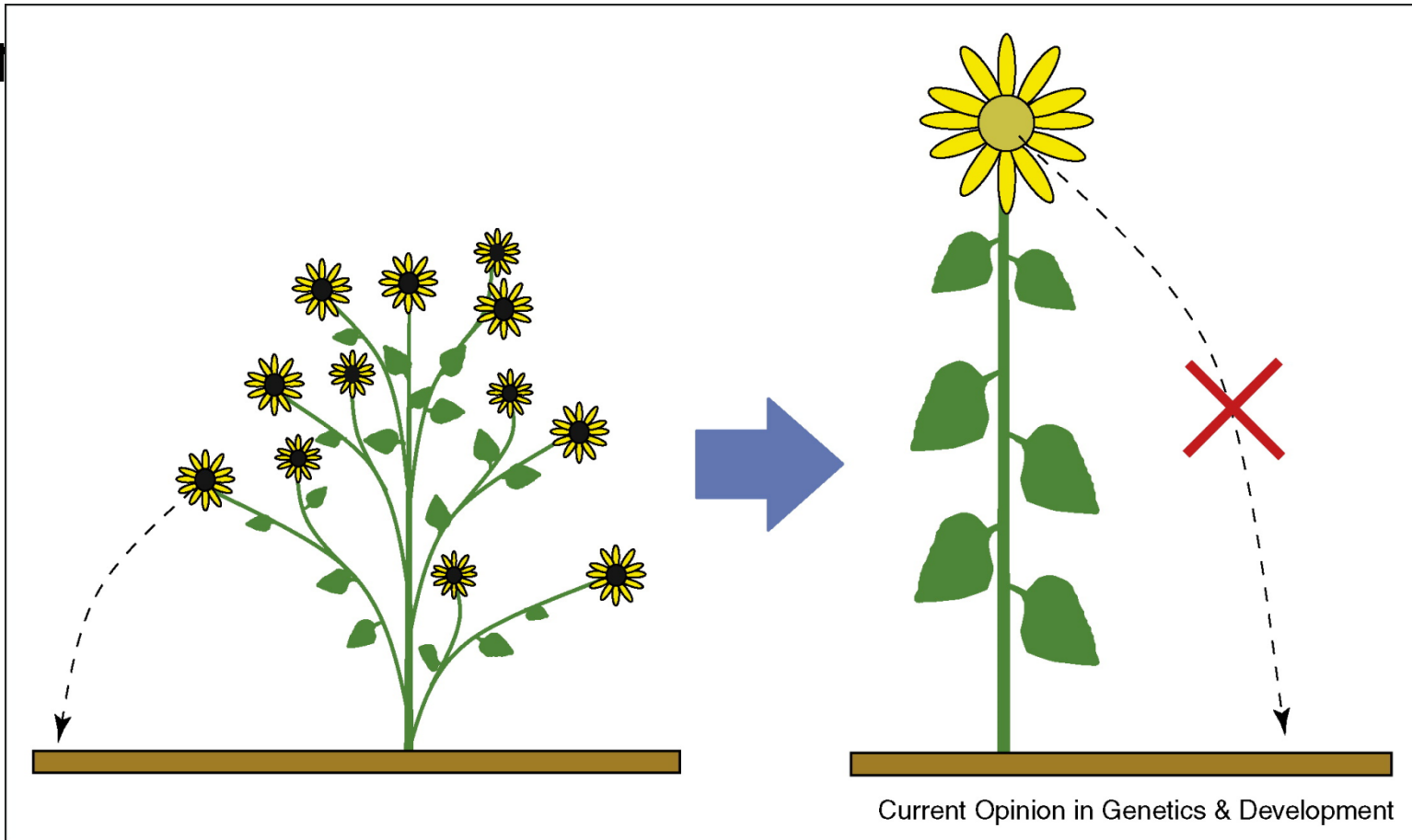
Opbrengst van komkommerrassen met alleen vrouwelijke bloemen of gemengd bloemig

	♂ + ♀	♀
Sex expression	Monoecious	Gynoecious
Number of fruits per square meter	53	200

Sex expression	Monoecious	Gynoecious
Yield (Ton/Ha)	42	659

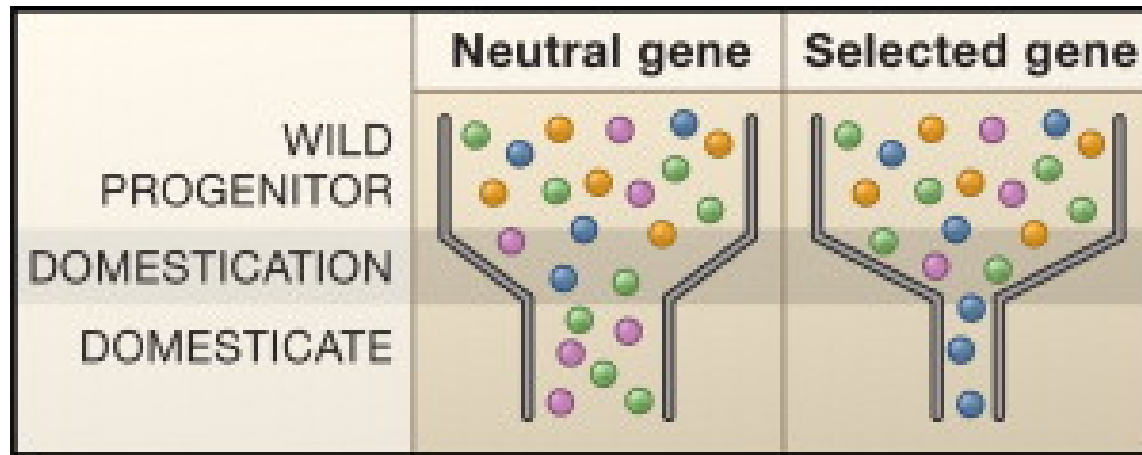
Schematische representatie van het 'domesticatiesyndroom' bij zonnebloem

SUN



Toegenomen zaad en vruchtgrootte, apicale dominantie, gereduceerde vertakking, onderdrukking van natuurlijk zaadverlies, verlies van kiemrust en zelfincompatibiliteit

Negatieve effecten van de Domesticatie Bottleneck op Genetische Diversiteit binnen de soort



(Links) Populatie bottlenecks zijn een dagelijks optedende demografische gebeurtenis gedurende domesticatie. Genetische diversiteit is aangegeven door de gekleurde ballen; de bottleneck reduceert de diversiteit van neutrale genen, zoals te zien is aan het verlies van oranje en blauwe varianten

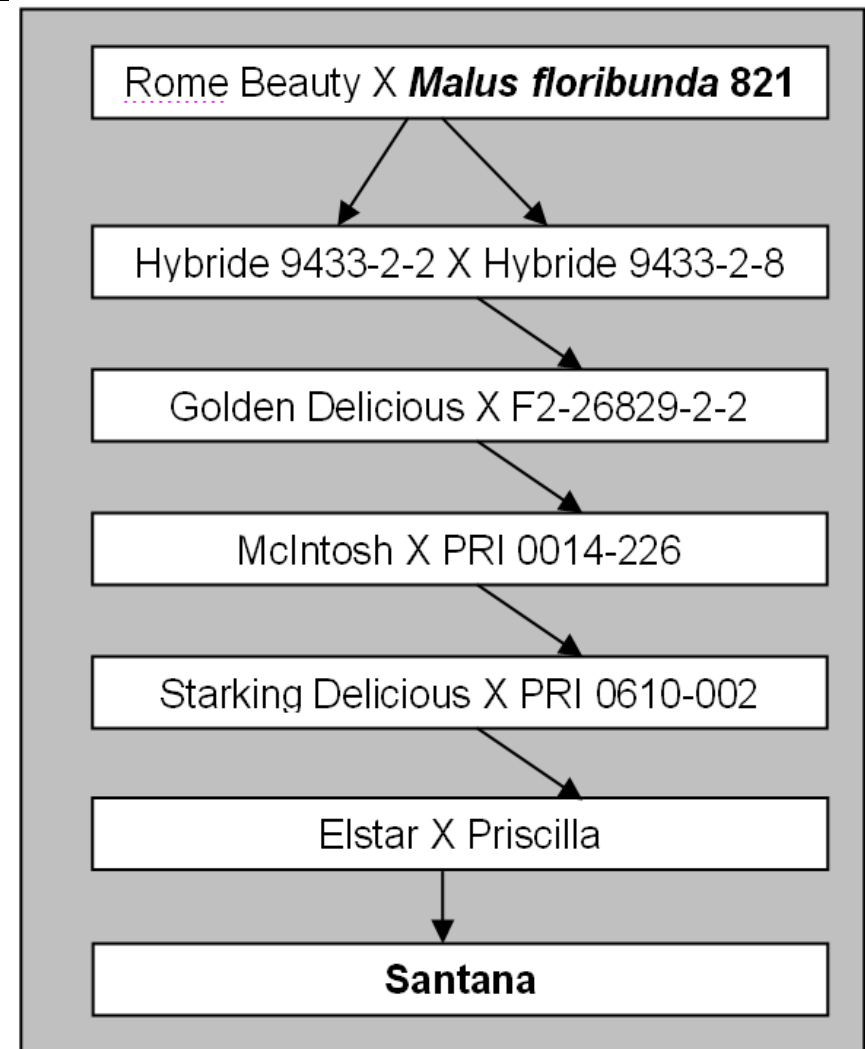
(Rechts) Selectie verkleint diversiteit boven op die veroorzaakt door de bottleneck, zoals te zien is bij het verlies van op een na alle genetische varianten in de gedomesticeerde soort. Wees erop verdacht dat een exceptioneel sterke domesticatie ten koste kan gaan van veel neutrale genen. In dat geval kan het moeilijk zijn om geselecteerde van neutrale genen te onderscheiden

Domesticatie: Introgressie veredeling voor resistentie tegen appelschurft uit wilde soorten

- 1946: eerste kruisingen met de wilde appel *Malus floribunda* 821 voor schurft resistentie
- Duidelijke splitsing in de nakomelingschap



- Wereldwijd toegepast
- Ongewenste buurgenen: "Linkage drag"
- Na ongeveer **50 jaar** rassen met goede vruchtkwaliteit komen op de markt
- **Van de 2 aanwezige genen Vf1 en Vf2 blijkt na klonering alleen Vf2 actief.**
- **Dit gen wordt via cisgenese gebruikt**



Synthese nieuwe allopolyploidegewassen

Triticale: een nieuw “synthetisch” graangewas.

Is een kruising tussen tarwe en rogge gemaakt via *embryo rescue* na bevruchting en chemische chromosoom verdubbeling
Het duurde >50 jaar voordat succes doorbrak



Triticale groeit nu wereldwijd op miljoenen hectaren



Tarwe, Triticale en Rogge

Domesticatiefactoren bij hybride rassen

- **Zaadproductie** via gerichte bestuiving mbv **(C)MS** met/zonder **herstellergenen**
- **Zelfincompatibiliteitssystemen** worden steeds meer vervangen door (C)MS.
- Meest eenvoudig is **synthetische MS** en **Herstellersysteem via GM**, zoals het **Barnase-barstar systeem** bij koolzaad

Belangrijke factoren: inteeltlijnen, juiste combinatie van heterotische allelen voor opbrengst, (C)MS en Herstellergenen

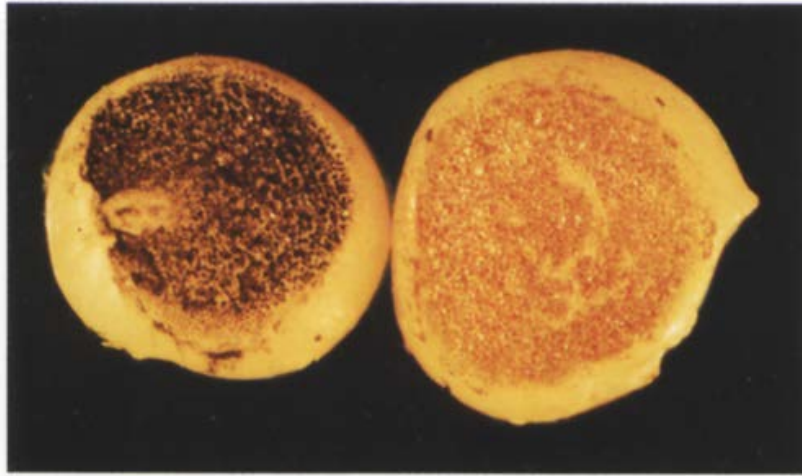
Nieuwste domesticatiebronnen: GM met gekloneerde genen en gengerichte mutaties

- a. **cisgenen**: natuurlijke gekloneerde, genen uit de **breeders' gene pool** (veilige genenbron gebleken)
- b. **transgenen** (nieuwe genenbron: bacterie, virus, dier)
 - 1. **RNAi**: hybride genen vnl uit de breeders' gene pool afkomstig (*Amf*)
 - 2. andere genen: (gedeeltelijk) gebaseerd op bacteriën en virussen of niet-kruisbare soorten
- c. **Gengerichte mutaties**: Crisp/Cas9-, Talens-technologie voor gengerichte mutaties

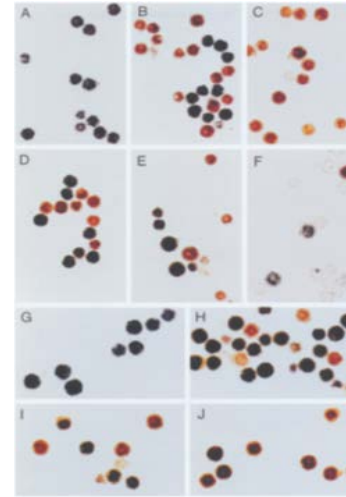
Domesticatie van transgenen

- Meest gebruikt zijn **herbicide-** en **insectenresistentie-**genen of **mannelijke steriliteit**
- **Gewassen:** mais, katoen, sojaboon, koolzaad; >180 miljoen hectare in 2013
- Transgenen kunnen in veel verschillende gewassen gebruikt worden
- Er was geen ervaring hiermee in de PV: **Algemene biologische veiligheidsregels** ontwikkeld
- Worden in Europa strikt toegepast voor teel maar minder strikt bij import

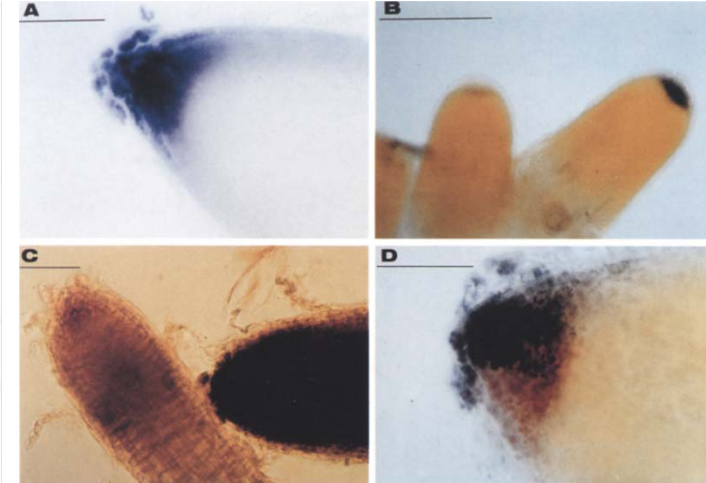
Amylose vrije zetmeelaardappel via RNAi van *GBSS* of een recessieve *amf* mutatie



Miniknollen van de monohaploïden AM 79.7322 (MPI) en 86.040 (R)



Splitsing van *amf*
In pollenkorrels



Wortel columellacellen van AM 79.7322 en 86.040

Huidige situatie met de *amf*-mutant

- Mutant in 1986 gevonden
- Als kruisingsouder in 1989 beschikbaar
- Serieuse kruisingen in 1996 begonnen
- Rassen: Eliane, Henriette, Isolde, Javina
- In Duitsland geteeld omdat bepaalde resistenties voor Nederlandse omstandigheden ontbreken
- Het areaal is intussen 1000-en hectares

- In 2004 via TILLING een vergelijkbare 2e mutant gevonden die in Duitsland veredeld wordt

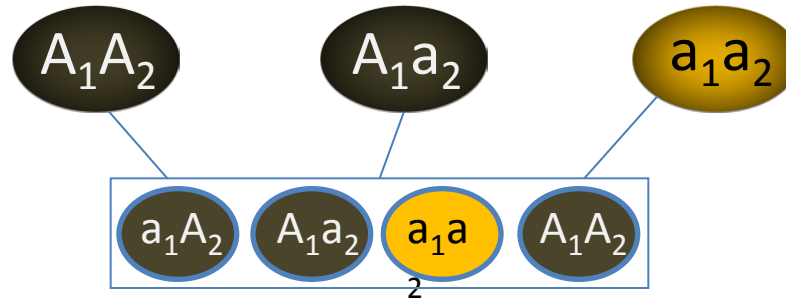
Genuitschakeling via RNAi na genetische modificatie

- Twee raswaardige amylose-vrije planten geselecteerd
- Het ras Apriori bereikte in 1998 2500 ha
- Minister Pronk gaf geen vervolgv vergunning af o.a. vanwege aanwezigheid van een antibioticum resistentie
- huidige situatie:
 - cv Modena werd door BASF vertegenwoordigd voor toelating bij de EFSA
 - Op dit moment worden geen nieuwe GM-rassen gekweekt

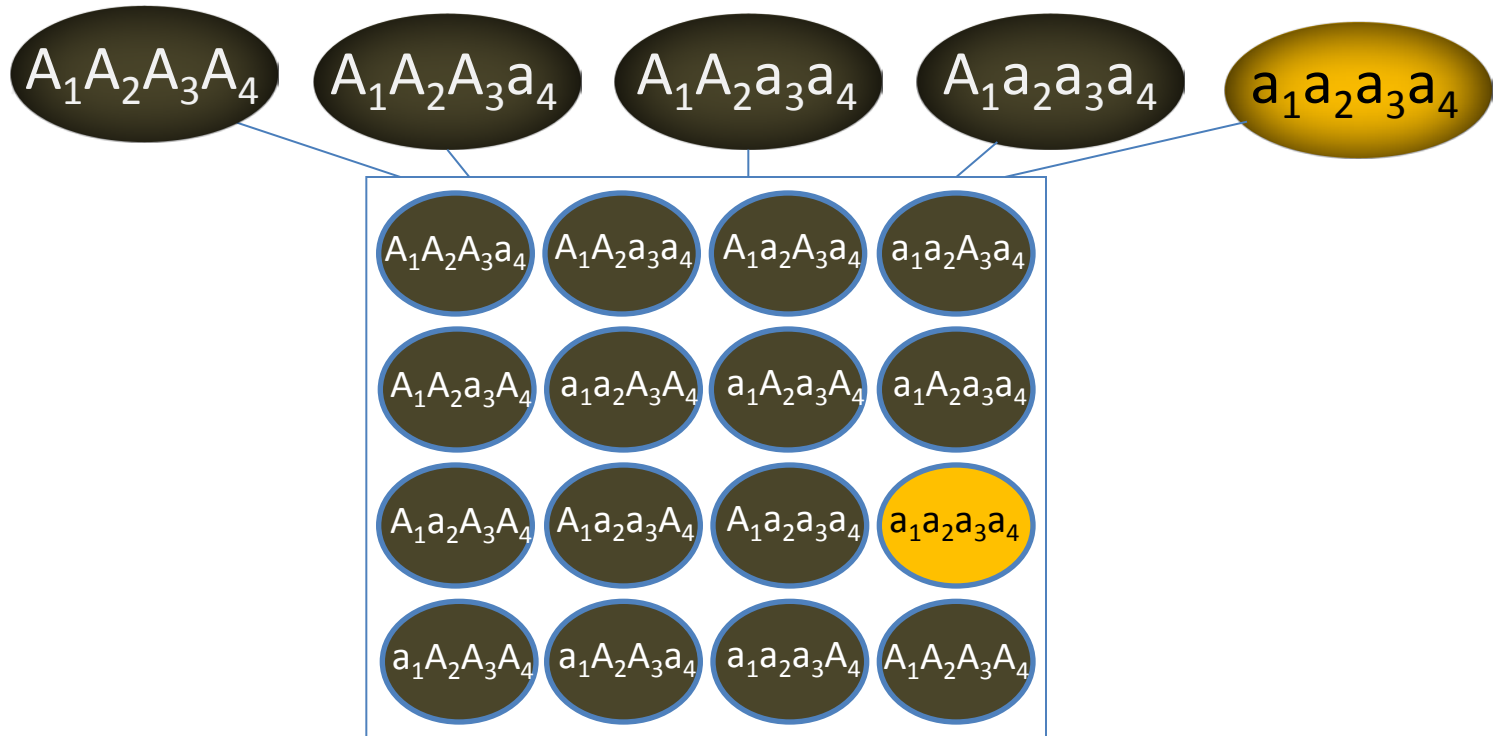
Nieuw

Gengerichte mutagenese via CRISPR/Cas9 op GBSS is direct in tetraploide aardappel mogelijk

Diploide aardappel



Tetraploid aardappel

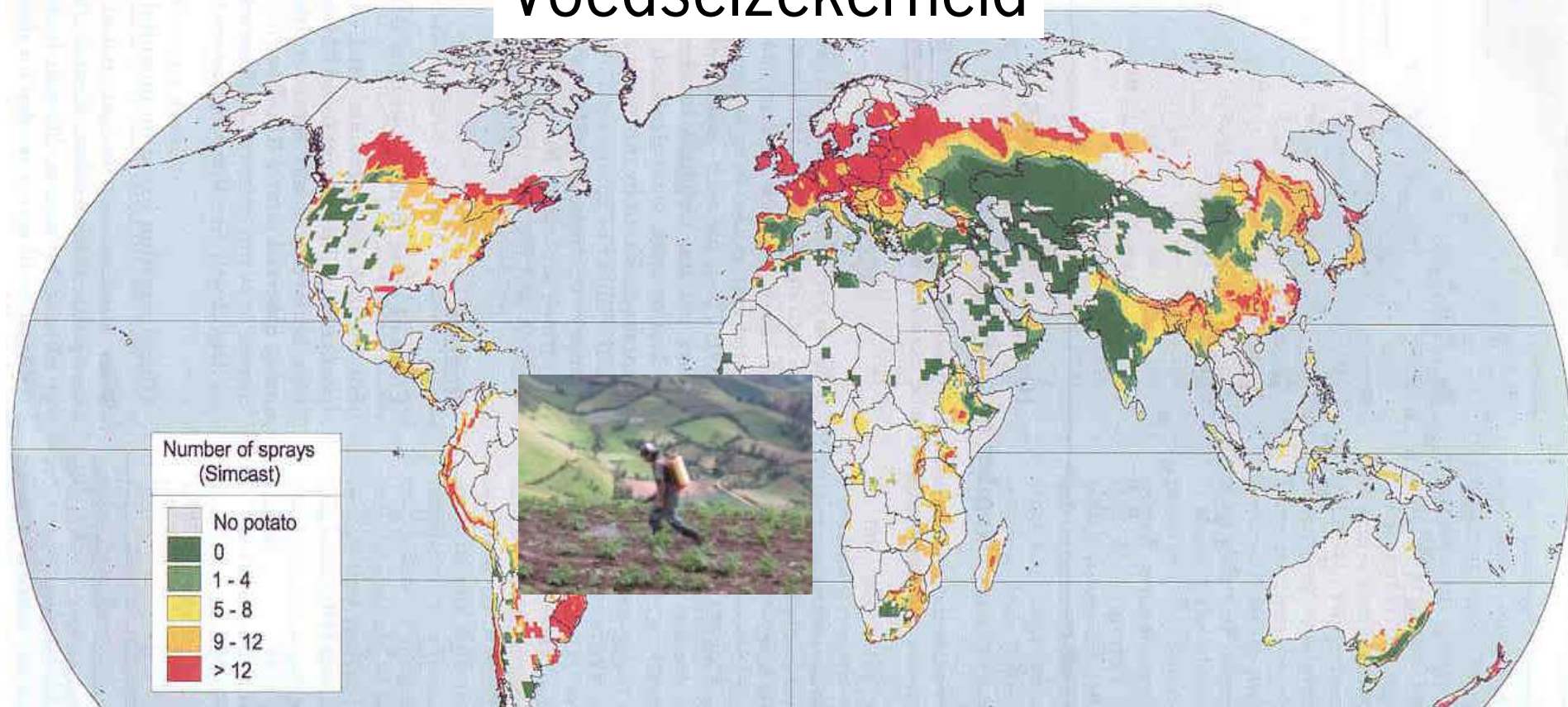


Twee gentypen beschikbaar: Transgenen en Cisgenen

- Een **transgen** is een gen afkomstig van een niet-kruisbare soort of het is een hybridegen. Het behoort tot een **nieuw genenbron. Basis GMO regelgeving**
- Een **cisgen** is een natuurlijk gen, dat codeert voor een eigenschap van de plant zelf of van een kruisbare soort dat normaal ook in de klassieke veredeling gebruikt wordt. Het vertegenwoordigt de **bestaande veredelaars bron van genen. Geen GMO regelgeving**

Resistentiegenen tegen *Phytophthora infestans*

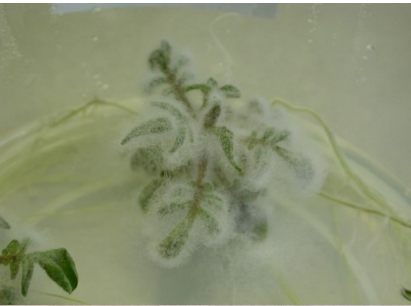
Voedselzekerheid



25 miljoen ha wereldwijd, verliezen 10 miljard €
165.000 ha NL, verliezen ongeveer 150 miljoen €

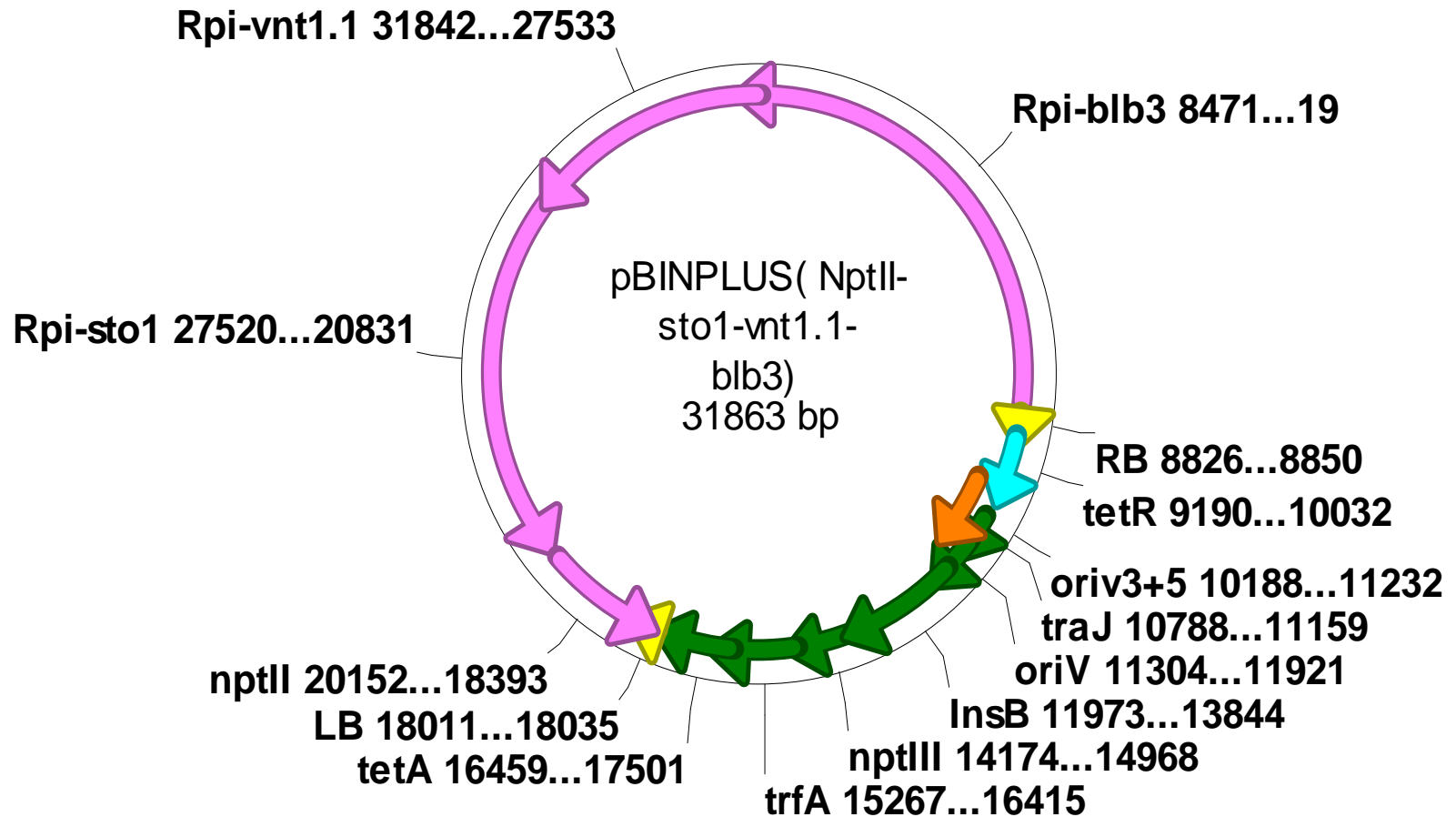
Nieuwe bronnen van resistentie

Screening van 1,000 *Solanum* accessies



Meer dan 25 *R*-
genen geïsoleerd

Kaart van een “triple R-gen” vector met *Rpi-sto1*, *-vnt1.1* en *-blb3*



Plant- en knoltest van transformanten met 3 R-genen



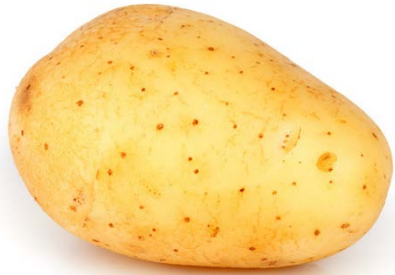
Veldtest



Inoculatie
Voor **Na**

Knoltest

Cisgene producten in ontwikkeling



Aardappel: resistentie tegen *P. infestans*



Niet bruin verkleurende
appel na schillen (Malnoy et
al., 2007)



Gerst: verbeterde fosfaat
Opname door dieren
(Holme et al., 2012)

Andere voorbeelden: 1. Tarwe met meervoudige allelen voor meeldauw resistentie;
2. Rijst resistent tegen bacterie ziekte; 3. Populier met andere morfologie

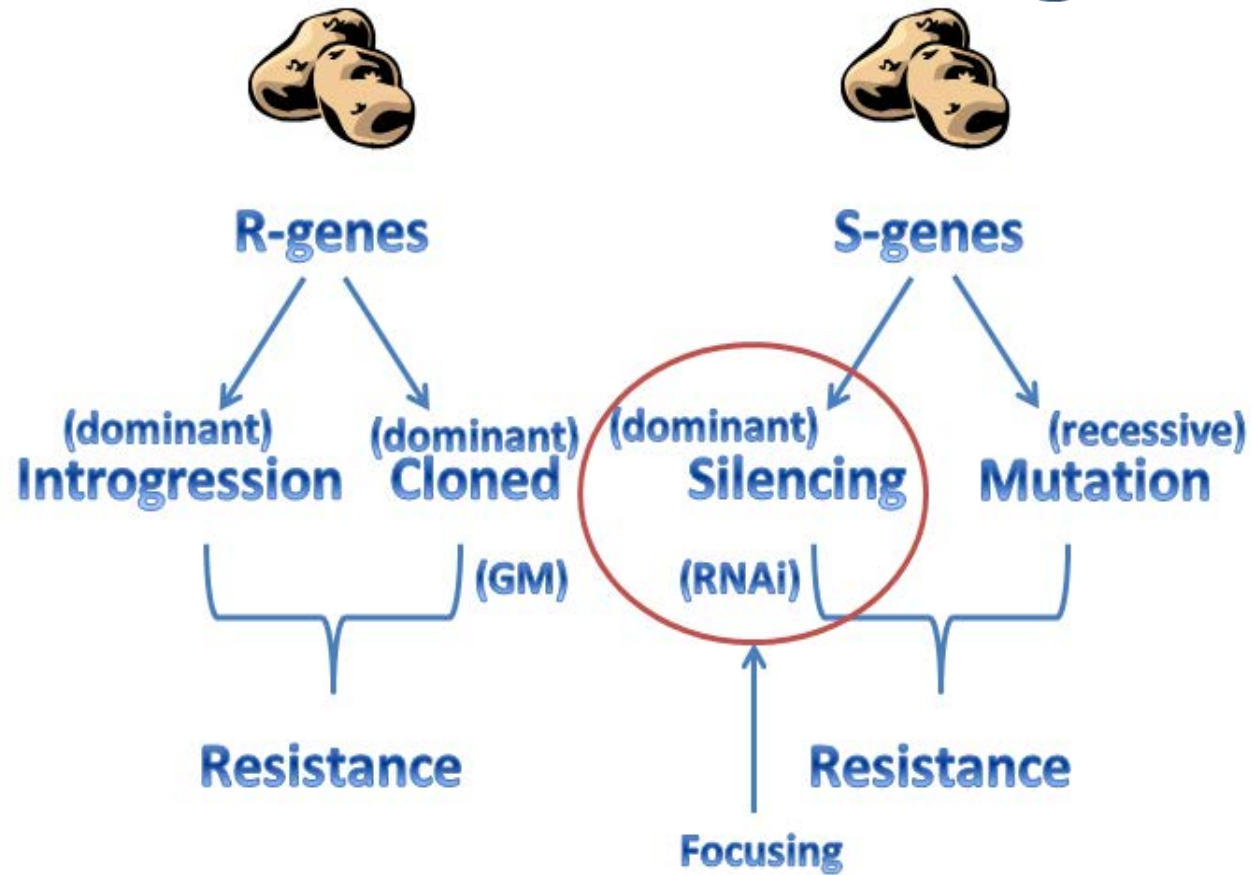
Drie manieren om aardappel tegen Phytophthora te beschermen

Chemisch



Environment unfriendly

Resistentie veredeling



Environment friendly

by Liu Jingyi

S-gen benaderingswijze: RNAi en mutatie

Een S gen is een plantengen dat de ziekte helpt te ontwikkelen in de plants (herprogrammering)

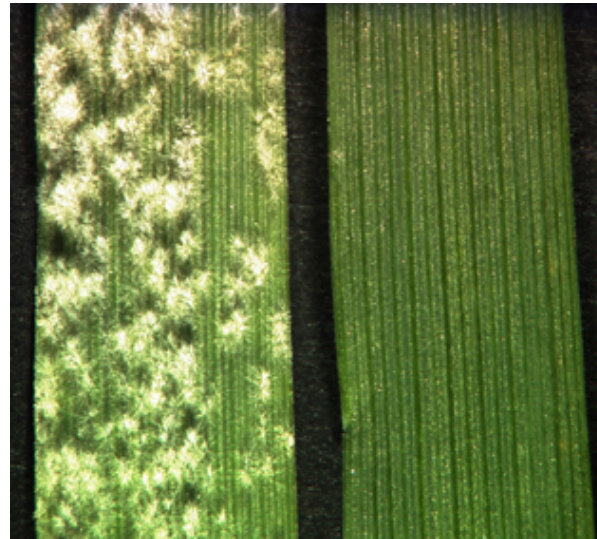
Functieverlies van S-genen door recessieve **mutatie** of **RNAi** kan duurzame, breed spectrum, resistentie geven tegen **verschillende pathogenen tegelijk**

S genen hebben vaak ook andere functies in de plant. Dit leidt tot **pleiotrope effecten**

S-gen gebaseerde resistentie startte met de gerst *mlo* mutant tegen meeldauw

- *mlo* mutanten van gerst geven in Europa al 30 jaar breed spectrum resistentie tegen meeldauw

- In MLO mutanten van erwten, tomaat, druif, is ook meeldauwresistentie gevonden



Fenotype van een vatbaar (*Mlo*, links) en een resistente (*mlo* – rechts) genotype van gerst na inoculatie met meeldauw

TALEN en CRISPR/

Cas9 gebaseerde mutatie-inductie in *MLO* van het A, B and D genoom van tarwe resulteerde in meeldauwresistentie

Toekomst van de plantenveredeling om in 2050 wereldwijd 2x meer biomassa te produceren

Maximale opbrengst

Werkelijke opbrengst

Cisgene GMO zeer gewenst
ipv introgressieveredeling →

Ontwikkelingslanden



Maximale opbrengst

Werkelijke opbrengst

(Cisgene) GMO nodig om snel tot hogere opbrengstpotentie te komen

