



NVPW Voorjaarssymposium 2007

Nederlandse Vereniging voor Plantenbiotechnologie en -Weefselweek
Netherlands Society for Plant Biotechnology and Tissue Culture

16 March 2007

Hotel De Nieuwe Wereld – Marijkeweg 5 - Wageningen

- 9:30 Registratie en koffie
- 10:00 Opening door de voorzitter: **Rob Bogers**
- 10.10 **Christian Bachem** (Laboratory of Plant Breeding, Wageningen UR)
Genetic and functional genomic analysis of potato tuber development
- 10.40 **Wim Vriezen** (Department of Plant Cell Biology, Radboud University, Nijmegen)
Protagonists and antagonists in tomato fruit set
- 11.10 **Mark van der Ende** (Flowmagic Agro LED System®, Kwintsheul)
LED Lighting for Agricultural applications in cell culture and multi-layer cultivations
- 11.40 **Frank Kors** (DUCHEFA Biochemie B.V., Haarlem)
Antibiotica in de weefselweek
- 12:15 **Lunch**
- 13:00 **NVPW Ledenvergadering**
- 13:45 **Kim Boutilier** (Plant Research International, Wageningen UR)
The BABY BOOM AP2/ERF Transcription Factor Activates Novel Signalling Pathways during Embryogenesis
- 14.15 **Henriette Schlüpmann** (Molecular Plant Physiology, Utrecht University)
Sugar signalling in plants: the case of trehalose-6-phosphate in Arabidopsis
- 14.45 **Dick Vreugdenhil** (Laboratory of Plant Physiology, Wageningen UR)
Combining physiology and genetics: the use of 'omics' technologies
- 15.15 **Hendrik Jan van Telgen** (PPO Glastuinbouw Naaldwijk, Wageningen UR)
Vermeerdering siergewassen in vivo of in vitro: valt er van elkaar te leren?
- 15:45 Sluiting met koffie, thee of een drankje

Het symposium wordt mede mogelijk gemaakt door financiële ondersteuning van:



Antagonisten en protagonisten tijdens vruchtzetting van tomaat

Wim Vriezen¹, Richard Feron, Lisette Nitsch, Maaike de Jong, Celestina Mariani

Radboud Universiteit, Celbiologie van de Plant, Toernooiveld 1 6525 ED Nijmegen.

¹ *email: w.vriezen@science.ru.nl*

Vruchtvorming wordt geïnduceerd door bestuiving en bevruchting en heeft als doel een omgeving te creëren waarin zaden zich optimaal kunnen ontwikkelen. De zaden die zich ontwikkelen produceren hormonen, waaronder auxine, die vruchtgroei stimuleren. Een slechte bestuiving leidt dan ook tot kleinere vruchten. Plantenhormonen spelen een centrale rol in vruchtzetting en de ontwikkeling van vruchten. Dit blijkt ook uit het feit dat auxine en gibberelline, na toediening aan de buitenkant van het vruchtbeginsel van een onbestoven bloem, groei van zaadloze (parthenocarpe) vruchten induceren.

Een beter inzicht in de werkingsmechanismen van hormonen tijdens vruchtzetting kan leiden tot de ontwikkeling van planten met vruchten die minder afhankelijk zijn van een efficiënte bevruchting. Wij gebruiken tomaat als modelsoort omdat het een belangrijk vruchtgewas is en net als paprika, aardappel en aubergine hoort bij de Solanaceae familie.

Door middel van een uitgebreide transcriptoomanalyse hebben we een groot aantal genen in kaart gebracht die sterk gereguleerd worden in het vruchtbeginsel van tomaat. Aan de hand van een inventarisatie van de functies van deze genen proberen we meer te begrijpen van de hormoonsignalen die plaatsvinden tussen de zaadknoppen (ovulen) en de wand van het vruchtbeginsel. Het lijkt erop dat na bevruchting een auxinesignaal in de ovulen vruchtgroei aanschakelt. Dit auxinesignaal zorgt er waarschijnlijk voor dat de gibberellinesynthese wordt geactiveerd in de ovulen en de rest van het vruchtbeginsel. Tegelijkertijd wordt de synthese en veel responsgenen van twee andere hormonen, ethyleen en abscisinezuur, uitgeschakeld. Deze twee hormonen hebben in veel processen een remmende invloed op groei en daarom is het mogelijk dat ook in het vruchtbeginsel ze het weefsel in een tijdelijke rustfase houden, misschien om te voorkomen dat vruchtvorming begint voordat bevruchting plaatsvindt. Om deze hypothese te testen zijn transgene tomatenplanten gemaakt waarin genen die een rol spelen in de hormoonbalans zijn uitgeschakeld om het effect daarvan op vruchtzetting te testen.

Antibiotics used in Plant Biotechnology

Frank Kors,

*Duchefa Biochemie bv. A. Hofmanweg 71, 2301 BH Haarlem
email: f.t.m.kors@duchefa.nl*

Several antibiotics are frequently used in Plant Biotechnology to eliminate endogenous infections in plant tissue culture, to eliminate *Agrobacterium* after transfection and selection of transgenic plants. A group of very successfully applied antibiotics in Plant Tissue Culture to eliminate bacteria are "Bacterial Cell Wall Inhibiting antibiotics", such as Carbenicillin, Cefotaxim, Vancomycin and Ticarcillin/Clavulanic acid.

The bacterial cell wall is a three-dimensional network of linear polymers cross linked up with peptide bonds. The cell wall provides mechanical strength to the bacterial cell membrane to protect it against rupturing by an osmotic shock in the hypotonic plant culture medium. The main sites of action of Cell Wall Inhibiting antibiotics are enzymes and molecules playing a vital role in the synthesis of the bacterial cellwall. By targeting these molecules and enzymes, the production of the bacterial cell wall is effectively blocked.

Bacteria can be divided in gram positive bacteria, like *Bacillus* species, and gram negative types, like *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xanthomonas* and *Agrobacterium* species. To eliminate bacteria in Plant Tissue Culture, the most used Bacterial Cell Wall inhibiting antibiotics are Cefotaxime and Vancomycin. Cefotaxim very efficiently kills gram negative bacteria by inhibiting transpeptidase enzymes. Transpeptidase plays a major role in crosslinking the linear polymers present in the bacterial cell wall. Vancomycin is very effective against gram positive bacteria. Its antimicrobial activity is caused by binding to the individual building blocks that finally form the linear polymers. As a result, the enzyme peptidoglycan synthetase cannot link anymore to its substrate binding site present at the building blocks. This blockade finally results in a halt of the synthesis of the bacterial cell wall.

Above mentioned targeted enzymes and building blocks are not present in plant cells being the reason why Cell Wall Inhibiting antibiotics are not toxic to plant cells.

By of the production of beta-lactamase, bacteria can become resistant against Cell Wall inhibiting antibiotics. Gram negative bacteria have the extra defence of an outer membrane, which is difficult to pass for several antibiotics. Structure, size and charge of the antibioticum play an important role to inactivate these bacterial defence systems. Especially in the case of *Agrobacterium* species, several options, such as beta-lactamase inhibitors as present in the combination of Ticarcillin/Clavulanic acid, are available for sufficient elimination of these bacteria.

The BABY BOOM AP2/ERF Transcription Factor Activates Novel Signalling Pathways During Embryogenesis

Kim Boutilier

Plant Research International, PO Box 16, 6700 AA Wageningen

e-mail: kim.boutilier@wur.nl

The BABY BOOM (BBM) ERF/AP2 transcription factor was previously identified as a marker for embryogenic cells in *Brassica napus* microspore-derived embryo cultures. Gain-of-function studies in arabidopsis and *B. napus* have shown that BBM is sufficient to induce spontaneous somatic embryogenesis from seedling tissues. In tobacco, heterologous BBM expression induces somatic embryogenesis when hypocotyl explants are cultured with cytokinin.

We are using a number of approaches to characterize the signalling pathways in which BBM functions to induce somatic embryogenesis. In one approach, a post-translationally induced BBM protein (BBM:GR) was used in combination with arabidopsis microarrays to identify candidate genes that are directly activated by BBM during the induction of somatic embryogenesis. The candidate genes that were identified will be presented and discussed.

Sugar signalling in plants: the case of trehalose-6-phosphate in Arabidopsis

Henriette Schluepmann¹, Mahnas Aghdasi¹, Anja van Dijken¹, Matthew Paul² and Sjef Smeekens¹

¹ *Molecular Plant Physiology, Utrecht University, Padualaan 8 3584 CH Utrecht, The Netherlands*

² *Crop Performance and Improvement, Rothamsted Research, Harpenden, Hertfordshire AL5 2JQ, United Kingdom*

¹ *email: H.Schluepmann@bio.uu.nl*

Trehalose is the alpha1,1-glucose disaccharide. Genes encoding enzymes for its metabolism are ubiquitously found in plants. Synthesis of trehalose in plants, just like that of sucrose, occurs via its phosphorylated intermediate, trehalose-6-phosphate (T6P). Enzymes with homology to T6P synthases and phosphatases are surprisingly more numerous than those of sucrose synthesis. In contrast, plants generally contain a single or very few genes encoding trehalose cleaving trehalase. Radiation thus suggests a differentiation of the role of trehalose-6-phosphate (T6P) in plants and experimental evidence is accumulating that confirms this notion.

tps1 mutants complemented with *E.coli* trehalose-phosphate synthase reveal that T6P is essential for embryo development, root growth and the transition from vegetative growth to flowering. Genetic manipulation of T6P levels indicate that T6P is further required for carbohydrate utilization and that it affects starch synthesis. Trehalose feeding experiments establish that accumulation of T6P in the absence of metabolisable sugar leads to seedling growth arrest. Accumulation of T6P in the absence of supplied carbon further leads to a specific stress response that protects Arabidopsis seedlings from infection with *H. parasitica*.

To understand the mode of action of this potent metabolite, we are now using a combination of genetics and systems biology

Combining physiology and genetics: the use of 'omics' technologies.

Dick Vreugdenhil, Joost Keurentjes, Maarten Koornneef

*Laboratory of Plant Physiology and Laboratory of Genetics, Wageningen University, Arboretumlaan 4,
6703 BD Wageningen, The Netherlands.
email: dick.vreugdenhil@wur.nl*

Many agronomically relevant traits in plant, such as growth rate, yield, and flowering, are controlled by a large number of genes. Such genes can nowadays be studied using quantitative genetics, and especially by quantitative trait locus (QTL) analysis. In this presentation the use of QTL analysis in understanding the regulation of physiological traits will be discussed.

Modern-days large-scale technologies, for instance metabolomics and transcriptomics (micro-arrays) yield vast amounts of data, which can also be treated as quantitative, and are thus amenable to QTL analysis. We will show that integrating genomics and genetics, described as genetical genomics, may yield new and relevant data to understand processes in plants.

Vermeerdering siergewassen in vivo of in vitro: valt er van elkaar te leren?

Hendrik-Jan van Telgen

Wageningen UR Glastuinbouw, Naaldwijk
hendrikjan.vantelgen@wur.nl

Voor een aantal siergewassen (lelie, gerbera, orchidee) zou het huidige marktaandeel onhaalbaar zijn geweest zonder *in vitro* vermeerdering. Echter, bij de vermeerdering van de 'grote' snijbloemgewassen roos en chrysant speelt *in vitro* vermeerdering vrijwel geen rol, veelal uit kostenoverwegingen: *in vivo* vermeerdering is nog steeds goedkoper en geeft zwaarder uitgangsmateriaal.

Niettemin kunnen een aantal aspecten van *in vitro* vermeerdering, zoals (inwendige) kwaliteit en uniformiteit, wel degelijk interessant zijn. De kwaliteit van stek speelt bijvoorbeeld een rol bij het verminderen van uitval bij snijroos en het vergroten van de uniformiteit is belangrijk voor potroos, maar ook voor chrysant en stek perkplanten.

Aan de hand van roos als voorbeeldgewas, zullen oorzaken van het ontstaan van de verschillen in kwaliteit en uniformiteit worden besproken. Daarbij blijkt de voorgeschiedenis van het stek aan de moederplant belangrijk, maar ook omstandigheden tijdens de vermeerderingsfase zelf, zoals hormoonbehandeling, samenstelling wortelmilieu (substraattype), omstandigheden tijdens de beworteling (temperatuur, licht, CO₂, RV) spelen een rol. Er zal wat dieper worden ingegaan op het effect van auxine op de kwaliteit van bewortelen en geprobeerd zal worden een verband te leggen tussen resultaten uit het algemeen onderzoek aan beworteling en uitloop *in vitro* en de toepassing daarvan bij de *vivo* stekvermeerdering.