



Najaarssymposium

## Biotechnologie & Voedselzekerheid

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

5 november 2004

**Gorlaeus Laboratorium**  
Einsteinweg 55, Leiden

- 9.15 Registratie & koffie
- 10.00 Opening
- 10.05 **Niels Louwaars** (Plant Research International) Voedselzekerheid in ontwikkelingslanden
- 10.45 **Ines Van de houwe** (INIBAP Musa Germplasm Transit Centre, Leuven) Beheer van genenbanken - Uitgifte van bananen genemateriaal
- 11.15 **Henk van den Belt** (Wageningen Universiteit) Intellectueel eigendom en ontwikkelingslanden
- 11.45 **Nancy Terry**n (IBPO, Universiteit Gent) Biotechnologisch onderzoek voor ontwikkelingslanden
- 12.15 Lunch
- 13.45 **Dorothea Bartels** (Universität Bonn) Desiccation stress tolerance studied in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*
- 14.25 **Barbara Leyman** (KU Leuven) Droogtetolerantie door trehalose-metabolisme
- 14.50 **Bert de Boer** (VU Amsterdam) Zouttolerantie in planten: mechanismen en toepassingen
- 15.15 **Nancy Terry**n (IBPO, Universiteit Gent) Regeneratie en transformatie van *Phaseolus* en cowpea
- 15.40 **Fernand Lambein** (IBPO, Universiteit Gent) Somaclonale variatie in *Lathyrus*
- 16.05 Sluiting, koffie & thee

## **Beheer van genenbanken - uitgifte van bananen genemateriaal**

Ines Van den houwe

*IPGRI/INIBAP Musa Germplasm Transit Centre, c/o KULeuven, Kasteelpark*

*Anrenberg 13, B-3001 Leuven, België*

*e-mail: ines.vandenhouwe@agr.kuleuven.ac.be*

Bananen zijn een belangrijke component in het voedselpakket van miljoenen mensen in de tropen. Het leeuwenaandeel van de wereldproductie wordt voortgebracht door kleine boeren die de vruchten kweken voor eigen gebruik of voor de lokale markt. De internationale bananenhandel draait slechts rond één variëteit, de 'Cavendish' dessertbanaan, maar wereldwijd worden honderden verschillende variëteiten verbouwd. Het zijn net deze traditionele variëteiten, naast de wilde soorten, die een belangrijk genetisch reservoir vormen. Om deze genetische rijkdom voor de toekomst te vrijwaren werd op initiatief van het INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain), gestart met de uitbouw van een collectie. In de voorbije 20 jaar is de collectie van het INIBAP Transit Centre uitgegroeid tot de grootste en meest complete verzameling wilde en eetbare bananen. Thans telt zij meer dan 1100 accessies die bewaard worden *in vitro*

Door de oprichting van het INIBAP Transit Centre (ITC), werd een mechanisme tot stand gebracht dat een veilige distributie van kiemplasma garandeert. Elke variëteit wordt er grondig gescreend op de aanwezigheid van schadelijke virussen alvorens zij beschikbaar wordt gemaakt voor gebruikers. Anderzijds wil het ITC bijdragen tot een efficiënter gebruik van de genetische diversiteit binnen het geslacht *Musa*. De productie van banaan wordt immers wereldwijd bedreigd door allerlei ziekten en plagen. Een duurzame verbetering van de productiviteit is slechts mogelijk door de ontwikkeling en het gebruik van resistente variëteiten. Bij de speurtocht naar bronnen van resistentie wordt de waarde van de INIBAP Transit Centre collectie al vlug duidelijk. In de collectie worden accessies bewaard die de nodige resistentiegenen bevatten voor het werk van veredelaars. Andere variëteiten in de genenbank zijn dan weer direct nuttig omdat ze voldoen aan de specifieke vereisten van een bepaald teeltgebied of, omdat ze in de smaak vallen van de consument. Door het IMTP (International *Musa* Testing Programme) worden deze verbeterde en resistente variëteiten gekarakteriseerd, wereldwijd getest en vervolgens ter beschikking gesteld van kwekers. Enkele voorbeelden van projecten in de Tropen illustreren dat deze interessante variëteiten met succes hun weg naar de kleine boer hebben gevonden.

## **Intellectueel eigendom en ontwikkelingslanden**

Henk van den Belt

*Wageningen Universiteit*

In de afgelopen decennia hebben de rechten die onder de benaming intellectueel eigendom worden samengevat een steeds grotere betekenis in de wereldeconomie verworven. Het TRIPS-akkoord van 1994 legt wereldwijd minimumstandaarden op voor de bescherming van octrooien, copyright, merken en kwekersrechten. Tegelijk is de werkingssfeer van deze rechten uitgebreid. Zo zijn er bijvoorbeeld mogelijkheden gecreëerd om octrooi aan te vragen op vindingen die eerder niet konden worden geoctrooieerd, zoals computerprogramma's, genetisch gemodificeerde organismen en DNA-sequenties. Genetische hulpbronnen worden volgens de Biodiversiteitsconventie van 1992 niet langer beschouwd als het gemeenschappelijke erfgoed van de mensheid. Door al deze ontwikkelingen is het

publieke domein van algemeen toegankelijke kennis en vrij beschikbare hulpbronnen danig ingekrompen.

Het is twijfelachtig of het nieuwe internationale regime van intellectuele eigendom wel beantwoordt aan het doel om het algemene welzijn te bevorderen. Vooral ontwikkelingslanden lijken te worden benadeeld. De mogelijkheid tot het octrooieren van DNA-sequenties en 'research tools' roept het spookbeeld op van de 'tragedy of the anticommons'. Regelingen voor 'access and benefit-sharing', die de Biodiversiteitsconventie toestaat, komen tegemoet aan de belangen van inheemse volken, maar hebben ook een negatieve keerzijde. In combinatie met de proliferatie van intellectuele eigendomsrechten vergroten zij de transactiekosten voor internationale veredelingscentra als CIMMYT en IRRI om aan het benodigde uitgangsmateriaal te komen. De in november 2001 gesloten International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (ITPGRFA) moet de vrije uitwisseling van genetische hulpbronnen versterken, maar lijkt slechts in beperkte mate soelaas te kunnen bieden. Ook de desperate pogingen die de Rockefeller Foundation onderneemt om de belemmeringen voor de toepassing van nuttige biotechnologische vindingen in Afrika en elders uit de weg te ruimen, laten zien dat de marges van het mondiale regime van intellectuele eigendom heel krap zijn geworden.

## **Biotechnologisch onderzoek voor ontwikkelingslanden**

Nancy Terryn, Godelieve Gheysen en Marc Van Montagu

*Instituut Planten Biotechnologie voor Ontwikkelingslanden*

*K.L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent (FAX: +32 9 264 8795 e-mail: [nancy.terryn@ugent.be](mailto:nancy.terryn@ugent.be))*

Plantenbiotechnologie biedt verschillende mogelijkheden voor de landbouw in ontwikkelingslanden (zie bv Gressel et al, 2004). Tot vandaag werden evenwel te weinig projecten gerealiseerd die duidelijke voordelen voor de consumenten en boeren in de ontwikkelingslanden opleverden. Er is evenwel steeds meer internationale druk om de derde wereldlanden mee te laten genieten van de biotechnologie mogelijkheden.

In eerste instantie kan worden getracht bepaalde gewassen met een via genetische modificatie ingebracht kenmerk, ontwikkeld voor de geïndustrialiseerde landbouw in het Noorden, te gebruiken, eventueel via aanpassingen, voor lokale genotypes en noden in ontwikkelingslanden. Hier zijn vooral regelgevende problemen een struikelpunt op dit ogenblik. Anderzijds is ook dringend nood aan specifiek onderzoek op gewassen van belang voor deze regio's. De eerste succesvolle introducties van genetisch verbeterde gewassen in ontwikkelingslanden zijn bijvoorbeeld katoenplanten die bestand zijn tegen insecten, en papaya's resistent aan een klassiek moeilijk te bestrijden virus.

### **Referenties**

Gressel J, Hanafi A, Head G, Marasas W, Obilana B, Ochanda J, Souissi T, Tzotzos G (2004) Major heretofore intractable biotic constraints to African food security that may be amenable to novel biotechnological solutions CROP PROTECTION 23 (8): 661-689

## Desiccation stress tolerance studied in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*

Dorothea Bartels

*Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnologie der Pflanzen (IMBIO)  
Universität Bonn, Kirschallee 1, 53115 Bonn*

Our studies are focussed on the south african resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. Many genes are activated during the dehydration process. The gene products include genes encoding protective factors such as LEA genes or genes decreasing the effects of oxidative stress. *C. plantagineum* displays an unusual carbohydrate metabolism: fully hydrated leaves contain high levels of octulose, which is converted to sucrose upon dehydration. Some of the genes encoding protective gene products were tested in transgenic Arabidopsis plants for the ability to improve stress tolerance. It was shown that the ectopic expression of different members of the aldehyde dehydrogenase gene family lead to improved stress tolerance.

Knowledge of regulatory pathways is of particular importance, because they determine the correct expression of protective gene products. Transcription factors belonging to several different gene families seem to be modulated during dehydration. These transcription factors will be described and the search for target genes will be discussed. We focus some of our studies on members of the homeodomain leucine zipper genes (HDZIP). Selected HDZIP genes seem to be able to transactivate specific LEA genes.

### Stress tolerantie door trehalosemetabolisme.

Ramon Matthew<sup>1</sup>, Royackers Katrien<sup>1</sup>, Avonce Nelson<sup>2</sup>, Van Dijck Patrick<sup>1</sup>, Iturriaga Gabriel<sup>2</sup>, Thevelein Johan<sup>1</sup> and Leyman Barbara<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Molecular Microbiology, Flemish Interuniversity Institute for Biotechnology (VIB) and Laboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Botany and Microbiology, Katholieke Universiteit Leuven, Kasteelpark Arenberg 31, B-3001 Leuven-Heverlee, Flanders, Belgium.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología- UAEM, Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca 62210, Mexico.

Trehalose is een niet-reducerend disaccharide dat een hoge resistentie verschaft tegen stress condities zoals extreme temperaturen of droogte. Omwille van zijn sterk stabiliserend effect op biologische structuren is trehalose een belangrijke beschermende factor tegen stress bij micro-organismen en ook bij bijvoorbeeld de resurrectieplant *Selaginella lepidophylla*. Gist overleeft extreme stress situaties zoals droogte voor verschillende jaren op rij door grote hoeveelheden trehalose aan te maken. De synthese van trehalose is reeds goed gekarakteriseerd in *Saccharomyces cerevisiae*. Trehalose wordt aangemaakt in twee stappen: het TPS enzym, gecodeerd door *ScTPS1*, katalyseert de synthese van trehalose-6-fosfaat (T6P) uit UDP-glucose en glucose-6-fosfaat. T6P wordt op zijn beurt gefosforyleerd door TPP dat gecodeerd wordt door *ScTPS2*. *ScTps1* en T6P spelen eveneens een belangrijke regulatorische rol bij het metabolisme van glucose in de glycolyse. Niettegenstaande slechts minimale hoeveelheden trehalose in *Arabidopsis thaliana* worden aangetroffen werden elf trehalose biosynthese genen (*AtTPS1-11*) gevonden in het

genomisch DNA. Van deze genen is *AtTPS1* tot dusver het best gekarakteriseerd en is een essentieel gen dat de katalytische T6P synthase functie bevat. *AtTPS1* komt tussen bij embryo-ontwikkeling en suiker sensing van de plant. Wanneer de expressie van *AtTPS1* artificieel wordt verhoogd dan zien we een ongevoeligheid van de zaailingen voor glucose. Ondanks de kleine verhoging van de hoeveelheid trehalose, hebben deze transgene planten een uitgesproken verhoogde tolerantie voor droogtestress. Dit resultaat aangevuld door moleculair biologische analyse van de *AtTPS1* overexpressie planten in vergelijking met wild type planten duiden op een regulatorische rol van het *AtTPS1* gen in fundamentele signaaltransductie wegen van suikers en stress hormonen.

## **Regeneratie en transformatie van *Phaseolus* en cowpea.**

Nancy Terryn, Mukund Zambre, Marc Van Montagu and Geert Angenon\*

*Instituut Planten Biotechnologie voor Ontwikkelingslanden*

*K.L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent (FAX: +32 9 264 8795 e-mail: [nancy.terryn@ugent.be](mailto:nancy.terryn@ugent.be))*

\* huidig adres VUB, Brussel

Het doel van onze onderzoeksgroep is het gebruik van biotechnologie voor de identificatie en het gebruik van nieuwe genen om de genetische basis van *Phaseolus* en cowpea te verbreden.

Een belangrijk proces hierin is het genetisch modificeren via transformatie met interessante genen van deze peulvruchten. Wij hebben een protocol ontwikkelend en verbeterd voor het regenereren en transformeren via *Agrobacterium* van *Phaseolus* (Dillen *et al.*, 1997; De Clercq *et al.*, 2002, Zambre *et al.*, submitted). Met dit protocol kunnen we *P.acutifolius* of de tepary boon routinematig transformeren. Doordat *P.acutifolius* kan worden gekruist (zij het door embryo-rescue) met *P.vulgaris* is dit een indirecte manier om de gewone boon genetisch te verbeteren.

Studies in onze groep hebben zich gefocuseerd op de zaadopslag eiwitten gekend als arcelines. Deze zijn zeer abundante zaadopslag proteïnes gevonden in sommige wilde *P. vulgaris* genotypes. De kennis over deze eiwitten hebben we gebruikt in een project om het methionine gehalte in de bonen op te drijven, door overexpressie van met methionine verrijkte arceline proteïnes.

Tevens trachten wij het protocol voor regeneratie en transformatie zoals we dat voor *Phaseolus* hebben ontwikkeld toe te passen op cowpea. Deze peulvrucht is van groot belang voor Afrika en voor één van de grootste problemen, nl de Maruca podboorder, wordt een oplossing via biotechnologische weg voorgesteld. Tot op heden is echter nog geen reproduceerbaar protocol voor transformatie van cowpea via *Agrobacterium* beschreven.

### **Referenties**

- De Clercq J, Zambre M, Van Montagu M, Dillen W, Angenon G (2002) An optimized *Agrobacterium*-mediated transformation procedure for *Phaseolus acutifolius* A. Gray PLANT CELL REP 21 (4): 333-340
- Dillen W, DeClercq J, Goossens A, VanMontagu M, Angenon G (1997) *Agrobacterium*-mediated transformation of *Phaseolus acutifolius* A Gray THEORETICAL AND APPLIED GENETICS 94: (2) 151-158
- Zambre M., Cardona C., Van Montagu M., Terryn N., and Angenon G. An efficient and reproducible *Agrobacterium* mediated transformation system for cultivated *phaseolus acutifolius* (teparty bean) submitted to Theoretical and Applied Genetics

## Soma-clonale variatie in *Lathyrus sativus*

Fernand Lambein en Yu-Haey Kuo

Universiteit Gent, Instituut Planten Biotechnologie voor Ontwikkelingslanden (IPBO), K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Gent, België. e-mail: fernand.lambein@ugent.be

*Lathyrus sativus* of "zaailathyrus" is een droogte-resistent gewas dat in streken met een droogteprobleem van het Indische subcontinent en Ethiopië aanzien wordt als een levensverzekering. Bij droogte vormt het soms het enige voedsel en die eenzijdige voeding kan aanleiding geven tot epidemieën van het irreversibel verlamdend lathyrisme (Getahun et al., 1999). Sedert de ontdekking van een neurotoxine  $\beta$ -ODAP ( $\beta$ -N-oxalyl- $\alpha,\beta$ -diaminopropionische acid) in 1964 werden kruisingen en mutanten geproduceerd en geselecteerd voor lager neurotoxine. Inductie van callus-weefsel uitgaand van verschillende delen van de plant is eenvoudig en werd gebruikt voor de studie van de biosynthese van het neurotoxine. Het wordt in callus weefsel aangemaakt in aanwezigheid van de precursor  $\beta$ -(isoxazolin-5-on-2-yl)-alanine.

Verschillende regeneratie protocols werden gebruikt in meerdere laboratoria, met de bedoeling via somaclonale variatie en genetische transformatie de plant toxine-vrij te maken. Er werden somaclonen met laag toxine-gehalte geselecteerd maar nog niet volledig toxine-vrij.

We kregen efficiënte regeneratie met callus van apicale meristemen en van de zaadlobben (Zambre et al. 2002). Het rendement kon verhoogd worden door scheuten die niet wortelen te enten op aseptisch gekweekte kiemplantjes. Uitgaand van een variëteit met zeer laag toxine (0.014 %), vonden we geen verdere daling in de regeneranten (0.012-0.183%). Twee generaties verder blijft het toxine-gehalte zonder significant verschil (0.013-0.074%).

Transformatie van callus weefsel is in verschillende laboratoria uitgevoerd, maar voorlopig zonder regeneratie. *L. sativus* blijft een recalcitrante plant.

### Referenties:

Getahun H., Mekonnen A., Teklehaimanot R., Lambein F.: Epidemic of neurolathyrism in Ethiopia. The Lancet 354, 1999, p 306-307.

Zambre M., Chowdhury B., Kuo Y.-H., Van Montagu M., Angenon G., Lambein F.: Prolific regeneration of fertile plants from green nodular callus induced from meristematic tissues in *Lathyrus sativus* L. (grass pea). Plant Science 163, 2002, 1107-1112.