



NVPW

Voorjaarssymposium 2008

14 Maart 2008

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

Hotel De Nieuwe Wereld - Marijkeweg 5 - Wageningen

- 9:30 Registratie en koffie
- 10:00 Opening door de voorzitter: **Titti Mariani**
- 10:10 **Dolf Weijers** (Laboratory of Biochemistry, Wageningen UR)
Auxin response networks in early plant embryogenesis
- 10:40 **Jenny Russinova** (Plant Systems Biology Universiteit Gent)
A chemical genetic approach to brassinosteroid signaling
- 11:10 **Bernard de Geus** (TTI Groene Genetica)
State of Art of the Dutch Plant Sciences in 2025
- 11:40 **Evert Jacobsen** (Laboratory of Plant Breeding, Wageningen UR)
Het belang van cisgenese voor de klassieke plantenveredeling
- 12:15 **Lunch**
- 13:00 **NVPW Ledenvergadering**
- 13:45 **Jan Cordewener** (Plant Research International, WUR)
Proteomics en Plantenveredeling
- 14:15 **Marcel Proveniers** (Molecular Plant Physiology, Utrecht University)
Control of flowering time
- 14:45 **Henk Hilhorst** (Laboratory of Plant Physiology, Wageningen UR)
Mechanismen en regulatie van rust in planten en zaden
- 15:15 **Sandra van Bergen** (Fytagoras BV, Leiden)
Non-invasieve gasmetingen; Een nieuwe tool voor weefselkweek?
- 15:45 Sluiting met drankjes

AUXIN RESPONSE NETWORKS IN EARLY PLANT EMBRYOGENESIS

Dolf Weijers

Laboratory of Biochemistry, Wageningen University, Dreijenlaan 3, 6703 HA Wageningen. NL
e-mail: dolf.weijers@wur.nl web-site: <http://gcg.tran.wau.nl/local/Biochem/research/sigtrans2.htm>

The main focus of our lab is the initiation of the meristems in the plant embryo. We have previously established that specification of the root meristem founder cell is controlled by a pair of transcription factors that mediate responses to the plant hormone auxin. Recently, we found that auxin-dependent transcription factors (ARFs) control early plant embryogenesis at many other levels. I will present the results from our efforts to systematically dissect the mechanisms of auxin-dependent transcription in early plant embryogenesis.

A CHEMICAL GENETIC APPROACH TO BRASSINOSTEROID SIGNALING

Jenny Russinova

Department of Plant Systems Biology, VIB, University of Ghent, Technologiepark 927, 9052 Gent, Belgium
e-mail: eurus@psb.ugetn.be web-site: <http://www.psb.ugent.be/>

Brassinosteroids (BRs) are plant steroidal hormones implicated in multiple developmental processes. BRs are perceived at the cell surface by direct binding to the plasma membrane-localized receptor, BRI1. Activation of BRI1 in turn modulates the phosphorylation state of two downstream BR response transcription factors (BRFs). The phosphorylation state of BRFs is fine-tuned by the counteraction of two protein families: BIN2 glycogen synthase kinase 3 (GSK-3)-like kinase and BSU1 phosphatase. Dephosphorylated BRFs bind to the promoters of BR-responsive genes and regulate transcription. Most of the known players in the BR signaling cascade have been identified by using traditional forward and reverse genetic approaches. However, redundancy has hampered phenotype based mutant screens as key players in BR signaling belong to multigene families. We applied a chemical genetic approach to identify novel BR signaling components. The isolation of a novel chemical activator of BR signaling and its implications for plant growth will be discussed.

HET BELANG VAN CISGENESE VOOR DE KLASSIEKE PLANTENVEREDELING

Evert Jacobsen

Laboratorium voor Plantenveredeling, Plant Science Group, Wageningen Universiteit. Droevendaalsesteeg 1 6700 AA Wageningen.
e-mail: evert.jacobsen@wur.nl website: <http://www.pbr.wur.nl/NL/>

Cisgenese is het toepassen na insertie van gekloneerde natuurlijke genen van de plant zelf of van kruisbare soorten in het betreffende gewas. Noodzakelijk hierbij is dat genetische modificatie, zonder aanwezigheid van selectiegenen in het eindproduct, wordt toegepast. Het gaat hierbij om genen die tot de genenbron van de klassieke veredeling behoren en dus niet nieuw zijn. Dit in tegenstelling tot transgenen die (deels) van andere organismen of niet kruisbare soorten afkomstig zijn. Deze genen zijn nieuw voor de plantenveredeling en daarvoor is nieuwe regelgeving bedacht. De EU-Directive 2001/18/EC is hier het resultaat van. Deze is op transgenen gebaseerd maar geldt nu ook voor cisgenen vanwege de technologie die toegepast is maar niet voor wat betreft de cisgenen die toegevoegd worden. Op dit moment vallen in onze ogen deze cisgenen vanwege de herkomst van het genetisch materiaal, nml de bestaande genenbron, ten onrechte onder deze Directive.

Cisgenese is in potentie een zeer belangrijke aanvulling op de klassieke plantenveredeling die vooral de inbreng van genen uit wilde soorten kan vereenvoudigen. Deze vereenvoudiging heeft vooral betrekking op de introgressie en geïnduceerde translocatie van gewenste eigenschappen die normaal via soortkruising en herhaalde terugkruisingen ingebracht worden. Deze werkwijze gaat echter altijd gepaard met het gelijktijdig binnen brengen van gekoppelde eigenschappen (linkage drag) die een negatieve impact kunnen hebben. Meiotische recombinatie in meerdere terugkruisingen is hierbij nodig om dit probleem op te lossen. Vooral als het om het inbrengen van meerdere eigenschappen tegelijk gaat speelt linkage drag hierbij vaak een onoverkomelijke rol.

Cisgenese is hierbij een eenvoudig alternatief. Na klonering van de gewenste genen kunnen deze vaak via merker-vrije genetische modificatie ingebracht worden. Een eenvoudige bijstelling van de bestaande regelgeving is hiervoor cruciaal. Deze bijstelling moet de vrijstelling van cisgenese in de Directive 2001/18/EC omvatten, zoals dat ook voor geïnduceerde mutaties en protoplastenfusies van kruisbare soorten gedaan is. Deze aspecten zullen hier nader besproken worden waarbij (resistentie)veredeling bij aardappel en appel als voorbeeld zullen dienen.

PROTEOMICS AND PLANT BREEDING

Cordewener, JHG^{1,3}, America, AHP^{1,3}, van der Wal F^{1,3}, Stuhlemer IJE², Joosten MHAJ²

¹ Plant Research International, Wageningen UR, PO Box 16, 6700 AA Wageningen, ² Department of Phytopathology, Wageningen UR, ³ Center for BioSystems and Genomics, Wageningen
e-mail: Jan.Cordewener@wur.nl; Twan.America@wur.nl website: <http://www.pri.wur.nl/>

At Plant Research International we perform proteomics analysis applied to plant breeding, plant quality and plant resistance. Proteomic techniques like 2D-gels using DIGE labeling, as well as LC-MS methods developed for quantitative analysis of complex protein mixtures, will be presented.

In a potato breeding project we performed 2D-DIGE analysis of multiple individual siblings from a crossing of two diploid potato lines. The aim of the project is to find marker proteins related to desired quality characteristics, so relating the proteome to phenotype and genotype. Based on potato quality parameters two groups of siblings were selected from the off-spring. From 30 lines detailed proteome analysis was performed on potatoes harvested in 2002 and 2003. In total 74 2D gels were run, each containing two samples plus an internal standard, resulting in 222 gel images. The gel images were matched using Decyder software. Statistical tests revealed significant differences between the two classes of siblings. Identification of the differential protein spots is currently underway.

In addition to 2D gel analysis we have implemented a new comparative LC-MS approach for highly detailed quantitative comparison of complex peptide mixtures. As an example of this approach we will present data from an analysis of the extracellular liquid (apoplast) of tomato leaf during the infection process with the fungus *Cladosporium fulvum*.

Apoplast was collected from susceptible and resistant plants at three time points after inoculation. Proteins were extracted and after tryptic digestion analyzed using a nano-UPLC-QTOF instrument. In total approx. 6250 peaks were identified in 18 LC-MS runs (including replicate runs), providing highly detailed quantification and identification of differential peptides/proteins.

CONTROL OF FLOWERING TIME

Bas Rutjens, Evelien van Eck-Stouten, Sjef Smeekens en Marcel Proveniers

Molecular Plant Physiology, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH, Utrecht, NL
e-mail: m.c.g.proveniers@bio.uu.nl website: <http://www.bio.uu.nl/mpp/research/plantarchitecture/>

The transition from vegetative to reproductive growth is a highly plastic developmental process that requires continuous monitoring of environmental factors, such as day length, light quality, prolonged cold (vernalization). Understanding of these plant-environment interactions and the underlying signalling processes holds significant potential for advances in agriculture, horticulture and flower industries. Edible products such as fruits and seeds are directly dependent on timely flowering and successful seed set. Importantly, flowering at an inappropriate time can result in crop failure or severely reduced yield in many species.

In Arabidopsis the antagonistic action of promotion and repression pathways prevents the switch from vegetative to reproductive growth until the developmental state of the plant and favourable environmental conditions allow floral transition. This activity is antagonized by floral repressors, of which FLC is the most prominent. High levels of the floral repressors prevent the SAM to respond to the promotive signals. We have identified the BELL homeobox genes *ATH1* and *PNY* as specific, positive regulators of FLC. As a result, *ATH1* and *PNY* function as floral competency modulators of the Arabidopsis vegetative shoot apical meristem. This ability expands to non-related plant species and can be used in these species to control flowering time.

MECHANISMEN EN REGULATIE VAN RUST IN PLANTEN EN ZADEN

Henk Hilhorst

Laboratorium voor Plantenfysiologie, Wageningen UR, Arboretumlaan 4, 6703BD Wageningen.
e-mail: Henk.Hilhorst@wur.nl Website: <http://www.seedcentre.nl/index.htm>

De term 'rust' of 'dormantie' verwijst naar de toestand van een plant of plantenorgaan die wordt gekarakteriseerd door metabolische inactiviteit en afwezigheid van ontwikkeling en groei. Rust komt voor in zaden, bollen, knollen, knoppen en hele planten. Het is een adaptieve eigenschap die tijdens de evolutie is ontstaan door selectie van de capaciteit om langdurige perioden van ongunstige klimaatscondities, zoals hitte, koude en droogte, te overleven. Het fenomeen 'rust' komt dan ook vaak voor in combinatie met uitdroogtolerantie en kouderesistentie. Rust in de plantenwereld wordt vooral bestudeerd aan knoppen en zaden. Er zijn veel overeenkomsten gevonden in de regulatie van rust in zaden en knoppen in reactie op externe signalen. Deze overeenkomsten berusten op het feit dat in beide gevallen meristeen cellen worden geactiveerd of geïnactiveerd door veranderingen in de omgeving.

NON INVASIVE GASMETINGEN; EEN NIEUWE TOOL VOOR WEEFSELKWEK

Sandra van Bergen, Arie Draaijer, Marijke Kottenhagen

Fytagoras, Postbus 2215, 2301 CE Leiden, NL

e-mail: Sandra.vanbergen@fytagoras.nl website: <http://www.fytagoras.nl>

Fytagoras is een 100% dochteronderneming van de Nederlandse Organisatie TNO, ontstaan uit de voormalige afdeling Toegepaste Plantwetenschappen. Fytagoras richt zich als onderzoeksbedrijf onder andere op zaadtechnologie, inhoudsstoffen, veredeling en sensorontwikkeling. Sinds kort heeft zij de beschikking over kennis en innovatie op het gebied van optische sensortechnologie. Onder andere een optische zuurstofsensor wordt ingezet en verder ontwikkeld voor de glastuinbouw (b.v. voor het meten van zuurstof in steenwol matten). Het zelfde type sensor wordt inmiddels verkocht in de Q2 zaadscanner, waarmee zaadkieming wordt bepaald door meting van de zuurstofconsumptie van kiemende zaden. Vragen die er liggen in de weefselkweek omtrent de samenstelling van de gasfase in een weefselkweek container hebben er toe geleid te onderzoeken of er mogelijkheden zijn deze zuurstoftechnologie toe te passen in de weefselkweek.

Eerste experimenten waarbij planten in gesloten container op weefselmedia zijn gekweekt tonen aan dat verschillen in suikergehalte en hoeveelheid licht een invloed hebben op de hoeveelheid zuurstof in de container. Ook de mogelijkheid om andere gassen op deze basis te meten wordt nader onderzocht.