



NVPW

Najaarssymposium 2008

24 Oktober 2008

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

Gorleaus Laboratorium, zaal 3, Einsteinweg 55, Universiteit Leiden

- 09:30 **Registratie en koffie**
- 09:55 Opening door de voorzitter: **Titti Mariani**
- 10:00 **Eloy Boon** (IRIBOV B.V., Heerhugowaard)
Detectie van bacteriële contaminatie in weefselweekplanten met behulp van flow-cytometrie.
- 10:30 **Narda van der Harst** (Floricultura B.V., Heemskerk)
Weefselweek in de praktijk, Wetenschap of Ambacht.
- 11:00 **Presentatie Clean Air Techniek**
- 11:05 **Koffiepauze**
- 11:20 **Joachim Mörbel** (CSS – Systemhaus Schlegel oHG, Stuttgart, Germany)
Automated culture management and integrated lab planning with *In Vitro Soft®*
- 11:50 **Michel van Leeuwen** (SBW International B.V., Roelofarendsveen)
Effecten van implementatie van *In Vitrosoft®* op de organisatie van het SBW
- 12:20 **Lunch**
- 13:30 **Kees Boot** (Plant BioDynamics Laboratory, Universiteit Leiden)
Een rol voor polair auxine transport bij regulatie van planten-architectuur.
- 14:00 **Kai Ament** (Swammerdam Institute for Life Sciences, Universiteit van Amsterdam)
Vluchtige stoffen als signaal in de tomaat – witte vlieg interactie
- 14:30 **Koffiepauze**
- 15:00 **Paweena Pumisutapon** (Plant Breeding, Wageningen University and Research)
Apicale dominantie bij *Alstroemeria*
- 15:30 **Carla van Eijk** (Van Zanten Plants B.V, Rijsenhout)
Vermeerdering van *Limonium* via wortelcultuur
- 16:00 **Afsluiting onder het genot van een drankje.**

DETECTIE VAN BACTERIËLE CONTAMINATIE IN WEEFSELKWEKPLANTEN MET BEHULP VAN FLOW-CYTOMETRIE.

Eloy Boon en Joke Dragt

IRIBOV B.V., Heerhugowaard

Contaminatie met bacteriën is een van de problemen die altijd aanwezig is bij weefselkweekproductie. Een cultuur kan visueel schoon zijn maar latent kunnen bacteriën wel aanwezig zijn. Deze latente infecties kunnen echter onder bijvoorbeeld stress condities met grote gevolgen op geproduceerde aantallen planten en/of plantkwaliteit.

Daarnaast is er het toenemend gebruik van weefselkweeksystemen met vloeibaar medium waarbij de eisen die gesteld worden aan bacterievrij zijn veel hoger.

In conventionele vermeerdering is visuele waarneming van contaminatie vaak voldoende om productiepartijen "schoon" produceerbaar te houden. Vaak worden daarnaast algemene en/of specifieke bacteriemediën gebruikt om latente besmetting aan te tonen.

In de voedingsindustrie wordt flowcytometrie veelal gebruikt voor detectie van contaminatie met bacteriën en gist. Voordeel hiervan is dat de tijd tussen bemonstering en resultaat aanzienlijk korter kan zijn wanneer vergeleken met toetsing op bacterie media. Daarnaast bestaat er ook dat er mogelijkheid is tot automatisering van de analyses.

Bekeken is of flowcytometrie ook bruikbaar kan zijn voor detectie van contaminatie in weefselkweek en is een vergelijking is gemaakt met de alternatieve methoden.

WEEFSELKWEK IN DE PRAKTIJK, WETENSCHAP OF AMBACHT?

Narda van der Harst

Floricultura B.V. Postbus 100, 1960 AC Heemskerk

Het is niet zo gebruikelijk dat productiebedrijven op het gebied van plantenweefselkweek een voordracht verzorgen. Het verzoek van de NVPW aan "het bedrijfsleven" om hier verandering in te brengen is begrijpelijk. Hierdoor kunnen de theoretische en wetenschappelijke voordrachten afgewisseld worden met die van een doelgroep van die wetenschap, de bedrijven die de theorie in de praktijk brengen. Heeft dit inhoudelijk dan nog met wetenschap te maken? Of is het "maken" van planten puur een ambacht?

In deze lezing zal ik proberen de link met de wetenschap te leggen. Wat komt er kijken bij het op grote schaal produceren van planten met behulp van weefselkweek?

Het vermeerderen van planten in grote aantallen, van 100 tot meer dan 1 miljoen, vergt de nodige inventiviteit. Ondervonden hindernissen vergen acuut een oplossing. Is trouble-shooting wetenschap?

Bij voordrachten, publicaties, congressen over weefselkweek komt de mens als variabele eigenlijk niet of weinig voor. Maar is de rol van de mens bij het gehele weefselkweekproces wel te verwaarlozen en wat doet de wetenschap hiermee?

AUTOMATED CULTURE MANAGEMENT AND INTEGRATED LAB PLANNING WITH *INVITROSOFT*®

Dr. Joachim Mörbel,

CSS – Systemhaus Schlegel oHG, Stuttgart, Germany

The software *invitrosoft*® is a complete solution for the production of plants in laboratories and greenhouses. It is a barcode-based system which ensures mix-up free production and precise and efficient planning of all activities. The system is designed to integrate production in different sites and countries. The modular structure of the software enables expansion of the functions at any time.

The first version of *invitrosoft*® was created in 1999 for a German strawberry propagation lab. Now version 5.0 of the software is available and 20 labs worldwide use *invitrosoft*®. The system is customized for every lab and adjusted to the specific work-flow and requirements.

The fundamental advantage of a barcode-based system is the possibility to generate all data in the production process by scanning and printing labels. No further handwritten labels and work documentation is necessary and manual data entry is reduced to a minimum. All information and data on the plants are integrated into one system. To put it into a simplified model: if you want to open a jar with plants in the sterile bench for propagation, you scan in the label for identification first. The amount of plants in your stock is reduced by one jar now. If two new jars are produced, these two jars are added to your stock when the labels for the new jars are printed. No further handwritten documentation needs to be done by the lab worker. The data are available in real-time and represent the current status of plant production. Besides information on how many plants were used and how many were produced, the system automatically logs relevant information in the background like propagation factor, plants per hour etc. All these data allow an efficient lab-planning of all activities like maintenance, propagation, rooting, delivery etc. The software enables calculations, if requested amounts of plants can be delivered at different dates and the production process can be controlled in all steps. From confirmation of an order and production planning to packing list and invoice, *invitrossoft®* supports all aspects of managing plant production. The lab planning has direct feedback from the production process, for example reduction of available plants because of infections. Detailed examples of lab-planning with *invitrossoft®* will be demonstrated at the conference.

There are further modules to integrate different functions. For example, the testing module manages results from pathogen tests and true-to-type tests, the greenhouse module extends the barcode-system to greenhouse production. A brief description of all modules will be presented at the conference.

REAL-TIME INZICHT IN WERELDWIJDE VOORRAAD! OPTIMALE BENUTTING VAN BESCHIKBARE MENSEN EN MIDDELEN! 100% INZICHT IN DE KOSTPRIJS PER WEEFSELKWEKPLANT EN TERUGDRINGEN ONNODIGE INVENTARIS! EN WAT DAARVOOR NODIG IS...

Michel van Leeuwen

SBW International B.V., Roelofarendsveen

Bovenstaande leuzen zijn duidelijk bedoeld om potentiële weefselweek laboratoria als klanten te lokken die zoeken naar een bedrijfsmatige software oplossing. Eigenlijk klinkt het ook als het soort programma dat elk bedrijf nodig heeft om alle beschikbare middelen in te zetten en daar het beste potentieel uit te halen. Stel nou dat je denkt zo'n programma gevonden te hebben, en je wilt je niet bij de 50%¹ horen waarbij het programma het beoogde doel niet of slechts gedeeltelijk haalt. Wat moet er dan gebeuren en wat heeft dit voor effect als laboratorium zijnde op je organisatie?

Bij SBW (Stichting Bedrijfslaboratorium Weefselweek) verkeren we al enkele maanden in de veronderstelling dat we met *invitrossoft®* een dergelijk pakket hebben gevonden, en om nu te zeggen dat bovenstaande mogelijkheden onder handbereik zijn is weliswaar nog prematuur maar.....

SBW heeft er alle vertrouwen dat deze doelen haalbaar zijn, het is meer de vraag wanneer. Daarom zal ik vertellen wat wij hebben gedaan en wat hier de voorlopige resultaten en toekomst perspectieven van zijn voor de productie van weefselweek materiaal.

¹ Enterprise Resource Planning (ERP) software onderzoek Ernst & Young, (<http://www.ey.nl/?pag=5087>)

EEN ROL VOOR POLAIR AUXINE TRANSPORT BIJ REGULATIE VAN PLANTENARCHITECTUUR ?/ !

Kees Boot

Plant BioDynamics Laboratory, Universiteit Leiden e-mail: c.j.m.boot@biology.leidenuniv.nl

De laatste jaren is er over het werkingsmechanisme van auxine in planten steeds meer duidelijk geworden. Er is vooral veel vooruitgang geboekt over de manier waarop auxine genexpressie reguleert met behulp van receptoren en repressors. Maar over de snelle effecten van auxine op met name membraanprocessen zoals regulatie van ionenkanalen, protonpompen en transportprocessen waar geen nieuwe genexpressie en eiwitinductie direct voor nodig zijn bestaan nog steeds veel vraagtekens. Een van de bijzondere aspecten van auxine is het feit dat het als enige plantenhormoon specifiek en polair getransporteerd kan worden in planten. De belangrijke rol van dit transport voor de ontwikkeling van de plant is aangetoond bij processen als zijwortelvorming, apicale dominantie, adventief beworteling, ontwikkeling van vaatbundels en foto- en gravitropie. Toch is dit polair transport nog steeds niet goed begrepen. In het PBDL hebben wij daarom een begin gemaakt met het bestuderen van dit transport. We hebben een methode ontwikkeld waarbij we het transport kunnen meten en wiskundige modellen ontwikkeld om de data te beschrijven. Deze manier van werken geeft een goed beeld van de dynamiek en de kinetiek van het polaire auxine transport en levert parameters op die een belangrijke rol spelen bij dit transport. Een volgende stap is om deze kennis te gebruiken om in de toekomst de plantenarchitectuur mogelijk te kunnen sturen.

VLUCHTIGE STOFFEN ALS SIGNAAL IN DE TOMAAT-WITTE Vlieg INTERACTIE

Kai Ament¹, Petra Bleeker^{1,2}, Paul Diergaarde², Michel Haring¹, Michiel de Both², Robert Schuurink¹

¹ Universiteit van Amsterdam, Swammerdam Institute for Life Sciences, Afd. Plant Fysiologie, Kruislaan 318, 1098 SM Amsterdam

² Keygene N.V., Agrobusiness Park 90. P.O. Box 216, 6700 AE Wageningen

GEDURENDE DE afgelopen decennia heeft de wereldwijde verspreiding van de schadelijke insecten zoals Bemisia (tabakswittevlieg) en Trialeurodes (kaswittevlieg) geleid tot dramatische oogstreductie van zowel agrarische als sier gewassen. De directe schade, veroorzaakt door het foerageergedrag van de witte vlieg wordt ver overschaduwd door de indirecte schade die het insect aanricht. Witte vlieg kan bijzonder schadelijke plantenvirussen verspreiden. Bemisia tabaci is in staat meer dan 100 verschillende virussen over te dragen waaronder de schadelijke Begomovirussen TYLCV (Tomato Yellow Leaf Curl Virus) en TMV (Tomato Mottle Virus). Het inkruisen van virusresistentiegenen uit wilde tomatensoorten is geen duurzame oplossing. Virussen zijn zeer veranderlijk en kunnen een dergelijke resistentie snel doorbreken.

Wij stellen een nieuwe gewasbeschermingsstrategie voor om virusoverdracht te voorkomen. Bij het initiële keuzegedrag van de witte vlieg voor de gastheerplant spelen visuele-, alsmede geursignalen een rol. Het is bekend dat voornamelijk terpenoïden en vetzuurderivaten, welke constitutief door de plant worden geproduceerd, een belangrijke rol spelen in de keuze van gastheer plant. Door veranderingen in het geurstofboeket zouden tomatenplanten meer afstotend ofwel minder aantrekkelijk gemaakt kunnen worden voor witte vlieg. In dit project is onderzocht welke geurstoffen, van tomaat een afstotende werking hebben op Bemisia. Met een biotoets is onderzocht of geurstoffen van verschillende wilde tomatensoorten het voorkeursgedrag van de witte vlieg beïnvloeden. Met de identificatie van verscheidene 'afstotende' terpenen is het mogelijk de productie van deze stoffen in tomatenplanten te beïnvloeden door specifieke onderdelen in de terpeensyntheseroute aan te passen.

APIKALE DOMINANTIE BIJ ALSTROEMERIA

Paweena Pumisutapon, Richard Visser en Geert-Jan de Klerk

Plant Breeding, WUR; e-mail: paweena.pumisutapon@wur.nl

Alstroemeria planten zijn opgebouwd uit vertikaal groeiende scheuten en horizontaal groeiende rhizomen (en wortels). Bij een knoop groeit de rhizoom-apex niet horizontaal maar vertikaal verder en vormt een nieuwe verticale scheut. Het rhizoom wordt gecontinueerd doordat de onderste okselknop van de verticale scheut uitgroeit als rhizoom. De groei van het rhizoom is dus sympodiaal. Vermeerdering in vitro berust op het geforceerd uitlopen van de op-één-na onderste okselknop in de scheut (deze okselknop wordt hierna 2^o okselknop genoemd). Door sterke apikale dominantie is de vermeerderingsfactor laag (1.2–1.8 per 4 weken). Wij onderzoeken het mechanisme van apikale dominantie in *Alstroemeria*. Het standaard explantaat in ons onderzoek bestaat uit een stukje rhizoom met top en twee verticale scheuten.

Recent onderzoek bij Arabidopsis, erwt en petunia heeft laten zien dat bij apikale dominantie naast auxine en cytokinine een derde signaalmolecuul betrokken is, een carotenoïde. In erwt bleek dit strigolacton te zijn. Verondersteld wordt dat auxine dat geproduceerd wordt in de top, uitgroei van okselknoppen via twee mechanismen regelt. Volgens het eerste mechanisme remt auxine aanmaak van cytokinine in stengel en wortel, en remt daardoor de uitloop van okselknoppen. Volgens het tweede groeien okselknoppen niet uit omdat ze hun overmaat auxine niet naar de stengel kunnen exporteren omdat daar het auxinetransport systeem verzadigd is. Het carotenoïd-hormoon reduceert de capaciteit van het auxinetransport systeem. Als door mutatie de aanmaak van het carotenoïde wordt platgelegd, is er meer auxintransport-capaciteit in de stengel, kunnen de okselknoppen auxine naar de stengel transporteren en lopen ze uit. Naar verwachting remmen auxinetransport-remmers (TIBA of NPA) bij het eerste mechanisme okselknopuitloop terwijl ze bij het tweede juist bevorderen. NPA heeft bij Arabidopsis inderdaad beide verwachte effecten.

Wij onderzochten in *Alstroemeria* uitloop van de 2^o okselknop na verwijdering van de toppen van de verticale scheuten en/of van het rhizoom. Vier verschillende explantaten werden getest:

- +R+2S, zowel scheuten als rhizoom intact;
- +R-2S: het rhizoom intact en de scheuttoppen verwijderd;
- R+2S: de rhizoomtop verwijderd, de scheuten intact;
- R-2S: de toppen van zowel rhizoom als scheuten verwijderd.

Het experiment werd gedaan met twee cultivars die gelijke resultaten gaven. -R-2S had de meeste en +R+2S de minste uitgroei van de 2^o okselknop. +R-2S en -R+2S lagen hier tussen. De 2^o okselknop werd dus geremd door zowel scheuttop als rhizoomtop. Apikale dominantie kon worden hersteld door de afgesneden toppen te vervangen door lanoline pasta met IBA (30 mg·g⁻¹). Beide typen toppen remmen de uitgroei van de 2^o okselknop dus via auxine dat in de stengel vanuit de top omlaag wordt getransporteerd. Dit is op het eerste gezicht opmerkelijk wat betreft de rhizoomtop, omdat die in de stengel onder de 2^o okselknop is gelokaliseerd en het auxine uit de rhizoomtop dus niet langs de 2^o okselknop wordt getransporteerd. Door toediening van een remmer van de carotenoïde synthese (fluridon) werd de uitgroei van de 2^o okselknop sterk bevorderd terwijl TIBA het effect van fluridon weer te niet deed. In *Alstroemeria* is dus eenzelfde mechanisme als in Arabidopsis. Dit zal verder onderzocht worden o.a. door het auxine transport te meten, de hoeveelheid strigolacton te bepalen en het synthetische strigolacton GR24 toe te dienen.

VERMEERDERING VAN LIMONIUM VIA WORTELCULTUUR

Carla van Eijk en Wim Rook

Van Zanten Plants B.V., Lavendelweg 15, 1435 EW Rijsenhout,

Vermeerdering van gewassen via weefselkweektechnieken is i.h.a. een dure methode. Een aantal weefselkweekbedrijven zijn daarom samen met PRI/PPO gestart met het project "Weefselkweek in het Donker" met als doel het terugdringen van deze kosten. Hierbij zijn twee benaderingen onderzocht, namelijk scheutcultuur in het donker en wortelcultuur. Van Zanten Plants heeft zich binnen dit onderzoek vooral gericht op de vermeerdering van Limonium via wortelcultuur. In deze lezing zullen de resultaten van dit onderzoek gepresenteerd worden.