

# PLANTEN DIE ZADEN PRODUCEREN MET EEN DOOD EMBRYO : HET TERMINATOR SYSTEEM

Prof. Dirk Reheul, Universiteit Gent

## 1. Inleiding

USA, maart 1998. Het octrooi, patent number 5.723.765, met als titel « Control of Plant Gene Expression » maakt ophef. Het heeft als doel « ...to protect plant varieties form seed savers.... ». Het middel is duidelijk : « F<sub>2</sub>-embryo's are inviable ». De eigenaars van het octrooi zijn het bedrijf Delta and Pine Land Company (actief in katoenzaden) en het USDA (United States Department of Agriculture), het Amerikaans Departement van Landbouw. Spoedig wordt de vinding bekend als TPS (Technology Protection System) bij de optimisten of als Terminator bij de pessimisten.

## 2. Achtergrond

Met deze ontdekking zitten we middenin de plantenveredeling. Plantenveredeling is vele eeuwen een activiteit van landbouwers geweest. Men selecteerde uit de gewassen die men verbouwde de « beste » planten en gebruikte die planten of hun zaden om een volgende generatie voort te brengen. Rond het midden van de 19<sup>o</sup> eeuw ontstonden de eerste plantenveredelingsactiviteiten *los* van de productielandbouw : sommigen zagen meer brood in het produceren van zaaizaad dan in het produceren van landbouwgewassen. In de eerste helft van de 20 ste eeuw werden in Europa veel « veredelingsstations » opgericht : overheidsinstellingen waar planten veredeld werden. Die overheidsbedrijven lieten zich zelden in met de commercialisatie van nieuwe rassen. Dat deden private bedrijven die meteen ook zelf actief werden in de veredeling en zo kennis en handel koppelden. Vandaag zijn de overheidsbedrijven quasi overal verdwenen en de plantenveredeling is hoofdzakelijk een private activiteit geworden.

De veredeling van planten verloopt ruwweg in twee grote fasen : (1) het creëren van superieure planten en (2) het produceren van vermeerderingsmateriaal van deze superieure planten om het te gebruiken in de land- en tuinbouw. Ik schrijf met opzet « vermeerderingsmateriaal » omdat deze term zowel zaden als vegetatieve plantendelen omvat.

Hoe superieure planten worden gemaakt, laten we hier buiten beschouwing. Eens ze gemaakt zijn, moeten ze vermeerderd worden, via (a) zaad of via (b) stekken, knollen, bollen of in vitro vermeerdering. *In geval (a) hebben we het over generatieve vermeerdering, in geval (b) over vegetatieve vermeerdering.*

*Bij de vegetatieve vermeerdering* dient zich meteen een kies probleem aan : eens een goede plant gemaakt, kan iedereen er mee aan de slag. Je koopt bv. een mooie rozestruik en als je kunt oculeren, maak je zelf een onbeperkt aantal nieuwe planten. Voor de oorspronkelijke kweker is zoiets niet aangenaam, want hij verkoopt niet veel rozen en recupereert nauwelijks de gemaakte veredelingskosten... Dezelfde mogelijkheden doen zich voor bij *zelfbestuivende planten*, zoals onze graangewassen (met uitzondering van de rogge die een kruisbestuiver is). Zelfbestuivers zijn « zaadvast », wat wil zeggen dat het zaad dat je erop wint (de nabouw), genetisch identiek is aan het oorspronkelijke zaad.

**Sinds enkele decennia bestaan er daarom wettelijke regels die de rechten van de oorspronkelijke kweker beschermen : het kwekersrecht. *In principe* mag je de nabouw (farm saved seed) niet als zaaizaad gebruiken en waar het wel kan en mag, betaalt de gebruiker een bedrag aan de oorspronkelijke kweker. Hetzelfde geldt voor de vegetatief vermeerderde gewassen.**

*Kruisbestuivers* zijn bijzonder : alle nakomelingen zijn in principe verschillend van elkaar en van de ouders (denk aan jezelf). Rassen van kruisbestuivers zijn dan ook niet homogeen en dat is in onze land- en tuinbouw vaak een nadeel. Mechanisatie bv gaat makkelijker als een gewas homogeen is. Wie « zaad spaart » van kruisbestuivers, krijgt nooit meer exact hetzelfde gewas terug. Soms is dat erg, soms ook niet. Wie willekeurige appelpitten zaait, zal jaren later wellicht een grote ontgoocheling oplopen, wie zaaizaad van grassen of van rogge oogst, krijgt wel nog een aanvaardbaar product. Maar ook hier geldt het kwekersrecht : in principe mag nabouw niet, waar het wel mag, komt er geld bij te pas.

*Van veel kruisbestuivers maakt men hybriden* en slaat zo twee vliegen in één klap. Hybriden zijn uniform en vaak productiever dan de kruisbestuivende populaties waaruit ze ontstaan. Door nabouw gaan al deze voordelen weer verloren : de uniformiteit is weg en de opbrengst gaat achteruit. De land- of tuinbouwer wint erbij want hij krijgt een homogeen, productief gewas. Prijs voor dit geluk : hij moet elk jaar nieuw zaaizaad kopen en dat maakt de plantenveredelaar en zaadhandelaar bijzonder gelukkig.

Hybriden kunnen vrij eenvoudig gemaakt zijn, maar ook erg ingewikkeld. In het laatste geval doet men vaak beroep op mannelijke steriliteit bij één van de ouders. Het gebeurt dan wel eens dat de nakomelingen of een deel van de nakomelingen ook steriel zijn zodat zaad sparen helemaal niet aan de orde is. Of men kruist ouders met een verschillend aantal chromosomen : ook dan zijn de hybriden meestal steriel. Als je nu meerdere systemen combineert zoals in de suikerbietenveredeling, dan krijg je zaaizaad waaruit planten groeien die niet meer vruchtbaar zijn. Het gewas is beschermd zonder dat er wetgeving hoeft aan te pas te komen. Zo'n « biologische » bescherming is trouwens minstens zo betrouwbaar als een « wettelijke ».

Bij zelfbestuivers werkt bovenstaand mechanisme niet, want tot nader order zijn er niet veel hybriden van zelfbestuivers. Toch vormen de zelfbestuivers een economisch belangrijk potentieel want grote wereldgewassen zoals tarwe, gerst, haver en rijst zijn zelfbestuivers net zoals katoen en soya . Van zelfbestuivers wordt dan ook veel zaaizaad gewonnen voor eigen gebruik. Sinds een paar jaar kan dat in Europa niet meer onbeperkt en grote gebruikers moeten daarvoor betalen aan de kwekers. Zaadbedrijven zouden meer geld verdienen als het gebruik van eigen gewonnen zaaizaad verdwijnt. Zij hebben ook veel geld nodig want nieuwe rassen maken duurt lang en kost veel geld. Voor de zaadbedrijven is het noodzakelijk dat ze voldoende zaaizaad verkopen om de gemaakte kosten te recupereren en winst te maken om de onderzoeksprogramma's verder te financieren. TPS biedt een mogelijkheid om een einde te maken aan de praktijk van eigen gewonnen zaaizaad.

### 3. TPS of Terminator

« Terminator » is een complex systeem. Het berust op ingrepen in het genetisch materiaal die ervoor zorgen dat een plant normaal groeit en zaad vormt, maar tijdens het rijpingsproces van het zaad komt een gen in actie dat ervoor zorgt dat het embryo sterft. Uiteraard kiemt zo'n zaad niet meer en het is gedaan (vandaar de term terminator) met eigen gewonnen zaaizaad zaaien.... Maar hoe produceert een zaadbedrijf dan zaaizaad ? Door het terminator proces « af te zetten ». Hoezo afzetten ? Dan is het toch weer mogelijk om zaaizaad na te bouwen ? Toch niet, want het systeem kan op commando weer worden aangeschakeld ! Hoe werkt dit alles nu ?

In een eerste fase stopten de onderzoekers in katoenplanten een gen dat een toxine produceert dat elke eiwitsynthese doet stoppen. Omdat alle cellen voortdurend eiwitten nodig hebben om te blijven functioneren, doet dit gen cellen snel sterven. Door de keuze van een gepaste promotor komt dit gen slechts in actie tijdens de laatste fasen van het ontwikkelingsproces van de zaden. We noemen dit fenomeen verder in deze tekst « de terminator ». (Een promotor is een stukje DNA dat vóór de coderende DNA-sequentie van het gen staat : als de promotor actief wordt, functioneert het gen.). Tot aan het afrijpen van het zaad, functioneert de plant normaal. Er wordt ook zaad gevormd, maar het embryo is dood. (Er moet wel zaad worden gevormd want we verbouwen nu eenmaal veel gewassen (denk aan de granen) voor het zaad. Maar ook bij de katoenplant waarvoor het systeem initieel is gemaakt, is zaad nodig, want de katoenvezels zijn een uitwas van de zaadhuid.)

Hoe zet je het systeem af ? Door tussen promotor en coderende sequentie een stuk DNA in te bouwen dat verhindert dat de promotor de coderende sequentie activeert. Zo'n stuk DNA heet in het Engels een « spacer ». In aanwezigheid van de spacer wordt leefbaar zaad gevormd : *de terminator is afgezet*. Het zaadbedrijf heeft deze situatie nodig om voldoende zaaizaad te produceren (de zaadvermeerdering) om in de handel te brengen.

De spacer zelf hebben de onderzoekers aan beide kanten geflankeerd met extra DNA waar een recombinase enzym kan knippen : als recombinase aanwezig is, dan knipt de recombinase de spacer weg en het terminator proces kan weer werken : *terminator is aangeschakeld*. Maar waar komt dat recombinase vandaan ? Uit een tweede gen, met een promotor die altijd actief is. Van zodra een zaad kiemt, knipt het recombinase de spacer weg, de plant groeit en ontwikkelt zoals het hoort, maar bij het afrijpen van het zaad gaat het mis. Het recombinase **mag niet actief** zijn tijdens de zaadvermeerdering, maar **moet actief** zijn op het veld van de land-of tuinbouwer. Hoe is dit te realiseren ? Via een derde gen : een repressorgen dat een eiwit produceert dat het recombinasegen blokkeert. Het repressorgen zelf kan uitgeschakeld worden door een chemische behandeling. Die chemische behandeling gebeurt dan net vóór het verkopen van het zaaizaad aan de land-of tuinbouwer. Het antibioticum tetracycline is zo'n chemische schakelaar.

*Zolang de repressor werkt*, is er geen recombinase. Geen recombinase, wil zeggen dat de spacer blijft zitten ; de aanwezigheid van de spacer betekent dat terminator niet werkt en planten leefbaar zaad produceren. Deze situatie is nodig tijdens de zaadvermeerdering. *Is de repressor geblokkeerd*, dan komt recombinase in actie, knipt de spacer weg en de terminator werkt : de planten produceren zaden maar tijdens het afrijpen sterft het embryo. Net vóór het zaaizaad de deur van het zaadbedrijf uitgaat, gaat het in een tetracyclinebad om de repressor te blokkeren.....Op deze wijze wordt nabouw onmogelijk en moet elk jaar nieuw zaaizaad gekocht.....

#### 4. Enkele reflecties

De technologie is vrij complex en er zijn nogal wat vragen. Enkele eenvoudige, voor de hand liggende vragen volgen hieronder. Voor de ingewikkelder discussies : zie de referentielijst.

- Het is op dit ogenblik onbekend hoe zaden met een dood embryo reageren op stockage : kunnen ze wel lang bewaren, zijn ze gevoeliger voor pathogenen, reageren ze anders bij verwerking,.... ?
- Het gebruik van tetracycline als schakelaar is niet onschuldig. Er zal nogal wat tetracycline nodig zijn. Er zullen residu's op de zaden achterblijven. Hoe zullen bodemorganismen daarop reageren ? Wat zal er gebeuren met de overschot van de behandelingsbaden.....Het valt wel te verwachten dat de bedrijven zullen zoeken naar andere schakelaars.
- Wat is het effect van het toxine dat door het eerste gen wordt gemaakt ? Is het schadelijk voor mens en dier ? Ook hier zal wel verder onderzoek gebeuren naar relatief ongevaarlijke eiwitten.
- Kan het hele systeem ongewild ontsnappen uit de velden ? Achtergebleven zaden op de « productievelden van landbouwers » zullen planten opleveren zonder leefbaar zaad. Na één generatie is « de technologie uitgestorven ». Planten ontstaan uit achtergebleven zaden in de zaadvermeerderingsvelden blijven echter alle genen bevatten en kunnen reproduceren binnen en buiten deze velden ! Zowel vanuit vermeerderingsvelden als vanuit productievelden zal pollen ontsnappen. Valt er pollen vanuit een productieveld op normale planten, dan zullen de eventuele nakomelingen na één generatie uitsterven (zie hierboven). Erger is dat niemand zal kunnen « zien » of er in een normaal veld dat grenst aan een veld dat met terminator zaden is bezaaid, zaden zullen ontstaan (en hoeveel) die het systeem in zich dragen. Zulke zaden zullen een dood embryo bevatten en dus niet meer kiemen (wie eigen nabouw zaait, kan voor verrassingen komen te staan). Die zaden zullen ook het toxine bevatten...uiteraard zonder dat dit zichtbaar is : werk voor laboratoria om alles te analyseren.....Het valt te verwachten dat er wel enkele zaden niet of onvoldoende tetracycline zullen opnemen om de repressor te blokkeren. Zulke planten produceren zaden zoals in de vermeerderingsvelden met het hele systeem in zich.....

#### 5. Meer lees lees je in :

Prophyta, juni-nummer 1999, 44-45.

Science, 282, 30 October 1998, 850-851.

<http://www.bio.indiana.edu/people/terminator.html> : how the terminator terminates

Gent, 26 juli 1999.