



Het DuRPh-programma liet duidelijk zien dat bestaande, succesvolle aardappelrassen met cisgene modificatie met meerdere resistentiegenen, duurzaam resistent gemaakt kunnen worden tegen Phytophthora.

Het telen van aardappelrassen met stapeling van resistentiegenen kan grote voordelen hebben voor milieu en economie. Op de lange termijn kunnen telers voor meer dan 80% besparen op het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen (veelal fungiciden) door toepassing van een strategie voor resistentie-management, zelfs wanneer Phytophthora één of meer resistentiegenen heeft doorbroken.

De wetenschappelijke kennis van de positie en functie van resistentiegenen tegen Phytophthora in wilde kruisbare verwanten van de cultuuraardappel, is dankzij het DuRPh-onderzoek enorm toegenomen. Deze nieuwe kennis bleek reeds waardevol in conventionele veredelingsprogramma's, zoals voor rassen voor de biologische landbouw, doordat die kennis moleculaire merkers opgeleverd heeft waarmee resistentiegenen in kruisingsprogramma's gemakkelijk gevolgd kunnen worden.

De methoden van het identificeren en isoleren van genen van wilde aardappelsoorten en het inbrengen van deze genen in bestaande aardappelrassen, zijn in het onderzoek verder verbeterd.



DuRPh en stakeholders

Het DuRPh-programma heeft geleid tot nieuwe internationale wetenschappelijke samenwerking om de aardappelketen meer duurzaam te maken met behulp van cisgenese. DuRPh-planten zijn getest:

- binnen de EU-projecten *GMO risk assessment and communication of Evidence (GRACE)* en *Assessing and monitoring the impacts of genetically modified plants on agro-ecosystems (AMIGA)*, onder andere in veldproeven uitgevoerd door TEAGASC, Ierland
- in verschillende andere samenwerkingsprojecten, bijvoorbeeld met een Belgisch onderzoekconsortium rond de Universiteit van Gent en met het Zwitserse instituut Agroscope.

Nederlandse veredelingsbedrijven gaven op de open dagen van DuRPh aan dat zij alleen in staat zijn de DuRPh-resultaten commercieel te exploiteren als rassen die ontstaan zijn uit cisgenese, niet onderworpen hoeven te worden aan de kostbare en tijdrovende Europese toelatingsprocedure die nu voor transgene planten geldt (Richtlijn 2001/18/EC)

De DuRPh onderzoekers ontmoetten regelmatig boeren en andere actoren in de gangbare aardappelketen, bij hun eigen bijeenkomsten en bij DuRPh-bijeenkomsten. Bij die ontmoetingen kwam naar voren dat er bereidheid is om cisgene Phytophthora-resistente aardappelen te telen, verwerken en vermarkten zodra er een levensvatbare markt voor aanwezig is.

Vertegenwoordigers van de biologische landbouw toonden veelal waardering voor de ontwikkelde kennis en methoden die specifiek waardevol zijn voor programma's voor de kruisingsveredeling van de aardappel. Milieugroepen reageerden op verschillende wijzen, variërend van positief kritisch – voornamelijk van wege de gunstige milieueffecten – tot, om uiteenlopende redenen, negatief. Vanuit diverse groepen kwam het signaal dat het DuRPh-programma een goed gedocumenteerde casus heeft opgeleverd die geschikt is als input voor een constructieve discussie over de toepassing van cisgenese in de aardappelveredeling.

Het Ministerie van Economische Zaken financierde het DuRPh-onderzoeksprogramma, Wageningen University & Research centre voerde het onderzoek uit.



Ministerie van Economische Zaken

De volgende onderzoekers waren primair betrokken bij het onderzoek: Piet Boonekamp, Anton Haverkort, Ronald Hutten, Evert Jacobsen, Geert Kessel, Bert Lotz, Richard Visser en Jack Vossen.

www.durph.nl

Contact

Wageningen UR
Erik Toussaint
erik.toussaint@wur.nl

Duurzame resistentie tegen de aardappelziekte Phytophthora door cisgene modificatie (DuRPh)



Een overzicht van resultaten en reacties uit de samenleving



WAGENINGEN UR
For quality of life

De Nederlandse Overheid financierde van 2006 tot 2015 het onderzoeksprogramma 'Duurzame resistentie tegen *Phytophthora in aardappel door cisgene, merkervrije modificatie*' (acroniem DuRPh). Centraal in dit onderzoek staat de inzet van combinaties van resistentiegenen uit wilde aardappelsoorten in bestaande aardappelrassen die hun marktwaarde reeds bewezen hebben. Hiertoe wordt gebruik gemaakt van genetische modificatie. Om deze resistentie zo lang mogelijk effectief te houden is resistentie-management ontwikkeld waarbij onderzoekers de *Phytophthora* populatie volgen. Doel van het programma is het verschaffen van het inzicht (*proof of concept*) dat bestaande rassen duurzaam resistent gemaakt kunnen worden met deze aanpak. De resultaten van het onderzoek tonen aan dat door het gebruik van het DuRPh-concept, dus met inzet van meerdere gestapelde resistentiegenen in combinatie met slim resistentiemanagement, telers aardappels kunnen telen met 80% minder fungiciden, ook op lange termijn.

Deze folder beschrijft het onderzoeksprogramma en geeft een samenvatting van de resultaten en de reacties op de aanpak vanuit de samenleving.

De DuRPh-aanpak: cisgenese en resistentiemanagement

DuRPh-onderzoekers spoorden resistentiegenen op tegen *Phytophthora infestans* (ook wel bekend onder de naam 'aardappelziekte') uit kruisbare wilde aardappelsoorten, isoleerden deze genen en brachten ze vervolgens over naar het erfelijk materiaal van bestaande aardappelrassen met merkervrije transformatie. Dit type genetische modificatie, met intacte genen van kruisbare soorten, wordt cisgenese genoemd. De planten die dit opleverde zijn uitgebreid getest achtereenvolgens in het lab, kassen en tenslotte in het veld. Aansluitend voerden onderzoekers studies uit om een aanpak te ontwikkelen waarbij de resistentie tegen *Phytophthora*, na introductie van resistentiegenen, zo lang mogelijk blijft werken.



Aardappelgewassen moeten in de gangbare teelt nu nog zo'n vijftien keer per seizoen bespoten worden tegen *Phytophthora*.

Het gewas aardappel heeft veel last van de aardappelziekte, die veroorzaakt wordt door de oömyceet *Phytophthora infestans*. Boeren in ontwikkelde landen spuiten tot 15 keer per seizoen om hun gewas te beschermen tegen deze destructieve ziekte. Biologische boeren zijn vooral afhankelijk van de beschikbaarheid van resistente rassen en doden het loof van het gewas zodra de aardappelziekte invalt. Tot nog toe heeft *Phytophthora* laten zien dat het gemakkelijk enkelvoudige resistenties in aardappel kan doorbreken. Resistente rassen, met vaak maar één resistentiegen, kunnen met klassieke veredeling alleen in langjarige programma's worden ontwikkeld. Het succes van een aardappelras wordt bepaald door een combinatie van allerlei verschillende kwaliteitseigenschappen die van belang zijn voor de verwerkende industrie en de consument. Veredelaars moeten met deze veelheid aan eigenschappen rekening houden. Dit maakt het voor hen extra lastig en tijdrovend en, voor sommige combinaties van resistentiegenen zelfs praktisch onmogelijk, met traditionele veredeling een succesvol meervoudig resistent ras te maken.



Phytophthora tast aardappelloof razendsnel aan. De sporen zorgen voor snelle verspreiding van de ziekteverwekker.

Resistentiegenen: identificatie, isolatie en transformatie

Door het DuRPh-programma, daaraan gerelateerd onderzoek en aanvullingen uit de literatuur zijn nu in totaal 30 resistentiegenen van wilde aardappelsoorten bekend en in kaart gebracht op verschillende posities in het aardappelgenoom. Meer dan 20 daarvan zijn nu geïsoleerd (gekloneerd) en beschikbaar voor het inbrengen in het erfelijk materiaal (transformatie) van bestaande aardappelrassen. Vier rassen (Première, Désirée, Aveka en Atlantic) werden voorzien van 1, 2 of 3 resistentiegenen.

Alle tot dusver geïdentificeerde resistentiegenen blijken te coderen voor dezelfde groep van eiwitten. Deze eiwitten die de aardappelplant aanmaakt, stellen het gewas in staat om een aanval door *Phytophthora* in een vroeg stadium op te merken en als reactie daarop het bladweefsel rond de eerste aantastingsplek dood te maken, waardoor de ziekte zich in de plant niet verder kan verspreiden.



Via transformatie, oftewel genetische modificatie, worden resistentiegenen ingebracht bij cellen in stukjes stengel. Cellen die het DNA goed hebben opgenomen, groeien daarna uit tot nieuwe plantjes.

Onderzoek in lab, kassen en veld

Net zo als in de selectieprogramma's in de kruisingsveredeling startte het DuRPh-programma met een selectiestap. Deze eerste selectiestap gebeurde echter in het lab, waardoor planten geselecteerd konden worden waarin alle ingebrachte resistentiegenen werkzaam waren. Vervolgens werd de vatbaarheid voor *Phytophthora* vastgesteld in kassen en daarna in veldproeven. Tegelijkertijd selecteerden onderzoekers ook die planten die op de resistentie na, niet van het originele ras te onderscheiden zijn. Dit uitgebreide onderzoek toonde



In de kas werden aardappelplanten opgekweekt om met DNA-analyses te onderzoeken of de resistentiegenen succesvol overgebracht waren en niet afweken van het originele ras en om de mate van resistentie te toetsen.



Planten die uitgerust waren met tot drie resistentiegenen van wilde aardappelsoorten, konden zich tegen *Phytophthora* verdedigen, waardoor er veel minder bestrijdingsmiddel nodig is.

Resistentiemanagement

Doordat *Phytophthora* zich gemakkelijk genetisch kan aanpassen, als zich ook in korte tijd zeer sterk kan vermeerderen, is deze ziekteverwekker in staat een enkelvoudige resistentie (gebaseerd op één enkel gen) gemakkelijk te doorbreken. Experimenten en simulatiestudies lieten zien dat resistenties die gebaseerd op zijn op combinaties (stapeling) van resistentiegenen, veel moeilijker door *Phytophthora* worden doorbroken. Gezien het enorme aanpassingsvermogen van de ziekteverwekker mogen we veronderstellen dat op lange termijn *Phytophthora* toch in staat is ook zulke gestapelde resistenties te doorbreken, als op dat moment



Stakeholders werden regelmatig in het proefveld en op andere manieren bijgepraat over de ontwikkeling van succesvol resistentiemanagement.

Communicatie en interactie met de samenleving

Een commissie met vertegenwoordigers van veredelingsbedrijven, Land- en Tuinbouw Organisatie Nederland (LTO) en het Ministerie van Economische zaken begeleidde het onderzoek. De communicatie vanuit DuRPh was intensief, met open dagen op proefvelden, artikelen in kranten en vakbladen, presentaties op radio en televisie, op conferenties en via webinars, en natuurlijk ook met wetenschappelijke publicaties. De DuRPh-onderzoekers leverden daarmee informatie waarmee het publiek zich beter een oordeel kon vormen over de rol van cisgenese voor het verduurzamen van de aardappelteelt.

De DuRPh-onderzoekers volgden de communicatie rond het programma actief, onder andere via het structureel vastleggen van items in de pers. De pers bleek veel belangstelling te hebben voor de ontwikkelingen in het DuRPh-programma. In het begin werd relatief veel aandacht besteed aan het feit dat DuRPh genetische modificatie gebruikt. De laatste jaren van de looptijd van het onderzoek besteedde de pers meer aandacht aan de doelstellingen en de uitkomsten van het DuRPh-onderzoek.

niet ingegrepen wordt. Om zo'n doorbraak van een meervoudige resistentie zoveel mogelijk te voorkomen, of te vertragen, is een strategie voor resistentiemanagement ontwikkeld waarbij we combinaties van resistentiegenen afwisselen in ruimte en tijd.

De DuRPh-strategie voor resistentiemanagement bouwt voort op de principes van geïntegreerde gewasbescherming, namelijk preventie – een zo robuust mogelijke resistent gewas in combinatie met maatregelen om het *Phytophthora* moeilijk te maken op gang te komen, en integratie van monitoring en bestrijding met minimale inzet van fungiciden als een laatste ingreepmogelijkheid. Jaarlijks volgen onderzoekers daarbij de *Phytophthora* populatie met als doel na te gaan of *Phytophthora* bepaalde resistentiegenen doorbreekt. Telers spuiten het gewas niet zolang twee of meer resistentiegenen nog effectief zijn. Wanneer nog slechts één resistentiegen effectief is, beschermen telers de dan nog steeds functionele set van resistentiegenen met een lage dosering van fungiciden en kunnen verdelers eventueel een nieuwe effectieve combinatie van resistentiegenen inzetten. Experimenten lieten zien dat om dit doorbreken van meervoudige resistenties te voorkomen, lage dosering van fungiciden (bijvoorbeeld 25% van de labeldosering) afdoende zijn.



De DuRPh-onderzoekers toonden 's zomers in het veld aan pers en publiek de vorderingen van het onderzoek.