

We weten steeds meer door DNA-onderzoek

Eind april organiseerde Naktuinbouw voor de vierde keer een Kennispodium. Deze keer met het onderwerp **Eigenschappen & Identiteit met DNA**. Barbara Gravendeel en Hedwisch Teunissen lichtten de mogelijkheden van DNA toe.



Authentieke Hollandse hop teruggevonden met DNA

Barbara Gravendeel is bijzonder hoogleraar Plantenevolutie bij de Radboud Universiteit en werkt als botanisch onderzoeker bij Naturalis Biodiversity Center. “Het ontrafelen van botanisch DNA wordt steeds makkelijker”, vertelt zij. “DNA-sequencers worden steeds efficiënter. Maar ook door de explosieve groei van referentiedata kunnen we nu korte DNA-fragmenten aan elkaar puzzelen voor reconstructie van grote en ingewikkelde plantengenomen.” Aan de hand van een bijzonder project legt ze dit verder uit.

Hopplant uit 1700 als startpunt

Nederlandse bierbrouwers, verenigd in branchevereniging CRAFT, vroegen Naturalis om authentieke Hollandse hop terug te vinden in Nederland. Vroeger teelde en brouwde men veel hop op hogere zandgronden. Elke brouwer gebruikte zijn eigen hopveld in de buurt van de brouwerij. De vraag naar lokaal speciaalbier is tegenwoordig groot en telers willen daarom graag authentieke genotypen gebruiken. Gravendeel: “We startten met historisch onderzoek. We zochten in de collecties van Naturalis naar hop met duidelijke vindplaats gegevens. Stadsmuseum Zierikzee kwam tijdens dit onderzoek met een hopplant om mee te nemen in het project. Collega’s van Naturalis ontdekten dat de hop uit het Zierikzee-herbarium van rond 1700 is. Ook bleek dat deze niet van oorsprong uit Zeeland kwam, een van oudsher belangrijke plek voor hopteelt. De brouwers verzamelden deze hop in de buurt van de Leidse Hortus Botanicus.”

Op drie manieren DNA aflezen

“Na extractie van DNA uit zowel de historische als de moderne collecties konden we dit aflezen,” gaat Gravendeel verder. “Er zijn drie mogelijke strategieën voor het aflezen van het DNA van grote plantgenomen:

1. Er is geen referentiegenoom: je moet veel sequenzen en meerdere keren aflezen om de foutmarge zo klein mogelijk te maken.
2. Er is een referentiegenoom: je gebruikt het referentiegenoom als voorbeeld en hoeft dus minder te sequencen.
3. Het gebruik van genoom skimming: je hoeft maar naar een paar plekken in het genoom te kijken. Deze strategie gebruikten we in ons project.”

Aan de slag met levend erfgoed uit Horst aan de Maas

“In het hop-project vonden we diverse genotypen,” vertelt Gravendeel. “Er is bij hop een hoge genotypische diversiteit. Er is dus veel verwilderde hop in bossen te vinden. Het genotype van de hopplant uit het Stadsmuseum Zierikzee bleek overeen te komen met het genotype van een plant in Horst aan de Maas. Hier vonden we authentieke Hollandse hop in het bos, levend erfgoed. Naast bladmateriaal mochten we ook wortelstokken meenemen. Die konden we opkweken. Alle genotypen verzameld uit heel Nederland brachten we bij elkaar in een kas van de WUR. Er is veel variatie in bladgrootte, kleur en smaak, zodat de telers van CRAFT daarmee aan de slag kunnen.” ●

Variety Tracer spoort frauduleuze ouderlijnen op

Hedwisch Teunissen werkt bij Naktuinbouw als moleculair onderzoeker. Voor vragen over verwantschap en herkomst ontwikkelde ze het DNA-concept Variety Tracer. Naktuinbouw voert ongeveer 100 Variety Tracer-projecten per jaar uit naar plantensoorten.



Variety Tracer geeft antwoord

Naktuinbouw krijgt veel verschillende vragen over de identiteit van plantensoorten en soorten. Ook bij vermoedens van inbreuk op kwekersrecht geeft Variety Tracer antwoord. Is mijn rasechte materiaal wel of niet hetzelfde als het verdachte materiaal dat ik in de markt vond? Teunissen: “We gebruiken drie verschillende strategieën binnen Variety Tracer: het zoeken van inteeltplanten en vergelijken met rasechte ouders, de statistische ‘ouder-kind-test’ en Multiple Sequence Alignments. Dit laatste is het vergelijken van de sequentie van grotere stukken DNA en het volgen van de overerving daarvan van potentiële ouders op nakomelingen. Het referentiekader waarmee je vergelijkt, is belangrijker dan welke technologie je gebruikt. Dit moet je altijd goed voor ogen houden.”

Inteeltplanten vergelijken

“Om inteeltplanten te zoeken, identificeren we ze eerst,” vertelt Teunissen. “We gebruiken merkers om planten te testen die onderscheidend zijn van de ouders. Wanneer hier inteeltplanten tussen zitten, is dit in principe het genotype van de moeder. Die vergelijken we dan met de moeder van de rasechte F1-hybride van onze opdrachtgever (zie ook pag.19). Hoe meer van het DNA je vergelijkt, hoe betrouwbaarder het wordt. Maar zelfs met enkele merkers krijg je al een duidelijk beeld om het resultaat goed te kunnen interpreteren.”

Statistische ‘ouder-kind-test’

Teunissen geeft een voorbeeld: “Als veredelaar heb je een mooi ras op de markt gebracht. Je komt een ras tegen dat veel op die van jou lijkt, maar toch iets verschilt. Wat zou de verklaring kunnen zijn? We gebruiken hier de strategie van de ‘ouder-kind-test’ en vergelijken ouder 1, ouder 2 en de mogelijke kinderen. Maar we kijken alleen naar merkers die monomorf zijn voor de ouders. Monomorf wil zeggen dat er voor beide ouders op een specifiek stukje DNA identieke informatie is. En daarna kijken we welk genotype de nakomeling heeft. We vergelijken alle oudercombinaties met alle mogelijke nakomelingen en berekenen de overeenkomsten. In aanvulling daarop bekijken we ook de individuele potentiële ouders om erachter te komen of de ouder kan hebben bijgedragen aan deze F1-nakomeling. Zo komen we tot een statistisch antwoord.”

Multiple Sequence Alignments

“Met de derde strategie kijk je naar fysiek gekoppelde SNP’s (Single Nucleotide Polymorphisms), ook ‘snips’ genoemd,” vertelt Teunissen. “Ze vertegenwoordigen een verschil in een enkele DNA-bouwsteen. Je volgt met deze strategie de overerving van die fysiek gekoppelde SNP’s van ouders op kinderen. De uitdaging hierbij is dat er veel ruimte nodig is voor dataopslag. Het kost veel tijd van bio-informatici om de data te analyseren. Deze innovatieve strategie gebruikt hoogwaardige DNA-sequentiedata van hele genomen. Dat maakt dat deze strategie op dit moment nog erg duur is.” ●