



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Genomic regions under selection in crop-wild hybrids of lettuce: implications for crop breeding and environmental risk assessment

Hartman, Y.

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Hartman, Y. (2012). *Genomic regions under selection in crop-wild hybrids of lettuce: implications for crop breeding and environmental risk assessment.*

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

De introductie van genetisch gemodificeerde (*Genetically modified*: GM) gewassen heeft geleid tot maatschappelijke bezorgdheid omtrent de potentiële ecologische risico's wanneer transgenen door uitkruising van gewassen naar hun wilde verwanten zouden ontsnappen. Wanneer het in het gewas ingebrachte transgen positief bijdraagt aan de fitness van hybriden (ontstaan door kruising tussen gewassen en hun wilde verwanten, verder gewas-wild hybriden genoemd), kan dit leiden tot een verhoogde invasiviteit van de wilde verwant, het verdwijnen van een deel van de originele genetische variatie van de wilde verwant (inclusief oude landrassen), of zelfs het verlies van soorten van de lokale wilde flora. Daarentegen kunnen GM gewassen zorgen voor hogere opbrengsten en afnames in het gebruik van meststoffen, fungiciden, pesticiden en het verbruik van water. De maatschappelijke en wetenschappelijke discussie over de risico's heeft geleid tot strenge regels voor GM gewassen, waarin bedrijven een uitgebreide ecologische risico-analyse (ERA) moeten uitvoeren voordat een GM gewas geteeld of verwerkt mag worden.

In de afgelopen jaren is het duidelijk geworden dat veel gewassen, in ten minste een deel van hun geografische verspreiding, uitkruisen met hun wilde verwanten. Bij verscheidene wilde verwanten, die door hybridisatie allelen uit het gewas hadden verkregen, is inderdaad een toegenomen invasiviteit waargenomen. Dit betekent overigens nog niet dat hetzelfde is aangetoond als gevolg van het ontsnappen van transgenen. Wanneer genenuitwisseling tussen een gewas en de wilde verwant mogelijk is, wordt de belangrijkste factor die de mogelijke verspreiding van een transgen bepaald de fitness van hybriden in de natuurlijke omgeving.

Naast de fitness effecten van het transgen zelf, is ook de locatie van het transgen binnen het genoom en de fitness effecten van de omringende genen van belang door het mechanisme van 'linkage drag' (= het meeliften van genen). Als een transgen zich nabij een gen of genetisch blok van het gewas bevindt dat een positieve bijdrage levert aan de fitness van gewas-wild hybriden, heeft het een hogere kans om zich te vestigen in de wilde populatie (= 'introgressie'). Echter, een transgen dat in nauwe samenhang met een gen of genetisch blok van het gewas wordt geplaatst, dat een negatieve bijdrage levert in het wilde habitat, heeft waarschijnlijk een lagere kans om zich te vestigen. Deze methode wordt daarom gesuggereerd als een mogelijke Transgen Mitigatie (TM) strategie. Om erachter te komen of deze strategie haalbaar is, moeten we meer weten over de effecten van genen van gedomesticeerde gewassen nadat uitkruising heeft plaatsgevonden. In dit proefschrift gebruiken we Quantitative Trait Loci (QTL) analyse om genetische regio's te identificeren, en de bijbehorende plantkenmerken, die onder positieve danwel negatieve selectie staan. We hebben dergelijke QTL analyses uitgevoerd op fitness en fitness-gerelateerde kenmerken die we hebben gemeten in een reeks van kas- en veldexperimenten, zowel onder niet gereguleerde condities als onder specifieke abiotische stressen en competitie. Hierbij bekeken we met name de waarschijnlijkheid van introgressie van gewas allelen in wilde verwanten en of TM strategieën toepasbaarheid zouden kunnen zijn.

We gebruikten sla als een niet-transgeen gewas-wild model systeem om te onderzoeken of verschillende genetische regio's verschillende introgressiekansen hebben. Het gewas sla (*Lactuca sativa* L.) wordt wereldwijd gecultiveerd en overlapt in geografische verspreiding met die van de wilde verwant kompassla (*Lactuca serriola* L.). De gecultiveerde en wilde sla zijn volledig uitkruisbaar, zonder enige pre- of postzygotische barrières. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat gewas-wild hybriden een verhoogde groeikracht vertoonden tot en met de vierde generatie na uitkruising. Recent is een grote set van gegenotypeerde recombinante inteeltlijnen (RILs) van een kruising tussen het gewas ijsbergsla (*L. sativa* cv. Salinas) en een californische *L. serriola* plant beschikbaar gekomen. Hierdoor kunnen dezelfde genotypes in verschillende experimenten en locaties ingezet worden, zoals wij hebben gedaan in de kas en

Samenvatting

in het veld. Daarnaast hebben we teruggekruisde lijnen (één keer zelfbestoven, BC₁S₁), van een kruising tussen het gewas *L. sativa* cv. Dynamite (botersla) en een *L. serriola* plant van een wilde populatie nabij Eys in Nederland ingezet in een veldstudie samen met de RILs. Deze combinatie van kas- en veldexperimenten, verschillende ouderlijnen alsmede hybriden van vroege en latere generaties, maakte een uitgebreide analyse van de genetische selectie patronen en de bijbehorende kenmerken mogelijk, die van belang zijn voor de introgressiekansen van een transgen.

In het eerste kasexperiment onderzochten we de genetische architectuur van domesticatie van sla met behulp van RILs. Hiertoe maten we verscheidene plantkenmerken gedurende de gehele levenscyclus. We ontdekten dat de verschillen tussen wilde en gecultiveerde sla grotendeels werden bepaald door relatief weinig genetische regio's waar zich QTL bevonden met een hoge impact in combinatie met meerdere QTLs met een gemiddelde impact. Over het algemeen denkt men dat domesticatiekenmerken een negatief fitness effect hebben op hybride individuen in het wilde habitat, omdat deze kenmerken geselecteerd zijn voor goede prestaties in een agrarische setting. Er werden twee hoofdregio's met QTL clusters geïdentificeerd. De eerste bevond zich op linkage groep (LG) 3, waar het allel uit het gewas bredere bladen en een lagere zaadproductie induceerde. De tweede regio bevond zich op LG7, waar de meerderheid van de kenmerken te maken hadden met de snelheid van ontwikkeling en waar het gewas allel een latere bloeitijd veroorzaakte. Als een transgen in één van deze regio's zou worden geplaatst, zou selectie op deze gewas allelen kunnen leiden tot een lagere fitness van hybriden met het transgen.

Om vast te stellen of deze zelfde genetische regio's een rol spelen in het veld, hebben we een veldstudie in twee verschillende milieus met uitgevoerd met de RILs. We hebben QTL analyses uitgevoerd op een brede set van fitness en fitness-gerelateerde kenmerken die we hebben gemeten tijdens verschillende levensstadia die relevant zijn voor het succes van *Lactuca* hybriden in het veld. Hierbij hebben we twee genetische regio's met fitness QTL geïdentificeerd. We bevestigden de regio op LG7 als een regio waar de genetische achtergrond van het gewas een selectief nadeel gaf aan gewas-wild hybriden. Dit voornamelijk door een latere bloei. Echter, we detecteerden een ander fitness QTL op LG5 waar het gewas allel een selectief voordeel voor gewas-wild hybriden opleverde door de inductie van een hogere zaadproductie. Dit QTL was voorheen niet geïdentificeerd in de kas. De vergelijking tussen kenmerken gemeten in het veld en in het eerdere kasexperiment liet grote verschillen zien in de QTL patronen.

Naast deze experimenten hebben we ook een serie van abiotische stress en competitie experimenten uitgevoerd in de kas en in het veld. Men denkt dat vooral transgenen voor abiotische tolerantie kunnen bijdragen aan een hogere fitness of concurrentievermogen van de wilde verwant, wat de introgressiekansen van genen van een gewas naar de wilde verwant zou verhogen. Planten werden blootgesteld aan droogte, beperkte voedingsstoffen, zout en bovengrondse competitie. De bovengrondse biomassa aan het einde van het rozet stadium werd gebruikt als een maat voor de prestatie van de planten. Dit keer detecteerden we een mozaïek van QTLs verspreid over het hele genoom met weinig overlap tussen QTLs van verschillende typen stress. De weinige regio's met clusters van QTLs reflecteerden eerder algemene groei dan een specifieke stress; deze overlapt met de clusters voor bladvorm op LG3 en die voor bloeitijd op LG7. Verder waren behandelingen van het stressexperiment in het veld meer gecorreleerd met de kasexperimenten waarin competitie werd toegepast dan met andere kasexperimenten. Dit suggereert dat competitie een belangrijke factor was in het veld in plaats van de toegepaste abiotische stress. Het is daarom niet eenvoudig om het lot van transgenen voor stresstolerantie na uitkruising in de natuurlijke populatie te voorspellen als dat

alleen gebaseerd is op gecontroleerde abiotische stressexperimenten in de kas.

We hebben teruggekruisde lijnen van een kruising tussen het gewas *L. sativa* cv. Dynamite (botersla) en een Nederlandse *L. serriola* ingezet in de eerder genoemde veldstudie samen met de RILs. We hebben QTL analyses uitgevoerd op dezelfde set van fitnesskenmerken en hebben de fitness verdeling van deze hybriden van vroege en latere generaties geschat. Voor de BC lijnen identificeerden we wederom de regio op LG7, als een regio waar de genetische opmaak van het gewas een selectief nadeel gaf. Echter, de RIL fitness QTL van LG5 (gewas achtergrond selectief voordelig) was niet aanwezig in de BC lijnen. Bovendien identificeerden we een andere fitness QTL op LG6, waar wederom het gewas allel een selectief nadeel gaf door een latere bloei en een lagere overleving te induceren. De fitness verdelingen gaven aan dat verscheidene RILs en BC hybride lijnen beter presteerden dan de wilde ouder in beide milieus, hoewel de gemiddelde fitness van hybriden lager was dan die van de wilde ouder.

Al deze resultaten laten zien dat de kans dat een mogelijk transgen zich zal verspreiden inderdaad sterk afhangt van de locatie waar het in het genoom gevoegd is. Onderzoek naar genetische selectie patronen kan regio's in het genoom van het gewas identificeren, die negatief geselecteerd worden in meerdere milieus en cultivar-wild kruisingen. Dit zou toegepast kunnen worden in TM strategieën. Voor sla is nu een fitness QTL regio geïdentificeerd, waar het gewas allel een selectief nadeel heeft door inductie van een latere bloei, een lagere overleving, een lagere fitness en mogelijk een lager concurrentievermogen. Deze genetische regio van het gewas is waarschijnlijk schadelijk in het wilde habitat, vooral in milieus met een hoge competitiedruk en een seizoensgebonden bloeiperiode. Echter, de QTL resultaten waren deels specifiek voor de verschillende cultivar-wild kruisingen, wat betekent dat de ecologische risico-analyse nog altijd per geval moet worden bekeken. Dit vermindert de algemene toepasbaarheid.

Daarnaast laten onze resultaten zien dat het informatiever is om specifieke genetische regio's onder selectie te identificeren dan om de gemiddelde fitness van hybriden te bepalen. De fitness verdelingen gaven aan dat er een hoge kans is binnen sla voor het ontstaan van nieuwe gewas-wild hybriden die een hogere fitness hebben dan de wilde ouder, zelfs al was de gemiddelde fitness van hybriden lager. Via deze hybriden kunnen genen van het gewas zich mogelijk vestigen in de wilde populatie. Een mitigatie strategie, waarbij een transgen in nauwe samenhang wordt geplaatst met een sterk negatief geselecteerd gen van het gewas, zou de kans dat een transgen kan ontsnappen naar het wild sterk verminderen. Het is echter moeilijk om een strategie te ontwerpen die dit helemaal verhindert. Het is daarom aan te raden om in de evaluatie van een GM gewas de potentiële consequenties voor het omringende milieu af te wegen tegen de voorziene voordelen van het transgen.