

Faglig Beretning 2023

Projektets titel

Rettidig omhu – skimmelresistente kartofler med cisgenetisk pyramidiserede R-gener

Tilskudsmodtager

Navn : Aalborg Universitet
CVR nr. : DK29102384
Adresse : Fredrik Bajersvej 7K, 9220 Aalborg Ø
Hjemmeside : www.aau.dk

Den faglige beretning giver efter min opfattelse et retvisende billede af tilskuddets anvendelse, og anvendelsen af tilskuddet er i overensstemmelse med projektansøgningen og fondens tilsagn.

Dato

Titel, navn og underskrift

24/4/2024 Professor, Kåre Lehmann Nielsen





1. Projektets titel

Sekventering og vedligeholdelse af MASPot kartoffelpopulationen - en opgradering af en genetisk ressource for fremtiden.

2. Den samlede projektperiode, uanset om projektet er etårigt/flerårigt

Projektstart: 01 23

Projektafslutning: 12 27

3. Projektleder

Titel og navn: Professor Kåre Lehmann Nielsen

4. Projektet set i forhold til fondens indsatsområder jf. strategien

Marker hvilket indsatsområde jf. fondens strategi, projektet hører under. Hvis projektet hører under flere indsatsområder, angives det primære indsatsområde.

- Styrkelse af konkurrenceevnen ved forbedring af kvalitet og udbytte gennem effektivisering af avlen
- Fremme af en miljømæssig forsvarlig og bæredygtig produktion
- Udvikling af metoder og viden, der kan forbedre avlernes driftsledelse
- Udvikling af avlssystemer og produkter
- Formidling af information til avlere og forbrugere, herunder afsætningsfremme

5. Projektets formål og mål, jf. ansøgningens punkt 2.2 og 2.3

Projektets langsigtede mål er at bidrage til en fremtidig produktion af kartofler, hvor der slet ikke eller i meget mindre grad anvendes pesticider. Når den nye regulering af New Breeding Technologies (NBT) kommer på plads, er det vigtigt allerede at være parat til at anvende disse teknologier i forædlingen for dermed at udnytte både de kommercielle og miljømæssige fordele ved den forventede deregulering. Derfor anser vi det som rettidig omhu at påbegynde udviklings-, og dokumentationsarbejdet med skimmelresistente cis-genetiske sorter med relevans for Danske producenter, industri og forbrugere.

Det skal understreges, at forbrugeraccept af cisgenetiske produkter er lige så vigtigt som lovgivningsrammen for at fordelene kan realiseres. Det er vores vurdering, at fysiske trials hvor effekten kan dokumenteres direkte "live" - er et vigtigt værktøj til at opnå en øget accept af teknologierne for fremtidens forbrugere.

Projektet vil frembringe to skimmelforstærkede versioner af sorten YDUN, hvor to forskellige kom-binationer af udvalgte tre kendte resistensgener indsættes cisgenetisk. Projektet vil indsætte to kombinationer af R-gener i to avancerede forædlingskloner ved cisgenese. Projektet vil gennemføre demonstrationsforsøg af de opnåede sorter for at dokumentere effekten (udover denne projektperiode).

Dette projekt er et samarbejdsprojekt mellem Danespo, KMC og AAU. Overordnet set består projektet af 5 arbejdsplaner og en samlet projektperiode på 5 år. AP1 og AP2 ligger i første år og er derfor i fokus for denne ansøgning. Hvis projektet bevilges kan ansøgninger til de senere aktiviteter forventes i efterfølgende år.

6. Projektets hovedaktiviteter i bevillingsåret

- De gennemførte aktiviteter beskrives. Beskrivelsen skal være kort og samtidig give et retvisende billede af de gennemførte aktiviteter og dermed tilskuddets anvendelse. Detaljeringsgraden skal være på niveau med beskrivelsen i ansøgningen.
- Beskrivelsen skal omfatte eventuelle titler på arbejdsplaner/indsatser og aktiviteterne herunder beskrives.

AP1: Udvælgelse af R-gen kombinationer og sorter – år 1 (KMC, Danespo og AAU)

Ved samtaler med KMC og Danespo, samt analyse af Danespos forædlingsprogram, blev det besluttet at bruge stivelsessorten Ydun og Chipssorten Falcon som vært for de cisgenetiske modifikationer. Der findes 19 R-gener, som er eller har været aktive mod karstoffelskimmel i moderne tid, hvor DNA sekvensen er kendt. Disse blev sammenlignet og phylogenetisk analyseret, så det var muligt at vurdere, hvilke R-gener som mest sandsynligt genkender forskellige dele af skimmel (effectors). Det er afgørende for værdien af pyramidisering af R-gener, at generne er komplementære til hinanden og genkender forskellige effectors.

AP2: Cisgenese og regeneration af planter

Cisgenetiske DNA konstruktioner med de to 3-gens kassetter blev designet og kemisk syntetiseret og verificeret ved DNA sekventering. Efterfølgende blev kassetterne modificeret for at tillade CrisPR medieret Knock-Out af Kanamycin resistens genet (se bemærkninger nedenfor).

In vitro plante kulturer af Ydun og Falcon blev etableret og plantemateriale opformeret ved transplantation af stiklinger, hver 4. uge. Planterne blev transformeret med kontrol-DNA, som indeholder GUS (β -glucuronidase) som reporter gen. Formålet med kontrollen er at vurdere transformations- og planteregenereringseffektivitet af de forskellige sorter, så screeningsarbejdet med at finde positive cisgenetiske transformanter kan dimensioneres rigtigt.

7. Projektets opnåede leverancer – opsamling på bevillingsåret

- *Med leverancer menes de umiddelbare output skabt i projektet. I forsknings- og udviklingsprojekter kan det fx være forsøg, analyser, udredninger, forskningsrapporter. I formidlingsprojekter kan det fx være markdemonstrationer, dyrkningsvejledninger og artikler.*
- *Opsummer i punktform de projektnære leverancer, som er skabt i bevillingsåret. 1-2 linjer pr. leverance.*
- *Oplys om der er planlagte leverancer, jf. ansøgningen, som ikke blev leveret, og årsagen hertil.*

Den bioinformatisk analyse førte frem til 2 kassetter af R-gener: Rpi-blb1/Rpi-blb2/Rpi-vnt1.1, fra hhv. Solanum bulbocastanum og Solanum venturii, samt R8, Amr3 og vnt1.1, fra hhv. Solanum demissum, Solanum americanum og Solanum venturii.

Det blev fundet af bladvæv mere effektivt transformeres end nodale stængelstykker, specielt for Falcon, og at planteregenerering er hurtigere for Ydun end Falcon. Der blev dog fastlagt betingelser hvor begge sorter kan transformeres og regenereres. De primære transformationer for Rpi-blb1/Rpi-blb2/Rpi-vnt1.1 er blevet udført og er under regenerering (marts 2024).

Bemærkning: Den 5/7/2023 kom EU-kommissionen med sit udkast til fremtidig regulering af NGT. Lovforslaget viser en kortere vej til anvendelse af cisgenetiske sorter i kartoffelproduktionen end vi havde turdet håbe på ved ansøgningen om dette projekt. En forudsætning for anvendelse i produktionen af cisgenetiske sorter er, at dog at planterne ikke indeholder nogle transgene elementer, herunder Kanamycinresistens-genet, som vi havde med i designet for at lette kloningen og det efterfølgende screeningsarbejde. For at sikre anvendelse af cisgenetiske sorter i Danmark så tidligt som lovgivningen kommer til at tillade, besluttede vi at modificere vores DNA konstrukt til at tillade in-planta fjernelse af resistensgenet med CrisPR/Cas efter transformation og selektion ved indsættelse af to guide-targetDNA sekvenser flankerende resistensgenet. Dette arbejde forlængede den oprindelige projektplan med 4 måneder og vil medføre ændringer i aktiviteterne for 2. år.

8. Projektets hovedresultater

- *Beskriv kort de væsentlige erfaringer og viden, der på nuværende tidspunkt er opnået i projektet.*
- *Vurdering af hovedresultater set i forhold til projektets formål og mål*

Projektet hovedformål med at frembringe, karakterisere og teste skimmelresistente NGT Kartoffler er endnu ikke opnået, men det var heller ikke planlagt i 1. projektår. De opnåede leverancer/delresultater er planlagte skridt på vejen.

9. Offentliggørelse, formidling og videndeling

- *Opsummer i punktform den gennemførte eller planlagte offentliggørelse, formidlingen og videndeling af projektets leverancer og resultater. Dette punkt er navnlig møntet på forsknings- og udviklingsprojekter med hjemmel i kapitel 3, hvor der fremkommer ny viden. For projekter med hjemmel i jf. kapitel 2 om støtte til videnoverførsel og*

informationsaktioner samt rådgivning, er formidlingsaktiviteter projektets kerne og skal navnlig være beskrevet under punkt 6 om projektets aktiviteter.

Projektet har bidraget til en formidlingsartikel:

Danske kartofler nr 1, 2024. Nye forædlingsteknikker er på vej – hvad kan vi forvente for kartofler? Kåre L. Nielsen

For forskning- og udviklingsprojekter med hjemmel i kapitel 3 i aktivitetsbekendtgørelsen

- *Linket til tilskudsmodtagers hjemmeside, hvor offentliggørelse sker jf. kravet herom i fondens tilsagn, indsættes.*
- *Bemærkninger i relation hertil kan indsættes fx en bemærkning om, hvad der er offentliggjort på sitet.*

<https://vbn.aau.dk/da/projects/rettidig-omhu-skimmelresistente-kartofler-med-sicgenetisk-pyramid>

10. Projektets forventede effekter

- *Projektets forventede effekter for kartoffelavlerne og for samfundet som helhed beskrives, herunder vurdering af tidshorisont. Hvis muligt så kvantificer gerne effekterne.*
- *Har forventningerne til effekterne ændret sig?*

Efter projektets gennemførelse vil det være muligt at reducere pesticid forbruget i kartoffelproduktionen i Danmark med 50-75% ved brug af de frembragte NGT sorter i den vigtige stivelsesproduktion i Danmark, som udgør langt størstedelen af produktionen (85-90%) af kartofler i Danmark. Forventninger til implementationstidshorisont er blevet kortere pga. EU kommissionens NGT udspil. Efter vedtagelse af ny regulering og de efterfølgende 2 års venteperiode kan de frembragte sorter dyrkes. I perioden 2026-2030 vil der "bulkes op" på produktionen af såsæd, så hovedparten af produktionen kan ske med NGT sorter. Derfor er tidshorisonten for realiseringen af pesticidreduktionen tilsvarende.

11. Tilfredshed med projektets gennemførelse

I hvilken grad gælder det oplyste udsagn? Spørgsmålet henviser til helhedsopfattelsen af projektets forløb.

	Helt enig	Delvis enig	Delvis uenig	Helt uenig	Ved ikke
Projektets gennemførelse har været tilfredsstillende	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Uddybning af svaret

Den 5/7/2023 kom EU-kommissionen med sit udkast til fremtidig regulering af NGT. Lovforslaget viser en kortere vej til anvendelse af cisgenetiske sorter i kartoffelproduktionen end vi havde turdet håbe på ved ansøgningen om dette projekt. En forudsætning for anvendelse i produktionen af cisgenetiske sorter er, at dog at planterne ikke indeholder nogle transgene elementer, herunder Kanamycinresistens-genet, som vi havde med i designet for at lette kloningen og det efterfølgende screeningsarbejde. For at sikre anvendelse af cisgenetiske sorter i Danmark så tidligt som lovgivningen kommer til at tillade, besluttede vi at modificere vores DNA konstrukt til at tillade in-planta fjernelse af resistensgenet med CrisPR/Cas efter transformation og selektion ved indsættelse af to guide-targetDNA sekvenser flankerende resistensgenet. Dette arbejde forlængede den oprindelige projektplan med 4 måneder og vil medføre ændringer i aktiviteterne for 2. år.

Vi har forbrugt væsentligt mindre på løn i projektet end planlagt pga. synergi med andre aktiviteter i mit laboratorium som blev igangsat i løbet af 2023. Helt konkret kunne den planlagte plantehåndtering, transformation og regenerering samkøres af en enkelt person for flere projekter, hvorfor lønudgiften kunne nedsættelse. De ekstra midler har dog ikke kunne bruges på at inkludere ændringen af projektet (se bemærkninger ovenfor) uden forsinkelse, da det ikke var muligt på kort sigt, og midlertidigt, at rekruttere personer med den nødvendige ekspertise og erfaring således kapacitet og hastighed af projektet kunne forøges.

OBS. Ved flere faglige beretninger, begynd en ny faglig beretning øverst på næste side. Denne tekst slettes i det færdige dokument.