

Avanceret forædling på diploid niveau

Projektansvarlig og deltagere

Projektansvarlig: Ea Høegh Riis Sundmark, Assisterende forædler ved Danespo A/S, eri@danespo.com

Deltager: Kåre Lehmann Nielsen, kl@bio.aau.dk, Aalborg Universitet, Afd. for bioteknologi

Resume

Forædling af kartofler har altid været påvirket af at der ikke kan laves en målrettet forædling ved indavl svarende til det der er blevet gjort i andre afgrøder. Dette skyldes kartoffelens genetiske opbygning, hvor der er 4 udgaver af hvert kromosom, de er tetraploide. Dette projektet udnytter, at man kan bringe de normalt tetraploide kartofler på diploid niveau, hvor genetikken er meget simplere fordi der kun er to udgaver af hvert kromosom. Her kan man nemmere fikse favorable alleler og bortselektre dårlige alleler. Det har ikke været gjort tidligere fordi diploide kartofler normalt er selvsterile, men Wageningen universitet i Holland er i besiddelse af selvkompatible (SC) kloner, der stilles til rådighed for projektet. Gennem projektet kortlægges SC genet, og der konstrueres markører for det, samtidig med at det benyttes til at starte selvbestøvninger for at fikse favorable gener.

Projekts faglige forløb

Den grundlæggende vanskelighed ved kartoffelforædling er den enorme genetiske variation. Kartofflen er tetraploid og heterozygot, og der eksisterer ikke effektive måder at fikse gavnlige og eliminere skadelige genvarianter på. Man har forsøgt at lave forædling på diploid niveau og derefter gå tilbage på tetraploid niveau ved hjælp af 2n pollen (ureducerede gameter), dels for at øge sandsynligheden for at frembringe afkom af bedre kvalitet end forældrene, dels for at forbedre den samlede genepool. Diploider der producerer 2n pollen (i modsætning til det normale 1n-pollen for diploider) tillader direkte krydsning med eksisterende elite tetraploide sorter. Det bremses af, at kartofler på diploid niveau normalt er selvsterile (selvinkompatible) og af at evnen til at producere 2n pollen er varierende. I dette projekt foreslås en ny løsning, som udnytter, at der findes selvkompatibilitetsgener i kartofler: Fixation-Restitution forædling. Det er defineret som en kartoffelforædlingsmetode, hvor selvkompatible og indavlstolerante diploider bruges i hurtige tilbagekrydsningsprogrammer for at fikse gavnlige alleler. Ved brug af denne metode kan nyt genetisk materiale (f.eks. sygdomsresistensgener) meget hurtigere krydses ind end ved traditionel kartoffelforædling. Det resulterende afkom kan indgå direkte i eksisterende evaluering- og selektionsprogrammer i forædlingsvirksomhederne, men nu behøver man blot at selektre for de træk, hvor de underliggende gener ikke var fikseret i den diploide forælder.

Projektet har til formål at indkrydse selvkompatibilitetsgener (SC) i det diploide materiale der eksisterer hos Danespo, pyramidisere resistensgener med kendte placeringer på genomet og bortselektre dårlige alleler. På denne måde udvikles et opstartsstadium af indavlet materiale, der kan bruges i videre forædling. Sideløbende undersøges og kortlægges selvkompatibilitetsgenerne og de gener, der styrer produktion af 2n pollen, således at der kan udvikles DNA-markører for dem. Informationer der opnås gennem disse kortlægninger af favorable alleler samles til en database baseret på referencegenomet, der blev sammensat i 2011.

Projektet startede i 2019 og fortsætter til 2023 og har følgende delmål med tilhørende udførte aktiviteter:

- Fænotyping og genotyping af et diversitetsforsøg baseret på ældre kloner til brug i en fælles GWAS (Genome Wide Association Study) sammen med andre partnere i projektet.
 - o Markforsøget blev udført første gang i sommeren 2019 og gentaget i sommeren 2020. Resultater af markforsøget 2020 er angivet i tabel 1 og forkortelserne for parametrene forklaret i tabel 2.
- Udvikling af KASP markører for SC gen og 2nG gen(er) baseret på populationer af afkom samt diversitetsforsøget.
 - o SC genet er blevet kortlagt baseret på de indledende resultater. 2nG genet(erne) har vist sig sværere at kortlægge og der blev i 2020 inddraget flere populationer til kortlægning. De fænotypiske målinger er blevet udført og et større dataanalysearbejde er i gang. Dette foregår hos projektets andre partnere.
 - o Danespo har i 2020 modtaget markørinformationer om SC genet til opstart af implementering af markøren og efterfølgende brug i Danespo's eget forædlingsmateriale.

Kartoffelafgiftsfonden

- Danespo lavede i 2019 krydsninger for at opnå populationer til kortlægning af SC gen og 2nG gen(er) samt for at kombinere resistensgener. I 2020 er frø fra disse krydsninger sået og der er produceret frøknolde af 23 familier. Da SC genet allerede er kortlagt og en markør udviklet vil disse familier blive testet for SC genet og selekteret for andre kvalitetsegenskaber for at indgå i indarbejdningen af selvkompatibilitet i Danespos forædlingsmateriale.
- I 2020 blev der lavet yderligere krydsninger med henblik på at understøtte afkommet af krydsninger fra 2019. Her blev der produceret frø af 5 familier med særligt fokus på kvalitetsegenskaber.
- Definering af liste over ønskede gener til pyramidisering og kendte sorter, der kan udgøre kilder til disse gener.
 - o Listen blev færdigudarbejdet i foråret 2019 og Danespo bidrager til projektsamarbejdet i de to associerede projekter med sorter, der fungerer som kilder for ønskede gener. Disse bringes på diploid niveau.
 - o Der blev i 2019 foretaget en række dihaploide induktioner af kilderne fordelt på projektets partnere, hvoraf Danespo stod for 4 induktioner. Opfølgende induktioner blev lavet i 2020 for de gener, hvor der ikke blev opnået tilstrækkeligt mange frø til at kunne danne tilfredsstillende populationer. 4 forskellige tetraploide sorter med resistensgener blev forsøgt induceret, hvoraf 2 sorter producerede dihaploide frø.
- Opstart af SC populationer baseret på frømateriale fra Wageningen Universitet
 - o I 2019 blev populationer af frømateriale modtaget fra Wageningen dyrket i drivhus for knolddannelse. Knolde fra hver klon blev høstet og evalueret og materiale selekteret til krydsning i 2020.
 - o I 2020 blev 54 udvalgte sorter med denne selvkompatibel baggrund dyrket til selvbestøvning. Heraf kunne 8 planter succesfuldt selvbestøves og producere frø.
- Pyramidisering af favorable alleler (ud over dihaploid induktion af kildemateriale)
 - o Danespo har lavet yderligere krydsninger af kloner med høj kvalitet og resistens for at øge selektionsgrundlaget. Dertil har der i sommeren 2019 og 2020 været markforsøg med yngre eksisterende kloner med det formål at selektere det bedste materiale til videre pyramidisering. 16 forædlingskloner er foreløbigt udvalgt til videre undersøgelse af fertilitet inden der planlægges krydsninger.

Tabel 1: Resultater af markforsøg 2020

PLANTID	YLD	TPM	TTN	TSH	REG	SKC	FLC	EYE	PTY	SKS	SKB	SCH	EDC	CKT	ACD	QDC	DMC
02-0-142-06	0,9	15,2	71	7	5	br	c	8	5	5	5	6	R6	6	4	2	23,5
15-IMF-01	0,8	15,4	129	5	5	y	c	4	4	5	5	7	R7	6	4	4	23,8
15-IMA-25	1,3	15,6	204	5	5	dy	c	4	5	2	4	6	R7	4	2	4	24,9
Fontane	1,8	10,0	123	6	6	y	y	6	7	4	5	5	9	8	7	4	22,6
16-0-184-02	0,4	21,2	126	2	7	y	c	4	6	6	6	8	8	8	7	4	24,2
14-IIO-01	0,9	16,2	160	4	7	y	y	2	5	5	4	6	R7	8	4	4	25,2
98-HIS-04	0,8	17,2	196	6	7	y	w	8	7	5	4	6	R6	8	8	4	24,8
14-ILH-09	1,3	16,0	189	4	7	r	ly	6	6	7	7	8	RF	2	2	4	25,9
16-0-212-01	0,2	22,3	74	5	7	br	c	3	4	4	4	6	R6	6	4	6	27,0
Lady Claire	1,6	19,5	160	6	6	y	dy	7	6	4	4	7	R5	2	4	7	25,0
97-HGP-01	0,7	10,8	59	7	6	dy	o	8	5	6	6	5	R8	9	8	6	20,6
DG80-2059	1,5	12,9	158	5	6	y	y	3	5	6	5	7	R8	6	7	4	21,9
14-ILT-41	0,1	24,6	67	2	8	p	w	7	5	5	4	8	8	6	4	8	24,0
Ballerina	1,8	12,0	165	6	7	y	y	7	8	7	7	6	9	8	7	4	18,4
16-0-203-06	1,3	13,5	173	7	5	y	c	7	4	4	4	6	R4	6	2	6	23,1
16-0-132-14	1,7	12,9	186	5	6	br	y	3	4	3	3	7	R8	6	6	6	23,9
S15-036-22	0,7	13,5	148	8	8	y	y	7	7	7	7	6	R5	8	7	6	19,9
Kuras	1,6	12,5	146	5	7	y	c	5	7	6	5	6	R8	4	2	4	25,9
15-IMA-40	1,2	14,0	174	6	4	y	o	2	3	6	7	6	R6	4	4	6	25,2
15-IMI-06	1,0	18,2	220	3	7	dy	o	3	6	6	6	7	R7	6	6	4	22,0
Darling	1,6	10,4	147	7	7	y	y	7	8	7	7	6	R6	8	6	2	18,9

Kartoffelafgiftsfonden

15-IMH-02	1,2	14,2	134	4	7	y	o	5	7	5	5	7	R7	6	6	2	20,1
05-IGA-01	0,6	18,5	130	4	7	y	dy	7	7	5	5	8	R8	6	4	6	21,8
04-IDZ-12	0,9	14,2	126	6	6	r	cw	5	6	7	7	6	R7	4	2	7	23,4
12-IKZ-09	1,1	15,2	162	4	5	br	y	5	6	6	5	6	R7	6	2	6	29,3
13-ILF-14	0,2	13,8	46	7	3	br	cw	8	3	3	3	6	R5	8	2	4	27,5
96-0-100-39	0,8	14,1	114	6	5	y	w	4	5	5	5	7	R7	8	6	4	23,2
Darling	1,7	11,3	181	7	6	y	y	7	7	7	7	7	R7	8	6	2	18,0
14-ILT-26	1,2	16,9	233	3	7	p	w	6	7	4	3	7	R7	8	6	4	25,5
16-0-202-02	1,0	14,1	150	5	4	y	ly	3	4	7	5	6	R5	8	4	2	23,2
16-808-09	0,8	14,7	116	7	7	y	cw	2	3	5	4	6	R7	8	4	4	24,9
16-0-160-28	0,5	16,3	83	4	5	y	y	3	4	5	5	8	R5	8	2	2	20,7
Laperla	2,2	12,2	187	5	7	y	ly	7	7	7	7	5	R7	8	7	2	15,4
168217	0,9	19,1	199	4	5	p	c	7	6	7	7	7	R5	6	4	9	24,8
14-IJR-11	0,8	18,0	216	5	7	br	y	7	4	3	3	4	R8	6	4	6	26,2
Kuras	2,0	12,5	174	5	7	y	w	5	6	5	5	6	R8	6	2	4	25,4
15-IMD-01	0,9	15,9	154	5	7	y	w	6	6	7	6	6	8	8	6	7	24,6
168226	0,5	17,8	124	7	5	br	w	7	4	5	4	7	R7	8	2	2	24,7
D 36-15	0,3	19,7	110	4	4	br	cw	3	4	3	3	6	B7	8	2	4	28,0
16-0-205-03	0,9	11,5	133	8	5	dy	dy	6	4	3	4	7	8	8	7	7	19,8
03-HZU-15	1,3	14,0	190	7	5	y	o	5	6	7	6	7	R8	8	6	7	23,0
11-IGJ-02	1,0	16,6	195	3	3	y	dy	3	4	7	6	7	R8	7	4	6	21,5
97-HGP-01	0,6	12,3	64	7	5	dy	o	8	6	7	6	6	R7	7	7	4	22,6
15-IMI-08	1,2	18,3	255	3	7	y	w	6	6	5	6	6	R8	8	7	2	20,3
Ballerina	1,5	11,8	134	6	7	y	dy	7	8	7	7	6	9	8	7	4	17,2
14-ILH-06	1,2	22,9	478	2	7	ly	c	5	4	6	5	7	R7	4	2	6	25,0
04-IDZ-12	0,9	14,6	134	5	7	r	w	6	6	6	5	6	R7	4	2	7	22,8
16-0-202-03	0,3	18,8	84	4	6	y	ly	5	6	5	4	8	R5	8	2	2	24,9
07-IHM-09	1,0	17,6	212	4	6	y	ly	7	5	4	4	5	R5	7	2	6	27,6
97-HGP-01	0,7	11,4	88	7	5	dy	o	8	6	7	6	6	8	8	7	7	19,6
16-0-208-03	0,5	20,3	154	2	8	y	y	7	7	7	6	7	R7	4	2	6	27,5
10-IKO-09	1,1	14,2	130	4	7	br	w	6	6	4	4	7	R5	6	2	2	24,3
14-ILS-30	1,6	12,3	129	6	5	br	y	6	6	4	4	7	B7	4	2	2	28,1
168227	0,8	18,1	242	6	6	y	w	8	8	7	7	7	R7	8	7	4	21,0
15-IMG-02	0,8	18,7	187	5	5	y	w	5	5	5	5	6	R5	8	6	2	23,6
14-ILP-02	1,2	14,0	170	5	4	ly	c	4	4	6	6	8	R7	8	6	4	23,3
14-IIA-51	0,6	20,1	197	1	6	dy	o	6	6	5	4	7	R7	8	2	7	25,5
16-0-215-01	0,5	20,2	148	7	5	p	p	5	4	7	6	7	R8	8	7	6	18,7
Kuras	2,2	12,5	192	5	7	y	w	5	6	6	5	6	8	4	4	4	24,5
Lady Claire	1,3	13,9	157	6	7	y	y	6	7	8	7	6	R7	2	2	7	25,5
168231	0,6	18,3	204	6	4	dy	dy	7	5	4	5	6	R7	8	2	7	27,1
15-IMH-04	0,7	20,2	191	4	5	dy	o	6	6	4	5	8	R8	8	7	4	19,4
15-IMI-04	1,3	20,9	400	2	7	ly	w	6	7	6	5	5	R7	7	7	2	19,7
Fontane	1,5	10,1	101	7	5	y	y	7	5	5	4	6	8	4	4	4	22,7
10-III-03	0,9	17,7	195	4	6	y	w	5	7	6	5	7	R7	8	7	7	23,0
07-IEO-01	1,3	15,4	221	1	5	br	ly	3	4	4	2	5	R7	7	2	2	28,3
168233	0,4	14,7	101	7	6	br	ly	3	4	4	3	5	8	7	4	4	27,9
13-ILQ-33	1,2	17,4	284	4	3	br	c	2	4	3	3	6	R6	8	6	4	19,9
09-0-192-04	0,2	13,7	32	6	4	y	y	8	5	3	4	5	R7	7	2	6	28,6
04-IDZ-12	0,8	14,2	123	6	5	r	c	7	5	4	4	4	R6	2	2	7	24,3
Ballerina	2,0	11,1	171	7	7	y	y	6	7	8	6	7	9	7	7	4	19,0

Kartoffelafgiftsfonden

16-0-203-19	0,4	19,3	130	5	5	y	c	3	3	6	5	8	R6	8	2	2	23,8
168235	0,9	16,8	213	5	3	y	y	7	4	4	5	6	B6	8	2	6	26,2
06-IJR-02	0,8	16,6	190	5	6	br	cw	7	4	4	4	8	R5	8	2	4	31,1
Ballerina	1,5	11,5	138	8	6	y	y	8	8	7	6	6	9	6	4	2	17,8
15-IMC-04	1,0	14,1	169	6	5	dy	y	8	5	5	5	4	R8	8	8	4	22,6
04-IDZ-12	1,2	15,4	218	5	6	r	w	7	6	6	5	6	R6	6	2	7	23,9
15-ILY-02	1,0	16,8	162	4	7	y	y	5	6	6	5	6	9	6	7	2	21,3
02-HSM-01	0,9	20,5	280	1	7	br	w	3	4	3	4	5	R8	8	7	6	27,4
15-0-188-05	0,4	27,7	207	2	8	dy	y	8	6	5	5	3	R7	7	2	6	23,5
13-IY-04	1,7	13,7	182	5	3	y	ly	3	3	5	5	6	R8	4	2	4	25,8
11-HXO-13	0,5	16,2	107	4	6	br	w	7	5	4	4	5	R7	7	2	2	24,8
97-HGP-01	1,1	10,7	65	7	5	dy	o	8	6	6	5	5	8	8	7	6	20,5
15-ILZ-01	1,2	16,0	270	6	5	y	c	7	5	5	5	6	R7	7	6	2	23,2
14-ILJ-01	0,5	22,0	167	1	7	dy	c	4	4	4	4	5	8	8	2	4	28,8
Darling	1,6	11,8	195	7	6	y	y	7	6	7	7	6	R7	8	8	2	19,1
04-IEE-10	0,8	16,6	217	6	7	dy	o	6	7	7	6	6	9	8	7	8	21,4
Kuras	1,9	12,8	180	4	5	y	c	7	7	7	8	8	8	6	2	6	23,9
16-0-194-09	0,6	18,8	197	6	5	br	w	3	4	7	6	8	R7	4	6	4	25,3
168236	0,8	16,4	163	5	3	y	c	7	4	4	4	7	R7	2	2	6	27,5
15-IMA-05	0,8	19,9	209	2	8	y	ly	6	8	5	5	7	R8	6	2	7	25,2
Laperla	2,2	11,6	159	6	6	y	y	7	7	7	7	6	R5	8	6	2	14,6
15-IMB-20	0,4	21,0	122	3	5	br	w	5	5	3	4	5	R6	6	2	4	29,8
15-ILX-01	1,3	15,7	253	5	5	y	c	5	5	6	6	6	R7	8	7	2	20,5
14-ILL-04	0,8	20,2	222	3	5	r	y/r	5	5	7	7	6	R7	2	2	2	24,7
Darling	1,7	10,9	181	8	7	y	y	7	7	7	6	6	R7	8	6	2	18,1
15-0-193-05	0,6	24,1	284	4	6	dy	y	6	4	5	5	6	8	8	7	8	23,9
99-HLC-01	0,4	28,1	221	2	6	y	ly	6	4	6	7	6	9	8	4	4	27,0
15-ILU-01	1,3	12,8	143	7	6	dy	o	7	7	7	7	5	R8	9	8		15,9
Fontane	1,4	10,5	97	6	7	y	y	5	6	6	6	6	9	4	4	4	21,7
HEO940584-12	0,7	12,3	80	7	4	y	ly	5	4	6	6	7	R6	8	6	2	17,3
88-0-02-14	0,4	17,5	70	6	5	r	w	5	5	7	7	6	R5	8	4	4	24,4
04-IDZ-12	1,2	14,5	167	6	6	r	w	7	5	7	6	5	R6	4	4	8	23,2
16-0-183-06	0,7	15,2	92	4	5	y	c	3	5	5	5	6	R4	8	2	7	29,5
01-HRN-10	0,8	15,2	174	7	6	dy	o	7	6	5	6	7	8	4	4	7	25,9
15-IMC-03	0,8	14,8	154	6	4	y	y	8	5	3	4	4	9	6	7	4	22,9
168238	1,2	16,1	224	5	5	y	c	5	4	5	5	6	R5	8	4	2	23,2
168239	0,3	17,2	81	6	5	br	cw	5	5	5	5	7	R5	8	2	4	23,4
Lady Claire	1,5	13,3	159	6	6	dy	y	7	6	6	5	6	R6	4	4	8	23,4
15-IMF-03	1,4	15,6	261	4	5	y	dy	6	4	6	6	6	R6	7	7	2	22,1
14-ILC-01	0,8	15,8	131	4	6	y	o	7	6	6	7	6	R8	6	4	4	24,8
12-HZX-10	0,6	18,5	206	3	5	y	o	5	4	6	6	7	9	6	4	6	25,8
90-HAF-01	0,2	19,2	69	7	7	br	o	5	4	5	5	6	R5	8	2	7	20,1
15-ILY-01	1,3	19,2	323	2	8	y	dy	8	8	7	7	6	R7	8	7	2	21,0
168240	0,9	15,6	164	6	6	y	w	6	6	5	6	6	R8	8	4	4	24,7
90-HAG-15	1,7	13,8	194	4	7	y	ly	4	5	5	5	4	R7	6	2	2	24,5
16-0-132-15	0,2	22,4	60	6	6	y	dy	5	5	6	6	7	R7	8	6	2	20,8
97-HGP-01	0,9	11,4	115	7	6	dy	o	7	5	6	6	6	R7	8	6	6	20,7
15-ILV-01	1,3	16,6	243	4	5	y	ly	6	5	7	7	4	R7	7	6	4	22,7

Kartoffelafgiftsfonden

Tabel 2: Forkortelser for fænotypiske målinger udført i markforsøget

PLANTID	PlantelD
YLD	Udbytte per plante
TPM	knoldstørrelse i længdemål
TTN	Totalt antal knolde
TSH	Knoldform
REG	Form ensartethed
SKC	Hudfarve
FLC	Kødfarve
EYE	Øjendybde
PTY	Generelt indtryk af knolde
SKS	Hud ensartethed
SKB	Hud skær
SCH	Modtagelighed for skurv
EDC	Enzymatisk mørkfarvning efter 30 min
CKT	Kogetype
ACD	Mørkfarvning efter kogning
QDC	Chipskvalitet efter 4C opbevaring
DMC	Tørstofindhold

Offentliggørelser vedrørende projektet.

Referat af projektet er offentliggjort på Danespos egen hjemmeside:

<http://www.danespo.dk/dansk/for%C3%A6dling/for%C3%A6dling-af-kartofler>

Projektbeskrivelser for de to underprojekter som "Avanceret forædling på diploid niveau" er del af findes ved hhv. Diffugat (<https://www.suscrop.eu/projects-first-call/diffugat>) og FixRes

(<https://topsectortu.nl/nl/new-method-potato-breeding-fixation-restitution-approach>).