# 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, kln@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 kartoflens genetiske opbygning, hvor der er 4 udgaver af hvert kromosom, de er tetraploide. Dette projekt 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 fiksere favorable alleler og bortselektere 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 fiksere favorable gener.

# Projekts faglige forløb

Den grundlæggende vanskelighed ved kartoffelforædling er den enorme genetiske variation. Kartoflen er tetraploid og heterozygot, og der eksisterer ikke effektive måder at fiksere 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 fiksere 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 evaluerings- og selektionsprogrammer i forædlingsvirksomhederne, men nu behøver man blot at selektere 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 bortselektere dårlige alleler. På denne måde udvikles et opstartsstadie 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.
	+ Markforsøget blev udført første gang i sommeren 2019 og gentaget i sommeren 2020. Resultater af markforsøgene er angivet i tidligere rapporter.
* Udvikling af KASP markører for SC gen og 2nG gen(er) baseret på populationer af afkom samt diversitetsforsøget.
	+ 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.
	+ Danespo har i 2020 modtaget markørinformationer om SC genet til opstart af implementering af markøren og efterfølgende brug i Danespos eget forædlingsmateriale. I 2021 har Danespo taget flere skridt for at muliggøre brugen af disse markører i eget laboratorie. Blandt andet er der indkøbt nyt apperatur.
* 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 blev produceret frøknolde af 22 familier. I 2021 er disse familier lagt i marken for at selektere de stærkeste afkom under markforhold. Resultatet heraf kan ses i tabel 1. I 2022 bliver de bedste af afkommet testet for SC genet.
* Definering af liste over ønskede gener til pyramidisering og kendte sorter, der kan udgøre kilder til disse gener.
	+ 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.
	+ 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. I 2021 blev alle resulterende familier markørtestet for tilstedeværelsen af resistensgenerne og de kloner der testede positive for generne er taget fra til krydsning med SC gen donorer i 2022.
* Opstart af SC populationer baseret på frømateriale fra Wageningen Universitet
	+ 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.
	+ I 2020 blev 54 udvalgte sorter med denne selvkompatibel baggrund dyrket til selvbestøvning. Heraf kunne 8 planter succesfuldt selvbestøves og producere frø.
	+ I 2021 blev frø af de 8 planter sået til produktion af frøknolde. De bedste af frøknoldene vil blive sat i krydsningshuset for igen at blive selvbestøvet og øge homozygositeten. Tabel 2 viser det selekterede afkom fra hver af de 8 familier og deres type (S1: selvbestøvet 1 gang, S2: selvbestøvet 2 gange)

Tabel 1: Antal afkom af familier fra 2019 krydsninger med fokus på selvkompatibilitet

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Fam Nr** | **Mor** | **Far** | **Antal i familien** | **Bemærkning** |
| 802 | 08-IID-01 | S15-036-22 | 1 | SC pop, FDR  |
| 803 | 08-IID-01 | 15-IMI-01 | 1 | SC pop, FDR, resistens |
| 805 | 05-IGA-01 | Nautilus | 2 | SC pop |
| 806 |  |  | 0 | SC pop |
| 807 | 04-IDY-02 | Nautilus | 22 | SC pop |
| 808 | 12-IKZ-09 | 15-IMI-01 | 4 | SC pop, FDR, resistens |
| 810 | S15-036-25 | 15-IMA-40 | 4 | SC pop, FDR, Zeaxanthin, resistens |
| 811 | 16-0-205-03 | 04-IDY-02 | 2 | SC pop |
| 812 | 05-IFD-10 | 14-IJR-11 | 10 | SC pop, resistens |
| 816 |  |  | 0 | FDRxSC |
| 820 | 12-IKZ-09 | S15-036-22 | 4 | SC pop, FDR  |
| 823 |  |  | 0 | FDRxSC |
| 824 | 16-809-10 | S15-036-22 | 21 | Zeaxanthin  |
| 825 | 16-0-214-02 | S15-036-22 | 8 | Fpa  |
| 830 |  |  | 0 | SC pop, resistens |
| 831 | 15-IMA-40 | 14-IJR-11 | 1 | SC pop, FDR, Zeaxanthin, resistens |
| 832 | 14-IJR-11 | 03-HZU-15 | 14 | SC pop, resistens |
| 833 |  |  | 0 | SC pop, resistens |
| 834 | 14-IJR-11 | S15-036-22 | 5 | SC pop, resistens |
| 835 | 14-IJR-11 | 12-349-34 | 2 | SC pop, resistens |
| 836 |  |  | 0 | SC pop |
| 837 | 14-ILM-02 | WUR-10-16 | 1 | Chip kvalitet |

Table 2: Udvalgte afkom af selvbestøvninger til videre selvbestøvning

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Mor** | **Danespo familie kode** | **Antal afkom selekteret** | **Klonnavne** | **Type** |
| IVP18-654-2 | DAN21\_902 | 9 | DAN21-902-00(1til9) | S1 |
| IVP18-660-1 | DAN21\_913 | 9 | DAN21-913-00(1til9) | S1 |
| IVP18-660-2 | DAN21\_914 | 9 | DAN21-914-00(1til9) | S1 |
| IVP18-660-6 | DAN21\_918 | 6 | DAN21-918-00(1til6) | S1 |
| IVP18-688-4 | DAN21\_934 | 6 | DAN21-934-00(1til6) | S1 |
| IVP18-688-6 | DAN21\_936 | 6 | DAN21-936-00(1til6) | S1 |
| SB56-079-2 | DAN21\_950 | 5 | DAN21-950-00(1til5) | S2 |
| SB56-079-6 | DAN21\_954 | 9 | DAN21-954-00(1til9) | S2 |

# 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>).