

Anvendelse af DNA markører i planteforædlingen

Gunter Backes
Forskningscentret Risø
Afdeling for Planteforskning
Frederiksborgvej 399
4000 Roskilde
Planteforædling og genetik

DNA-markører på kontaktfladen mellem molekylær genetik og klassisk planteforædling

Den konventionelle planteforædling er baseret på at man krydser sorter sammen for at kombinere forskellige ønskværdige egenskaber fra forældresorterne i afkommet. Efterfølgende bliver afkommet så vurderet for sine egenskaber og de bedste udvælges. Denne udvælgelsesproces er omfattende, kostbar og tidskrævende. De dyrkningsmæssige egenskaber, udbytte og plantens resistens mod forskellige sygdomme skal vurderes og måles og derudover skal der foretages måling og vurdering af plantens kvalitetsegenskaber; bagekvalitet for hvede, maltkvalitet for byg osv.

Disse undersøgelser bliver langt lettere hvis man kender noget til de genetiske mekanismer, der bestemmer planternes forskellige egenskaber. Derudover er det vigtigt at vide, hvor de relevante gener sidder i forhold til hinanden på planternes kromosomer, således at man på forhånd ved, hvilke egenskaber der vil kunne nedarves som en kombination. Ideelt set vil man altså gerne have et detaljeret genetisk kort af placeringen af alle relevante gener i den afgrøde man arbejder med.

I genetikens barndom var man begrænset til de gener, der bestemmer synlige karakterer som formen af plantens forskellige dele, deres farve og tekstur og deres vækstmæssige egenskaber. For omkring halvtreds år siden begyndte man at anvende proteiner som markører for generne. Dette kunne være proteiner direkte involveret i den egenskab man var interesseret i, f.eks. bagekvalitet men også proteiner som man tilfældigvis fandt knyttede sig til den ønskværdige egenskab grundet deres tætte placering på det samme kromosom. På baggrund af dette lykkedes det at lave genetiske kort for de vigtigste af vore afgrøder, men antallet af kortlagte gener var lavt og de genetiske kort derfor ikke særlig detaljerede.

Indenfor de sidste femten år er der imidlertid sket en revolution indenfor den genetiske kortlægning. Flere og flere gener blev kendt og deres position på den enkelte arts kromosomer fastlagt. Vi kender nu den komplette sekvens af to plantearters arvemateriale nemlig fra planten *Arabidopsis* og fra ris. Der vil imidlertid gå lang tid, før man får tilsvarende information fra vore andre kulturplanter, der ofte har meget store mængder af DNA, men i første omgang er det ikke umiddelbart nødvendigt. Imidlertid viste det sig nemlig, at man ved hjælp af mere enkelte tekniker var i stand til at detektere små forskelligheder i planternes DNA såkaldte polymorfier. Disse forskelligheder kan ligge i selve generne, men hyppigst forekommer de i de store strækninger af DNA der ligger mellem generne. Ofte udgør denne tilsyneladende ikke-funktionelle 80-90 procent af plantens arvemasse. Såfremt polymorfien sidder i selve det gen man er interesseret i, har man med andre ord en DNA markør sekvens, som man hurtigt og

simpelt kan detektere. I andre tilfælde kan man finde en polymorfi, der sidder tæt på det gen man er interesseret i, men som man endnu ikke kender sekvensen af. En sådan tætsiddende markør nedarves sammen med det interessante gen og er derfor næste lige så anvendeligt i et forædlingsprogram som hvis det sad i selve genet.

Det er nu muligt, om end et omfattende arbejde, at lave meget detaljerede genetiske kort baseret på genetiske markører i og mellem generne. Man får altså et langt bedre overblik over hvilke gener, der som regel vil følges ad i et krydsningsprojekt. Derudover kan DNA markørerne anvendes i en lang række sammenhænge:

- 1) Sortsidentifikation
- 2) Kvantificering af genetisk diversitet
- 3) Molekylær detektering af enkelt-gen egenskaber
- 4) Molekylær detektering af kvantitative egenskaber
- 5) Selektion i "wide crosses"

DNA-markører i sortsidentifikation

Den mest direkte og enkelte anvendelse af molekulære markører er sortsidentifikationen.

Molekulære markører viser karakteristiske mønstre for hver sort og derfor kan de skelne mellem forskellige sorter med høj præcision. På fig. 1 vises markørmønstre for 27 forskellige hvedesorter med tre forskellige markører. Sortsidentifikation med DNA-markører kan bruges i sortsbeskyttelsen eller i tilfælde hvor der tvivl om en sorts identitet.

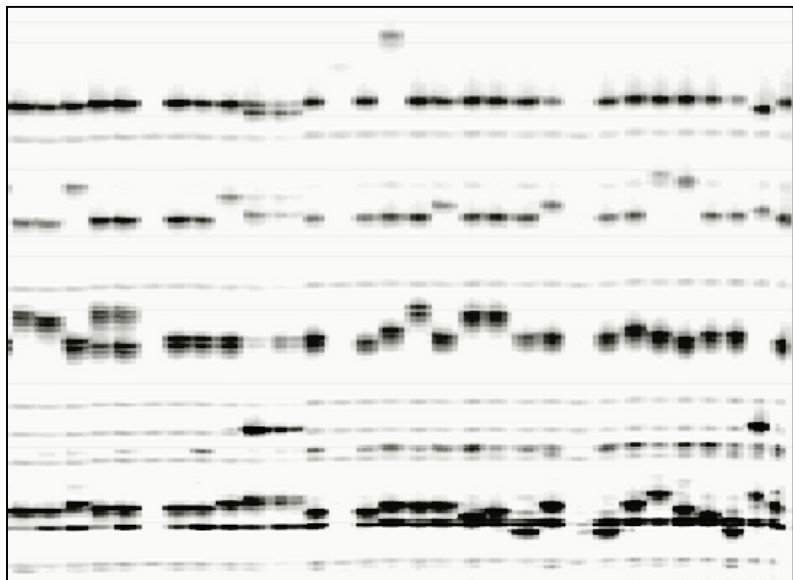


Fig. 1: Identifikation af forskellige hvedesorter gennem DNA-markører

DNA-markører til kvantificering af genetisk afstand og diversitet

Antallet af forskelle (polymorfier) mellem 2 sorter med et given antal genetiske markører er et mål for den genetiske afstand mellem disse sorter. Den genetiske afstand viser, hvor tæt de vedrørende sorter er beslægtet på DNA-niveauet. Informationen kan direkte bruges af forædlerne, hvis de enten vil krydse sorter med en høj genetisk afstand til at skaffe masser af ny variation, eller med en lille genetisk afstand, hvis de kun vil kombinere enkelte ønskede egenskaber af de to krydsningsforældre. Derudover kan den genetiske afstand også bruges til at undersøge den genetiske diversitet i en hvis gruppe af sorter.

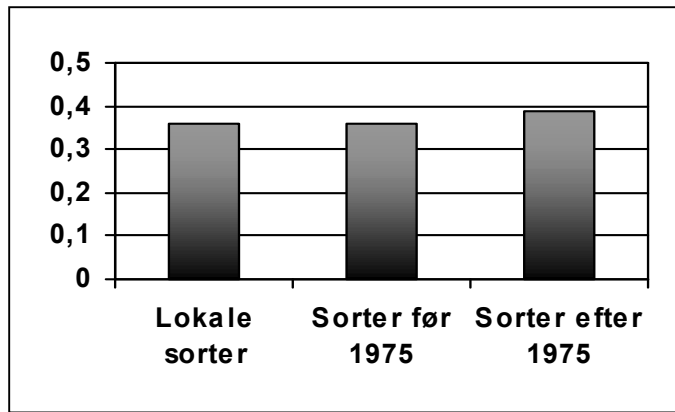


Fig. 2: Udvikling af genetisk diversitet fra lokale til moderne sorter

Fig. 2 viser hvordan genetisk diversitet har udviklet sig fra de gamle lokale sorter hen til de moderne sorter efter 1975. Den moderate stigning i genetisk diversitet i den sidste kategori er sket pga. introgression af nye gener fra krydsninger med eksotisk materiale eller vildbyg (se afsnit om "wide crosses").

DNA-Markører til molekylær detektering af enkelt-gen egenskaber

Som nævnt i den første afsnit, er markører baseret på DNA-polymorfier på gener eller i nærheden af gener. Polymorfier udtrykker sig i forskel af markørmønstre (fig. 1). Derfor kan man, hvis bedømmelsen af egenskaben, genet udtrykker, er vanskelig, dyr eller kostbar, lige så godt bruge DNA-markøreren til at selekttere de afkomslinier som udtrykker den ønskede egenskab. Fig. 3 viser hvordan en DNA-markør kan bruges til at skelne mellem sorter som har eller ikke har meldugresistens-genet *Mla12*. Danske forædler bruger denne metode bl.a. til at undgå den direkte bedømmelse for virusresistens i byg, fordi det ikke er ønskeligt at sprede virussen på forsøgsarealet og fordi markørerne er let tilgængelige. På KVL, i Flakkebjerg og på Risø, men naturligvis også på andre steder i verden, bliver der fortsat og med høj indsats udviklet nye markører, som kan bruges i forædlingsvirksomhederne, primært til sygdomsresistenser. Disse projekter foregår i aktivt samarbejde med og delvist også finansieret af forædlingsvirksomhederne.

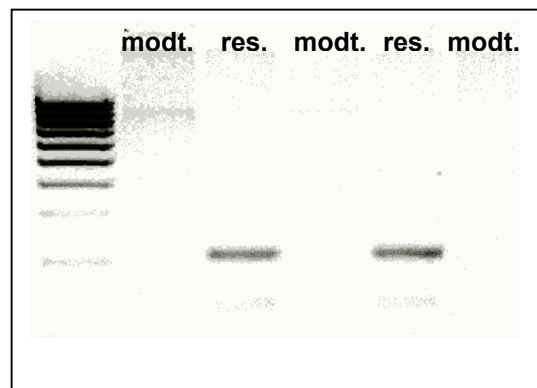


Fig. 3: DNA-markør for meldugresistensgenet *Mla12* på modtagelige (modt.) og resistente sorter (res.)

DNA-Markører til molekylær detektering af kvantitative egenskaber

Hvis egenskaben er påvirket ikke kun af et, men af flere gener, i de fleste tilfælde suppleret med en mere eller mindre stor miljø-effekt, betegnes egenskaben som "kvantitativ egenskab". I sådan et tilfælde er det ikke muligt at aflæse direkte ud fra egenskabens bedømmelse om et bestemt gen er til stede eller ej. Her kræver situationen et fuldstændigt koblingskort med mange markører og nogle højt udviklede statistiske procedurer til at komme frem med genernes position på koblingskortet, samt deres effekt på egenskaben.

Selvom det er meget vanskeligere at finde gener for kvalitative end for kvantitative egenskaber, så er det umiddelbart indlysende, at det kan være meget givtigt at have markører for disse gener. Ikke kun fordi langt de fleste agronomisk vigtige egenskaber nedarves kvantitativt, men også fordi kvantitative egenskaber er meget vanskeligere at håndtere i den klassiske selektionssituation, fordi forædleren altid kun kan se den summariske effekt af alle gener som bidrager til egenskaben, samt miljø-effekten, aldrig det enkelte gens effekt. Kendskab til de enkelte gener gennem koblede markører giver meget bedre muligheder for en målrettet selektion.

DNA-markører til selektion i "wide crosses"

"Wide crosses" forstås her som krydsninger mellem en sort som har nogle gode agronomiske og kvalitetsmæssige egenskaber og en anden sort, som ikke er tilpasset mht. disse egenskaber, men som til gengæld har et interessant gen, tit et resistensgen, som kun findes der. Den ikke tilpassede sort kan enten stamme fra en "eksotisk" baggrund (f. eks. hvede fra Kina) eller kan også være en vild form af den samme kulturplante (f. eks. byg og vildbyg). Metoden foregår ved at krydse afkomslinierne igen og igen med den tilpassede forælder og ved at selekttere ikke kun for tilstedeværelsen af den ene ønskede egenskab, men også alle de agronomiske og kvalitetsmæssige egenskaber, den tilpassede forælder medbringer. Det kan være meget tids- og arbejdskrævende og kan fremskyndes i stor omfang gennem anvendelse af DNA-markører. Markørerne bruges til at teste for tilstedeværelsen af det ønskede gen og samtidig for fraværelsen af alle andre kromosomfragmenter fra den eksotiske eller vilde forælder.

Hvor er vi henne i dag?

I USA er det sådan, at en stor del af forædlingsarbejdet bliver udført gennem universiteter. Her er det helt naturligt, at bruge markører i planteforædlingen både for kvalitative og kvantitative egenskaber. Desuden findes der store forædlingsvirksomheder, som også bruger markørteknologi i stor omfang.

I Europa forholder det sig lige sådan, hvor rammebetingelserne ligner dem i USA. Men også i de lande, hvor planteforædling foregår i små eller mellemstore private virksomheder, bliver der oprettet flere og flere markør-laboratorier, enten i selve virksomheden eller i et fælles laboratorium sammen med andre planteforædlere. Det som gør skridtet ind i den slags bioteknologi nemmere for disse private virksomhederne er, at markørteknologien i planteforædlingen er godkendt af næsten alle organisationer for økologisk landbrug i Europa.

I Danmark er der mht. til korn tre forædlingsvirksomheder. To af dem har et markørlaboratorium. Det de undersøger der, er gener for kvalitative egenskaber, især virusresistens. Desuden prøver de at finde de kromosomsegmenter, de har brugt succesrigt i fortiden til at anvende dem mere målrettet i fremtiden.

DNA-markører i planteforædling er ikke nogen forkromet fremtidsteknologi som måske vil finde sin anvendelse. Det er et produktivt værktøj brugt i hverdagen af danske forædlingsvirksomheder, som hjælper til at tilpasse sorterens spektrum hurtigere til markedets krav.