

Kartofflens genetiske puslespil

– klassisk forædling og ny teknologi

Kartoffelforædling lyder umiddelbart som en stilfærdig beskæftigelse, men forædleren skal være beredt på våbenkapløb med en svamp, klar til jagt på eksotiske gener og i stand til at forudsige forbrugernes krav til kartofler årtier ud i fremtiden. Det tager næste 30 år at udvikle en ny kartoffelsort, hvis nogle af generne skal krydses ind fra vilde kartoffelplanter. Læs om hvorfor kartoffelforædling er en kompliceret sag.

Af Inga C. Bach, Planteforskning.dk, Kirsten Kørup Sørensen, Danmarks JordbrugsForskning og Hanne Grethe Kirk, LKF Vandel

Kartofler anvendes ikke bare som tilbehør til aftensmaden eller til fremstilling af chips. Kartoffler bruges også som råstof til produktion af stivelse, som anvendes som ingrediens i fødevarer eller til industrielle formål. Der er brug for kartoffelsorter med meget forskellige kvalitetsegenskaber, og samtidig skal sorterne opfylde dyrkningsmæssige krav fra avlerne.

Et af de vigtigste krav fra kartoffelavlerne er, at nye sorter er modstandsdygtige mod kartoffelskimmel – den plantesygdom, som var den direkte årsag til hungersnød i Europa for 150 år siden. Skimmelsvampen må ligesom alle andre organismer enten tilpasse sig til livsbetingelserne eller uddø. Derfor ændrer skimmelsvampen og andre skadegørere sine gener, så de kan angribe kartoffelsorter, der før var resistente. Forskere og forædlere tager kampen op og finder nye gener for resistens mod sygdomme og skadedyr, og udvikler modstandsdygtige kartoffelsorter af høj kvalitet til middagsbordet, chips eller stivelse.

Terningerne kastes

Det er kombinationen af gener, der bestemmer egenskaberne hos en kartoffelplante, og første trin i udviklingen af en ny sort er at kombinere generne fra forskellige kartoffelplanter på en ny måde. Det gøres i praksis ved at krydse planterne. Se figur 1. Derefter vurderes egenskaberne hos afkomsplanterne, og de bedste planter vælges ud. Kunsten er dels at vælge de bedst egnede forældreplanter og dels at finde præcis de afkomsplanter, der har den bedste kombination af gener. Hver afkomsplante kunne i princippet blive til en ny sort, men kun en meget lille del af dem vil være egnede. I praksis vælges mellem mange tusinde afkomsplanter for at finde en enkelt ny sort.



Figur 1. Krydsning af kartofler. Pollen fra faderplanten drysses ud på en lille glasplade, og moderplantens støvfang dyppes i pollenet. Foto: LKF Vandel.

Jagten på de gode gener

Hvis en dyrket kartoffelsort krydses med en vild kartoffelart, får afkomsplanterne halvdelen af sine gener fra den vilde kartoffel. Disse gener giver dårlige egenskaber som f.eks. knortede knolde eller høj koncentration af giftige indholdsstoffer. Vilde kartofler bruges derfor ikke i forædling, hvis det kan undgås. Nogle gener findes imidlertid ikke i forædlet materiale. For eksempel kan der mangle gener for resistens mod sygdomme. For at opnå sorter med resistens kan det være nødvendigt at overføre gener for syg-

domsresistens fra vildarter til dyrkede kartofler.

For at slippe af med de uønskede gener fra vild kartoffel, krydses udvalgte afkomsplanter med en forædlet sort. Det kræver mange generationer (tilbagekrydsninger) og dermed mange års arbejde, før alle de uønskede gener er fjernet, og kun de eftertragtede gener fra vildarten er tilbage. Når to forædlede planter krydses med hinanden, er der færre uønskede gener i spil, men også en forædlet sort kan indeholde mange uønskede gener, som først kommer til udtryk i afkomsplanterne.

Frasortering af de uegnede

Afkomsplanter, som ikke har potentiale til at blive til en ny sort, kasseres så tidligt som muligt i forædlingsprogrammet. Mange planter kasseres allerede i marken. Se figur 2. Dermed begrænses antallet af ressourcekrævende laboratorieanalyser mest muligt.



Figur 2. Potentielle nye sorter vurderes i marken. Knoldene bedømmes på størrelse, form, ensartethed, farve og indre fejl. Foto: LKF Vandel.

Kvalitets- og dyrkningsmæssige egenskaber sammenholdes, og kun de bedste afkomsplanter fra en krydsning går videre i forædlingsprogrammet. Jo flere egenskaber, der skal kombineres, jo flere afkomsplanter skal der til, for at der findes en plante med den ønskede kombination af gener.

Modstandsdygtige sorter

Modstandsdygtighed (resistens) mod skimmel er en meget vigtig dyrkningsmæssig egenskab. Skimmelresistens er især vigtig for kartoffelsorter med lang vækstsæson, fordi svampen opformerer sig i løbet af vækstsæsonen. Når resistens mod skimmel skal vurderes i marken, giver man svampen særligt gode vækstbetingelser, så man tydeligt kan se de planter, der er modtagelige. Se figur 3. Kartoffler kan også angribes af skurv, vira, nematoder og insekter. Mest mulig modstandskraft er ønskelig, men samtidig skal en ny sort opfylde mange andre krav, og derfor må forædleren gå på kompromis.



Figur 3. Afprøvning for skimmelresistens. Sprinklerne holder bladene fugtige for at øge smittespredningen. Mange planter er næsten døde efter skimmel angreb. Foto: LKF Vandel.

Resistens mod skadegørere vurderes så vidt muligt i marken, men i nogle tilfælde er vurderingen af resistens usikker under markforhold. Man kan ikke se forskel på resistente planter og planter, der ikke er blevet udsat for smitte. Symptomfrie smittebærere af virus kan også forveksles med resistente planter. Sikker vurdering i marken kræver, at alle planterne bliver udsat for samme mængde smitte, og at alle de modtagelige planter udvikler symptomer. For nogle skadegørere, f.eks. MopTop virus, er vurderingen af planternes resistens så usikker under markforhold, at det i stedet er det nødvendigt at teste planterne i klimakamre, hvor vækstbetingelserne kan holdes konstante.

Vurdering af kvalitet

Vurdering af knoldenes kvalitetsegenskaber kræver ofte laboratorietest. Egnethed til fremstilling af chips eller som spisekartoffel vurderes efter tilberedning (Se figur 4 og 5), mens kartofflernes indholdsstoffer vurderes på grundlag af kemiske analyser. For eksempel måles mængden af stivelse i knoldene og stivelsens kemiske sammensætning analyseres. Stivelse består fortrinsvis af en enkelt komponent, nemlig glukose, men glukoseenhederne kan være sat sammen på forskellig vis (f.eks. lange kæder eller forgrenede strukturer), og mængden af andre komponenter i stivelsen (f.eks. fosfat) varierer. Det har stor betydning for anvendelsen.

Laboratorieanalyser anvendes også til at bestemme koncentrationen af glycoalkaloider i knoldene. Glycoalkaloider er giftige stoffer, som forekommer naturligt i hele kartoffelplanten, men i højest koncentration i grønne plantedele. De fungerer som en del af kartofflens forsvar mod sygdomme og skadedyr.

Glycoalkaloider er med til at give kartofler den karakteristiske smag, men indtagelse af store mængder kan være dødelig. Derfor skal indholdet i knoldene være lavt. Kon-



Figur 4. Spisesorters egenskaber ved kogning afprøves. Knoldene skal være fastkogende og må ikke farves mørkegrå efter kogning. Foto: LKF Vandel.

centrationen af disse giftige stoffer stiger, hvis kartoflerne opbevares under forkerte forhold, f.eks. i lys, eller hvis kartoflerne angribes af sygdomme, f.eks. skimmel.

Den heldige kombination

Krydsning af to kartoffelsorter giver som regel afkomsplanter med meget forskellige egenskaber. Selv når de to forældreplanter ligner hinanden, kan afkomsplanterne falde helt forskelligt ud. Eksempelvis kan afkomsplanterne variere fra meget modtagelige for skimmel til meget resistente, når to resistente sorter krydses. Den store variation

Ordforklaring

Allel – et af de gener, der kan sidde i et bestemt locus.

Co-dominans – forskellige allele gener kommer til udtryk med samme styrke i en heterozygot.

Diploid - to sæt kromosomer pr. celle.

Dominant gen – kun én allel behøver at være til stede i et locus at genet kommer til udtryk.

Gen – et stykke DNA, hvor den ene streng koder for et protein.

Heterozygot - individ, hvor mindst et af de allele gener i et bestemt locus er forskelligt fra de andre.

Homologe kromosomer – kromosomer, som bærer allele gener. En diploid organisme har to sæt homologe kromosomer – et sæt fra moderen og et sæt fra faderen.

Homozygot – individ, hvor de to (diploid) eller fire (tetraploid) allele gener i et bestemt locus er identiske.

Locus – det sted på et kromosom, hvor et bestemt gen er placeret.

Recessivt gen – et vigende gen, som skal være til stede på alle homologe kromosomer for at komme til udtryk.

Tetraploid - fire sæt kromosomer pr. celle.



Figur 5. Sorter til chips testes. De brune prøver er brankede på grund af for højt sukkerindhold. Foto: LKF Vandel.

skyldes dels, at gener i flere forskellige loci kan påvirke den samme egenskab, dels at en kartoffelplante kan have op til fire forskellige allele gener i et locus.

De fleste planter og dyr er diploide, men en del af vores kulturplanter, deriblandt kartoffel, er tetraploide og har fire kromosomsæt. Fordoblingen af antallet af kromosomer betyder, at antallet af kombinationsmuligheder for generne øges drastisk. Ser man på et enkelt locus kan allelerne kombineres på op til 36 forskellige måder, når to tetraploide planter krydses, mens der kun er fire kombinationsmuligheder når to diploide planter krydses. Se Boks 1.

Dominans eller samspil

Hvis et af fire allele gener i et locus dominerer over de andre, vil plantens egenskab (fænotype) svare til den dominante allel. De recessive gener kommer kun til udtryk i de afkomsplanter, som mangler den dominante allel. Et eksempel ses i figur 6 og 7. Her afgør et enkelt dominant gen, om en kartoffelplante får gule eller farvede knolde. Farveintensiteten og nuancen er derimod styret af gener i flere forskellige loci.

For simpelt nedarvede egenskaber med en tydelig fænotype kan man tælle sig frem til udspaltningsforholdet i afkomsplanterne. For eksempel er forholdet 1:1 mellem afkomsplanter med gule og farvede knolde (figur 6).

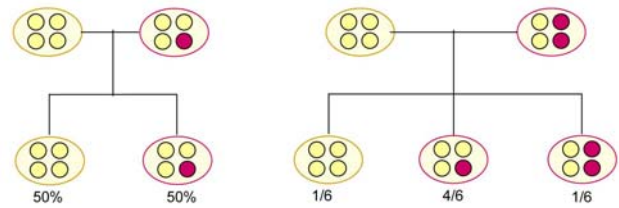
For de fleste egenskaber er nedarvningsmønsteret kompliceret. Det gælder for både dyrkningsmæssige egenskaber (f.eks. skimmelresistens) og for kvalitetsegenskaber (f.eks. kogefasthed eller stivelsesmolekylernes forgreningsgrad). Der er mange gener involveret og nogle virker positivt og andre negativt på egenskaben. Man kan ikke opdele afkomsplanterne i klart afgrænsede grupper, som enten har den ønskede egenskab eller ikke har den. I stedet vurderes det om planterne har „mere eller mindre“ af egenskaben. Egenskaberne betegnes derfor „kvantitative“.

Når der skal vælges ud blandt potentielle nye sorter



Figur 6. Krydsning af kartoffelplanter med røde og gule knolde. På billedet ses én knold fra hver afkomsplante. Af afkomsplanterne fra denne krydsning fik halvdelen farvede knolde, mens den anden halvdel fik gule knolde. Et enkelt locus bestemmer, om en plantes knolde bliver gule eller farvede. Dette locus virker som en slags „tænd/sluk-kontakt“. Allelerne i dette locus koder ikke for en specifik farve, men bestemmer om en række andre gener (farvegener) bliver udtrykt. Hvis planten har den dominante allel for farve (●), udtrykkes farvegenerne. Det er kombinationen af farvegener, som bestemmer knoldenes farvenuance. Der er ligeså stor variation i farvegenerne i afkomsplanter med gule knolde, som i afkomsplanter med farvede knolde, men afkomsplanter med gule knolde har den recessive allel (○), og derfor er der slukket for dem.

kompliseres sagen yderligere af, at mange kvantitative egenskaber påvirkes af dyrkningsbetingelserne, f.eks. regnmængde, gødningsniveau mv. Derfor skal der mange målinger og beregninger til, før det kan afgøres, hvilke planter, der kan blive til nye sorter.



Figur 7. Genotypen kan udledes af udspaltningsforhold i næste generation. Af et udspaltningsforhold på 1:1 kan man udlede, at forældreplanten med de røde knolde har en enkelt kopi af den dominante allel (●) og tre kopier af den recessive allel (○) for gule knolde (A). Hvis forældreplanten med de røde knolde havde haft to kopier af den dominante allel (●), ville 5/6 af afkomsplanterne have haft farvede knolde (B).

Manipulation med kartofflernes kromosomtallet

De fleste vilde kartoffelarter er diploide og har 24 kromosomer. De har altså kun halvt så mange kromosomer som den dyrkede kartoffel. Det betyder, at den vilde kartoffelart kun vanskeligt kan krydses med almindelige kartoffelsorter. Selvom kartoffer normalt er tetraploide med 48 kromosomer, er det muligt at fremstille levedygtige og fertile kartoffelplanter, som kun har to sæt kromosomer, der svarer til kromosomerne i de vilde kartoffelarter. Se boks 2.

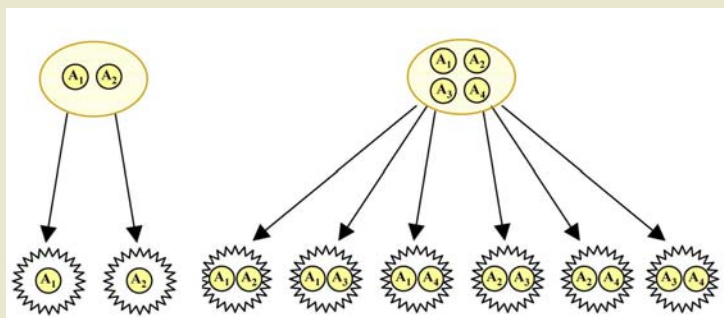
Det halverede kromosomtallet giver bedre mulighed for at krydse med diploide vilde kartoffelarter. Ved at foretage grundforædlingen i linier, som kun har 24 kromosomer, lettes udvælgelsen af velegnede planter betydeligt. De recessive gener er ikke skjult i samme grad, og nedrivningsmønstrene er langt mindre komplicerede end i den tetraploide kartoffel. Man kan derfor slippe af med uønskede gener i løbet af relativt få generationer. Kartoffelplanter

Boks 1. Fordobling af kromosomtallet mangedobler antallet af kombinationsmuligheder.

Forfaderen til den kartoffel, som dyrkes i Europa, er diploid og har i alt 24 kromosomer, altså 12 kromosomer fra moderplanten og 12 tilsvarende (homologe) kromosomer fra faderplanten. Den dyrkede kartoffel er tetraploid og har fire homologe kromosomsæt. Hvor en diploid plante maksimalt kan have to forskellige allele gener i et locus, kan der være op til fire forskellige alleler i en tetraploid plante.

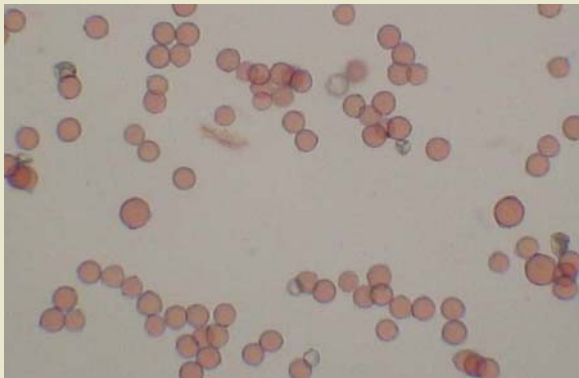
Køncellerne (ægcelle eller pollen) i den diploide kartoffel indeholder kun ét sæt kromosomer, mens den tetraploide kartoffel har to sæt kromosomer i køncellerne. Hvis man blot ser på et enkelt locus, kan der dannes op til 6 forskellige kønceller i en tetraploid kartoffel, mens der maksimalt kan dannes to forskellige kønceller i en diploid kartoffel.

Ved befrugtning sammensmeltes to kønceller (ægcelle fra moderplanten og pollen fra faderplanten). Når to diploide planter krydses, er der op til 4 kombinationsmuligheder (2 x 2) for hvert locus. For tetraploide planter er der op til 36 kombinationsmuligheder (6 x 6) for hvert locus. Kartoffel indeholder ca. forskellige 30.000 loci, som er fordelt på de 12 forskellige kromosomer.



Boks 2. Kromosomtallet kan halveres og fordobles. En diploid kartoffelplante kan fremstilles ved at krydse en almindelig kartoffelsort med en speciel klon af den vilde kartoffelart *Solanum phureja*. Når blomster hos en almindelig tetraploid kartoffel bestøves med pollen fra denne specielle *S. phureja*, presses ægcellen i nogle enkelte tilfælde til at danne en kim (et frø), uden at den er blevet befrugtet. Da ægceller ligesom pollen er dannet efter en reduktionsdeling, vil kromosomtallet være halveret i forhold til moderplanten. En anden metode er at dyrke pollenkorner på kunstige næringsmedier med diverse plantehormoner. Derved er det muligt at få enkelte pollenkorner til at danne nye planter med samme kromosomtallet som kønscellen.

Der er forskellige metoder til at fordoble kromosomtallet, så man igen får en tetraploid kartoffelplante. Den mest brugte metode er at bruge diploider, som danner ureducerede kønsceller. Normalt indeholder kønscellerne det halve antal kromosomer af forældreplanten, men sommetider sker der fejl i processen, så delingen mislykkes og kønscellerne får samme kromosomtallet som forældreplanten. Disse kønsceller kan så befrugte almindelige tetraploide kartoffelplanter. En anden metode er at sammensmelte (fusionere) væggløse celler (protoplaster) fra to forskellige diploide kartoffelplanter.



Farvede pollenkorner fra en diploid kartoffelplante. De fleste pollenkorner indeholder 12 kromosomer, men i nogle få pollenkorner fra en diploid plante er der ikke sket en reduktionsdeling. Disse pollenkorner har derfor 24 kromosomer – det samme kromosomtallet som normalt pollen fra tetraploide planter.

På billedet er der tre pollenkorner, der er større end de andre. Disse pollenkorner har 24 kromosomer og kan befrugte en tetraploid kartoffelplante. De mange pollenkorner med 12 kromosomer giver ikke afkom i en tetraploid krydsning, og de dannede knolde vil derfor være tetraploide.

med 24 kromosomer giver ikke tilstrækkeligt højt udbytte i forhold til tetraploide kartoffelplanter. Det er derfor nødvendigt at komme tilbage til det oprindelige kromosomtallet på 48. Se boks 2.

Genetiske markører

Nogle egenskaber kan ikke umiddelbart vurderes, men kræver dyre og tidskrævende målinger for at blive fastlagt. For at begrænse antallet af dyre laboratorieundersøgelser og antallet af år til en ny sort kan markedsføres, arbejdes der hele tiden på at udvikle nye teknikker, som kan hjælpe i forædlingen. En af disse teknikker omfatter anvendelsen af genetiske markører, som fungerer som pejlemærker i kartoffelens DNA.

Hvis en markør ligger meget tæt på et gen, som koder for en bestemt egenskab, vil markøren som regel nedannes sammen med dette gen. Derfor kan man undersøge, om markøren er til stede i planten i stedet for at undersøge, om planten har egenskaben. Især ved indkrydsning af recessive egenskaber er DNA-markører en stor hjælp, fordi det er muligt at se om en plante bærer et ønsket gen, selvom det er „skjult bag“ et dominant uønsket gen. Man kan så udvælge planter med det ønskede gen ved hjælp af DNA-markøren og bruge dem i det videre forædlingsarbejde. Først når alle dominante alleler er krydset ud, vil den recessive egenskab komme til udtryk.

Nye metoder supplerer gamle

I århundreder er der blevet udviklet kartoffelsorter ved hjælp af de klassiske forædlingsmetoder, krydsning og selektion, og den dyrkede kartoffel er derfor meget forskellig fra sine vilde forfædre. De gamle sorter er blevet forædlet udelukkende på grundlag af fænotyper og uden kendskab til de gener, der bestemmer egenskaberne.

I næsten 100 år har man benyttet artskrydsninger til at overføre gener fra vilde kartoffelarter til den dyrkede kartoffel. I dag suppleres metoderne til krydsning og selektion af bioteknologiske metoder, men de grundlæggende principper er fortsat, at generne kombineres på en ny måde ved hjælp af krydsning, og at de bedste genotyper udvælgues.