

Utvärdering av genmarkörer

Slutrapport 050614

Bakgrund

Genmarkörer har fått en allt mer central roll i växtförädlings-sammanhang, dels vid markör-assisterat urval för agronomiska egenskaper, dels i situationer där det är nödvändigt att känna till ett växtmaterials DNA-profil (fingerprinting). Sammanfattningsvis faller användningen av markörer på SW i 9 grupper:

1. Selektion för monogena egenskaper, t ex *Yd₂* i korn.
2. Selektion för polygena egenskaper, t ex *Phoma lingam*-resistens i *Brassica*.
3. Pyramidisering av resistensgener med hjälp av markörer.
4. Återkorsningsserier: markörer används för selektion för en önskvärd egenskap från en donator samtidigt som icke önskat bakgrunds-DNA reduceras.
5. Korsningar med primitivt material, t ex *Hordeum spontaneum*.
6. Hybriditetskontroll, t ex MSL-systemet i raps.
7. Genomanalys, genetiskt avstånd mellan förädlingslinjer.
8. Sortidentifikation, fingerprinting.
9. GMO, elite event-kontroll i *Brassica*.

Målsättningen med projektet "Utvärdering av markörer" har varit att kunna erbjuda växtförädlingen robusta och pålitliga marköranalyser i stor skala och på kort tid för viktiga grödor.

Material och metoder

Aktuellt förädlingsmaterial och kända referenssorter av vår- och höstkorn, höstvet, råg, havre, raps, rybs, ärt, vitkål, blomkål och rajgräs.

1000 SSR-markörer i vete från AgroGene-konsortiet.

500 SSR-markörer i korn från Scottish Crop Research Institute, EU-projekt.

500 SSR-markörer i *Brassica* från CeleraAgGen-konsortiet.

177 SSR-markörer i råg från BAZ-konsortiet.

315 SSR-markörer i ärt från AgroGene-konsortiet.

Kopplade PCR-baserade markörer som använts har hämtats från litteraturen, DNALandMarks, Scottish Crop Research Institute, VLB, Plantech, INRA, Monsanto, Bayer och Agriculture and Agri-Food Canada (konsortium) samt intern utveckling.

Resultat

Automation

Under projektperioden har ett "high-throughput marköranalyssystem" utvecklats: PCRanalys-kapaciteten har ökat från 44 000 till 350 000 per år. Det automatiserade PCR-systemet består av en robotarm från CRS som flyttar mikrotiterplattor i 96-hålsformat mellan olika stationer: en kylkarusell (CRS robotics), en pipetteringsrobot (Multiprobe II), en PCR-maskin (MJ Research DNA Engine Tetrad PTC 225) och en plattförslutare (March)(ref. 13). Systemet har använts storskaligt i *Brassica*- (ref. 7) och kornförädlingen (ref. 28). En automatisk sekvenseringsapparat (Spectrumedix 9610), med 96 kapillärer, för fragmentanalys har integrerats i systemet (ref. 28). Mjukvara för dels fluorescerande mikrosatellitanalys, dels etidiumbromid-baserad markörselektion har utvecklats i samarbete med Spectrumedix. Priset per markör-analys har reducerats ytterligare genom automation och genom att reducera mängden kemikalier för PCR- och fragmentanalys. Sekvenserna används numera vid SSR-analys av *Brassica*, korn, vete, råg och ärt.

Ett viktigt delmål i Christophe Daytegs doktorandarbete som pågår, är att automatisera utvecklingen av markörer kopplade till agronomiskt intressanta egenskaper.

Korn

En utvärdering av markörer kopplade till viktiga egenskaper i korn har utförts. Det gäller markörer kopplade till kornrost-, kornmjöldaggs-, bladfläcksjuka-, *Rhynchosporium*-, Barley Yellow Mosaic Virus-, Barley Yellow Dwarf Virus-resistens samt markörer kopplade till mältningsegenskaper. Totalt har 43 markörer kopplade till 23 gener testats. De flesta markörerna har testats mot 45 förädlingslinjer och resultaten finns i tabell 1.

Tabell1: Utvärdering av kornmarkörer kopplade till viktiga egenskaper. A: Diagnostisk markör för rutinanalys. B: Markören kan användas i speciella korsningar, inte fullt diagnostisk. C: Svåränvänd av tekniska orsaker eller inte diagnostisk. D: Under fortsatt utvärdering.

Egenskap	Gen	Typ	Namn	Resultat	Källa
BYDV	<i>Yd2</i>	PCR	YLP	A	Ford et al. 1998
BYDV	<i>Yd2</i>	PCR	YLM	A	Paltridge et al. 1998
Kornrost	<i>Rph16</i>	PCR	MWG2133	A	Ivancic et al. 1999
Kornrost	<i>Rph7</i>	PCR	LrkSNP	A	Brunner et al. 2000
Kornrost	<i>Rph7</i>	STS	MWG838	B	Graner + Mano et al. 1999
Kornrost	<i>Rph7</i>	STS	cMWG691	C	Graner et al. 2000
Kornrost	SLUph14	STS	2 markörer	C	DNALandMarks
Kornrost	SLUph14	IMP		C	DNALandMarks
Kornrost	SLUph14	SCAR		B	DNALandMarks
Kornrost	SLUph14	CAPS		D	DNALandMarks
Kornrost	<i>Rph15</i>	PCR	P12M40	C	Falk, SLU
Stem rust	<i>Rpg1</i>	PCR	ABG077	B	Horvath et al. 1995
Mjöldagg	<i>MLLa</i>	STS	MWG097	B	Mohler & Jahoor, 1996
Mjöldagg	<i>Mlo</i>	PCR	3SSRs	B	SCRI
Mjöldagg	<i>Mlo11</i>	PCR		A	Analys på SCRI
Mjöldagg	<i>Mlo1, Mlo9</i>	PCR		A	Analys på EpiGen
Mjöldagg	<i>Mlo</i>	PCR	SSR	B	SCRI + DNALandMarks
Mjöldagg	PI296861	SSR		A	DNALandMarks
<i>D. teres</i>	SLUdt991	SSR		B	DNALandMarks
<i>D. teres</i>	SLUdt991	SSR		A	DNALandMarks
<i>Rhynchosporium Rh2</i>		PCR	6 markörer	D	Schmidt et al 2001
<i>Rhynchosporium Rh2</i>		PCR	2 SSRs	D	Reitan et al. 2002
<i>Rhynchosporium Rh-Rh3-Rh4</i>		SSR	2 SSRs	D	Reitan et al. 2002
Insekt	QTL	ISSR		B	DNALandMarks
BYMV	<i>rym4</i>	SSR	Bmac029	A	SCRI + Graner
BYMV	<i>rym5</i>	SSR	Bmac029	A	SCRI + Graner
BYMV	<i>rym9</i>	STS	CO4H910	A	Werner et al. 2000
BYMV	<i>rym9</i>	SSR	HVM67	B	Werner et al. 2000
BYMV	<i>rym11</i>	SSR	HVMO3	A	Bauer et al. 1997
Whisky	EPH	SSR		B	SCRI
Slutförjäsningegrad		PCR	3 markörer	A	VLB

Av ovanstående markörer ändrade *rym4*- och *rym5*-analys förädlingsstrategin för Barley Yellow Mosaic Virus-resistens. Marköranalys är nu den viktigaste metoden för urval och fältanalyser används enbart för validering. Markörbaserad pyramidisering med *rym9*- och *rym11*-markörer fungerar tekniskt bra.

Av 6 markörer för *Rhynchosporium*, *Rh2*, från Schmidt et al. 2001 ger 5 av dem PCR-fragment av bra kvalitet som i nästa steg klyvs med restriktionsenzym för undersökning av polymorfism. Fokus på rostresistensgenerna *SLUph14*, *Rph16* och *Rph15* tyder på att dessa antingen är en och samma gen eller mycket nära kopplade, vilket betyder att markörbaserad pyramidisering inte är möjlig, men väl markörbaserat urval. Pyramidisering med andra rostresistensgener som *Rph7* är däremot fortfarande aktuellt. Markörer för resistensgener mot mjöldagg, *mlo9* och *mlo11*, har testats i SW-material på Scottish Crop Research Institute och EpiGene i Tyskland. På Risö i Danmark pågår TILLING av *mlo*-sekvensen och SNP-markörer utvecklas. Via markörsamarbete med Risö i "Öresund Food Network" kan *mlo*-markörer bli tillgängliga, varför beslut inte har tagits om köp av *mlo*-markör.

Under projektperioden har ISSR-markörer och SSR-markörer använts för studier av genetisk diversitet i både modernt korn och lantraser i samarbete med SLU, Alnarp. Marköranalyser visar att diversiteten inte har försämrats genom åren (ref. 19, ref. 27).

En icke destruktiv metod för "high-throughput"-DNA-extraktion av kornkärnor har utvecklats som är speciellt användbar vid "shuttle breeding" där förädlingsmaterial skickas över landsgränser (ref. 3, ref. 10). Arbetet var examensarbete i Rebecka von Posts (Öhlund) utbildning till Bachelor of Science. Bulktester där 6-8 individer undersöks i en och samma PCR-analys har utvecklats för särskilt viktiga markörer, BYMV-markören för *rym4* och *rym5* samt VLB-markören för slutförjäsningsgrad, som en hjälp i utvärderingen av sorter eller avancerade förädlingsgenerationer, d v s F₄ och senare generationer. En metod där bulktest för VLB-analys utförs på 5 dagar gamla groddar har utvecklats.

Christophe Dayteg har i sitt doktorandstudium och i samarbete med danska växtförädlare i "Öresund Food Network" identifierat en havrecystnematodmarkör i mappingpopulationen "Buddy x Cecilia". Markören är 9cM från resistensgenen och arbetet fortsätter med utveckling av markörer som är nära genen.

I samarbete med DNALandMarks finns 34 kartläggningspopulationer och ytterligare planer på 42 nya populationer där projekten tar fram markörer för sjukdomsresistensgener, särskilt ifrån *Hordeum spontaneum*. Fokus ligger på nya gener för mjöldaggs-, *Rhynchosporium*-, bladfläcksjuka- och *Ramularia*-resistens. Lina x *H spontaneum*, SWs markörreferenspopulation ingår i samarbetet med DNALandMarks i en balanserad återkorsningsserie för överföring av insektsresistens till modernt korn. Lina x *H spontaneum* har också visat sig klyva för allelopati (ref. 24).

Vete

Mikrosatelliter från AgroGene-konsortiet har kartlagts i ITMI kartläggningspopulation av Daryl Somers, Agriculture Canada och är tillgänglig genom AgroGene-konsortiet.

I samarbete med DNALandMarks har publicerade SSR-markörer och SSR-markörer från AgroGene och DNALandMarks testats på 81 vetelinjer från SW-förädlare och ett set med robusta, kartlagda SSRs har definierats och ett dendrogram producerats med 106 SSRs. Ett genomstudium där 52 selekterade SW linjer som innehåller föräldrar till sju planerade kartläggningspopulationer för markörer för gulrost-, brunrost-, mjöldaggsresistens och *Septoria tritici*-resistens pågår. Av 60 planerade SSR-markörer har 30 testats och resultaten kommer att användas till planering av nya växtförädlingsprogram.

I samarbete med KVL och danska veteförädlare i "Öresund Food Network" har tre mappingpopulationer med resistens mot mjöldagg, gul- och brunrost och *Septoria tritici* tagits fram och materialet har testats i fält i Sverige och Danmark. Markörarbeten har påbörjats på KVL och intressanta regioner för gulrostresistens har identifierats.

Genom samarbete har SW tillgång till markörer som kopplar till *Septoria tritici*-resistensgenerna *Stb6*, *Stb9*, *Stb11*, *Stb7*, *Stb10*, *Stb11*. Markörerna har utvecklats i BIRST, EU projekt från JIC, England.

Råg

I råg har 177 SSR-markörer från BAZ-konsortiet och från utväxling med Lochow-Petkus evaluerats baserat på 4 linjer x 4 plantor och SSR-analys i agaros. 40% av markörerna var polymorfa och 56% var monomorfa i SWs material. 65 utvalda markörer används för att testa 28 linjer x 4 plantor med hjälp av fragmentanalys med sekvenser.

Publicerade markörer (Stracke et al. 2003) för restorerens egenskaper för hybridrågförädling har testats men ger inga PCR-produkter i SWs material. Två markörpopulationer med så kallad Iranian restorer är därför utgångspunkt för utveckling av markörer kopplade till egenskapen. Bladprov av bra och dåliga pollenproducenter har tagits. Ytterligare två populationer (valideringspopulationer) har tagits fram för Iranian restorer.

Fyra kartläggningspopulationer för Pico Gentario restorer samt bladrost-, *Rhynchosporium*- och mjöldaggsresistens tas fram för markörutveckling i samarbete med DNA LandMarks.

Havre

I samarbete med IGER i Wales, Olof Olsson från Göteborgs Universitet och DNALandMarks utvecklas havremikrosatelliter i "OatLINK"-projektet. 52 SSR-markörer har utvecklas från ett EST-bibliotek från Göteborg och evaluerats på 8 havrelinjer. SWs kartläggningspopulation "Freja x Mathilda" RIL med 200 F₉ individer ingår i samarbetet. F x M har 243 kartlagda markörer och tillförs SSR- och SNP-markörer samt agronomiska värden för olja, protein, kronrost- och nematodresistens.

Från Brian Rosnagel, Kanada, har en *Pc68*-markör för kronrostresistens erhållits och använts för karakterisering av SW-linjer. Detta är första steget i markörbaserad pyramidisering av rostresistensgener i havre.

Brassica

Mikrosatelliter och andra markörer har använts i *Brassica napus*, *B. oleracea* och *B. rapa*. 500 SSR-markörer från CeleraAgGen är mycket användbara.

En utvärdering av markörer kopplade till viktiga egenskaper har utförts. Det gäller markörer kopplade till *Phoma*- och klumprotresistens, MS-, Polima-, Ogura- och SI-hybridssystemen samt herbicidtolerans. Totalt har 46 markörer kopplade till 25 gener testats. De flesta markörerna har testats mot 50 förädlingslinjer och resultaten ses i tabell 2.

Tabell 2: Utvärdering av *Brassica*-markörer kopplade till viktiga egenskaper. A: Diagnostisk markör för rutinanalys. B: Markören kan användas i speciella korsningar, inte fullt diagnostisk. C: Svåränvänd av tekniska orsaker eller inte diagnostisk. D: Under fortsatt utvärdering.

Egenskap	Gen	Typ	Namn	Resultat	Källa
Phoma	QTL	PCR	DLM38	A	DNALandMarks
Phoma	"Surpass"	SSR	5 markörer	D	AAFC
Klumprot	QTL	PCR	STS (3 markörer)	C	DNALandMarks
SI	S-allel	CAPS	PS5/15	A	Nishio et al. 1994
SI	S-allel	CAPS	PS3/21	A	Nishio et al. 1994
SI	S-allel	CAPS	SI-EF	A	Brace et al. 93 + DLM
SI	S-allel	EST	E60EST	A	DNALandMarks
MS	sterilitet	ISSR		A	SW laboratoriet
MS	sterilitet	SSR		A	DNALandMarks
Polima	restorer	PCR	pol	B	DNALandMarks
Ogura	restorer	PCR	Kosena	A	Plantech
Ogura	CMS	PCR	Kosena	D	Plantech
Ogura	restorer	PCR	SW (4 markörer)	A	DNALandMarks
Ogura	restorer	PCR	SW	D	DNALandMarks
Ogura	restorer	PCR	BolJon	A	INRA
Herbicidtolerans LL		PCR		A	Bayer
Herbicidtolerans RR		PCR		A	Monsanto

B. napus.

Utvärdering av markörer kopplade till viktiga egenskaper har visat att DLM38 som är kopplad till *Phomaresistens* (a- och d- allelerna) inte förklarar så stor en del av variationen för denna kvantitativa egenskap som först förmodades. En ny så kallad "0-allel" har observerats med DLM38 och denna har visat sig ha resistenskoppling. Markörerna är användbara för pyramidisering av *Phomaresistens*gener i kombination med *Phomaresistens*gener från "Surpass 400". "Surpass 400" är en mycket viktig resistensälla och SW har tillgång till markörer genom konsortiumsamarbete med Agriculture and Agri-food Canada. "Surpass 400" korsas numera till både höst och vårraps. Markörer utvärderades i agaros där 1 markör var bra, medan 3 inte var polymorfa. För närvarande testas markörerna i sekvensern.

Oguramarkörer från samarbete med DNALandMarks, från Plantec och INRA har använts i många sammanhang för karakterisering av SW- och INRA-Ogurarestorer i höst- och vårraps och i olika förädlingsgenerationer. Fingerprints med Oguramarkörer från DNALandMarks är samtidigt ett test för "linkage drag" från rädisa som ger hög glukosinolathalt.

Markörer för SI-hybridssystemet som tagits fram i samarbete med DNALandMarks och publicerade markörer för samma QTL1 för SI systemet fungerar bra men evaluering av 2 nya markörer för QTL2 visar SI systemets komplexitet och att mer metodutveckling behövs.

En markör för sterilitet i MS-hybridssystemet har identifierats utan kartläggningspopulation och är ett sällsynt exempel på associationskartläggning. Dr Tu, gästforskare från Universitetet i Wuhan, har använt MS-markörer i Svalöv för att studera hybridssystem som en del av samarbetet mellan SW och Universitetet i Huazhong. MS-markörer har också med framgång testats i kommersiellt viktigt material av höstraps för den tyska och franska marknaden.

Mikrosatelliter är fortsatt ett mycket nyttigt verktyg för hybridbestämning av nya kommersiella rapshybrider med MS-systemet, SI-systemet och i kål baserad på SI-systemet. Mikrosatellitmarkörer används i stor skala för test av hybridkvalitet. Adria Garcia, utbytesstudent från Lunds universitet och Barcelona, har utvecklat en DNA-extraktionsmetod direkt på frön som möjliggör test på en dag (ref. 9). En snabb DNA-extraktionsmetod på gröna skott har utvecklats av Marie Nilsson. Arbetet "Development of high-throughput PCR based method for analysing gene modified rapeseed sprouts" är Maries examensarbete till Bachelor of Science (ref. 7). Fröbulk- (300 frön) extraktionsmetoder har utvecklats i samband med laboratoriets kvalitetsanalyser.

Mikrosatelliter och ISSR-markörer har använts för genomstudier i höst- och vårraps. Det genetiska avståndet används som riktlinje vid planering av korsningar (ref. 16, ref. 25), speciellt när det är frågan om hybridförädling (ref 18).

ISSR-markörer har dessutom använts till kontroll av renhet i alloplasmiska återkorsningslinjer (F_{12}), där kärna-cytoplasmainteraktioner studeras med 15 olika cytoplasmor och 3 olika faderlinjer.

Sexton markörpopulationer för *Phoma*- och *Verticillium*resistens, SI, MSL, Ogura och High oleic acid har utvecklats och är samarbetsprojekt med DNALandMarks.

B. rapa

Phomaresistens har introducerats från *B. napus* och markören har i vissa fall visat att överföringen av den viktiga DLM38 QTL var framgångsrik. Rybssynteter, där föräldrar och hybrider är mixade har analyserats med en kombination av mikrosatelliter, S-alleler och ISSR-markörer. Markörlaboratoriets roll var att bestämma förhållandet mellan P_1 , P_2 och hybrider. Detta ställer stora krav på markörer eftersom *B. rapa* är korspollinerande och föräldrar och hybrider således klyver med alla markörer. En kombination av markörer skulle sannolikt lösa problemet men förädlingen av rybs har avslutats och därmed även markörarbetena.

B. oleracea

Mikrosatellitmarkörer för hybridbestämning i vitkål har utvecklats av Adria Garcia (ref.9). Mikrosatelliter är effektiva och kan komplettera användandet av S-alleler för hybridbestämning i kål (ref. 2).

Ärt

AgroGene (med JIC) har kartlagt 180 SSR som SW har tillgång till i kodad version genom AgroGene-konsortiet. Mikrosatelliterna är av mycket bra kvalitet och visar god polymorfi i förädlingsmaterial och framtida kartläggningspopulationer (ref. 4).

Markörpopulationen "Majoret x 955180" med mjöldaggsresistens, *Ascochyta*resistens och morfologiska karaktärer har undersökts med 315 SSR från AgroGene-konsortiet.

Examensarbetare Madeleine Ek från genetikhuset vid Lunds Universitet har i Svalöv utvecklat markörer som är kopplade till mjöldaggsresistens. Närmast kopplade markör var 10.4 cM men med en kombination av 2 markörer kan urval företas med 1.1% felsektion vilket är tillräckligt bra för praktisk användning (ref. 20, ref.26).

I ärtsorten "SW Clara" har 2 områden i genomet identifierats som signifikant visar koppling till kvaliteten på ärtsoppa. Experimentet upprepas och om samma mönster upprepas kan markörer identifieras som kan användas för markörbaserad förbättring av soppan.

Lolium

I laboratoriet testas ett fåtal publicerade mikrosatelliter och avtal om tillgång till IGER mikrosatellitmarkörer i *Lolium* har just undertecknats.

Kartläggningspopulationer har planerats med kronrost- och *Typhola*resistens, foderomvandlingsförmåga, smala blad, NDF och tidighet. Tio populationer x 10 plantor (inkluderar föräldrar till framtida kartläggningspopulationer) har använts i denna korsbefruktare för att med ISSR-markörer producera ett släktskapsträd baserat på 88 polymorfa loci (ref. 8). Arbetet fortsätter med SSR-markörer och AMOVA-analys som måste användas för att utvärdera variationen inom och mellan sorter i korsbefruktare.

Diskussion om markörsamarbete i vallväxter med Danish Institute of Agricultural Sciences har inletts.

Diskussion

I utvärdering av markörer är graden av polymorfi i aktuellt förädlingsmaterial den första frågan som måste besvaras. Samtidigt fås viktig information om förädlingslinjers genetiska bakgrund samt ett genetisk fingerprint av aktuella linjer. Resultatet ligger sedan till grund för planering av mappingpopulationer i vilka markörer kopplade till egenskaper identifieras. Slutligen är en utvärdering av kopplade markörer nödvändig. Utvärderingen ska visa om markören är diagnostisk i ett bredare förädlingsmaterial.

För utveckling av kopplade markörer för markörbaserat urval (MAS) måste både genotypning och fenotypning fungera och speciellt för kvantitativt nedärvda egenskaper är marköridentifiering en lång process. Användning av MAS begränsas i dag av brist på diagnostiska markörer för egenskaper. Publicerade arbeten är användbara, men det är ofta svårt att upprepa markörresultat från litteraturen. Däremot fås en indikation om var t ex resistensgener finns i respektive genom vilket kan användas i egna studier. Exempel på bra markörer som är nära kopplade, diagnostiska, användbara för "high-throughput" och som ändrar förädlingsstrategier finns markerade med "A" i tabell 1 och 2. I korn är BYMV-resistensmarkörerna (tabell 1) ett bra exempel på diagnostiska markörer där MAS och pyramidisering av *rym*gener helt är baserat på markörer. I raps (tabell 2) möjliggör Ogura-restorermarkörer dels MAS, dels fingerprinting av viktigt förädlingsmaterial.

Publikationer

1. Tuvešson, S., Ljungberg, A., Johansson, N., Karlsson K-E., Suijs, L. W. & Josset, J-P. 2000. Large-scale production of wheat and triticales double haploids through a single anther culture method. *Plant Breeding*, 119, 455-459. **(Bilaga 1)**

2. Tuvešson, S., Dayteg, C., Öhlund, R., Nilsson, M., von Post L., Kepinska, K., Foisset, N., Leijon, S. & Engqvist, G. 2000. Marker assisted S-allele selection in *Brassica oleracea*. 7. Tagung der AG Molekulare Marker. 7-8.10.2000 Giessen, Germany. **(Bilaga 2)**

3. Öhlund, R. 2000. A simple DNA extraction method for barley seed. p1-11. Examensarbete (Bachelor of Science) Lunds universitet.

4. Tuvešson, S., Dayteg, C., Öhlund, R., Nilsson, M., Kepinska, K., Henriksson, T., Weibull, P., Edwards, K. & Isaac, P. 2000. SSRs in pea: first experience of a breeding company. Molecular breeding of forage crops 2000. Second International Symposium 19-24 November, 2000. Lorne and Hamilton, Australia. **(Bilaga 3)**

5. Kolodinska, A., v Bothmer, R., Dayteg, C., Rashal, I. & S. Tuvešson. 2001. Genetic diversity in barley of Nordic and Baltic origin. EUCARPIA XVI Genetic Resources Section Symposium in Poznan, Poland September 10-12, 2001. Book of abstracts p 88.

6. Kolodinska, A., v Bothmer, R., Dayteg, C., Rashal, I. & S. Tuvešson. 2001. A study of genetic diversity in barley of Nordic and Baltic origin. 4th International TRITICEAE symposium in Cordoba, Spain, May 16-20, 2001. Book of abstracts p87.

7. Nilsson, M. 2001. Development of a high-throughput PCR based method for analysing gene modified rapeseed sprouts. P 1-15. Examensarbete (Bachelor of Science) Lunds universitet.

8. Tuvešson, S., Dayteg, C., Kepinska, K., Nilsson, M., v Post, R., Jönsson, H-A. & P Weibull. 2002. Inter-SSR PCR (ISSR) markers for genetic studies in *Lolium perenne* Plant, Animal & Microbe Genome X. San Diego, Ca., 2002. **(Bilaga 4)**

9. Garriga, A. F. 2002 Hybridity testing of *Brassica napus* based on seed & Hybridity testing of cabbage hybrids using microsatellites and leaf tissue. p 1-23 Applied work for foreign student (BIO265) Lund Universitet.

10. v Post, R., v Post, L., Dayteg, C., Nilsson, M., Forster, B. P. & Tuvešson, S. 2002. A high-throughput DNA extraction method for barley seed. *EUPHYTICA*, 130/2, 255-260 **(Bilaga 5)**

11. Tuvešson, S., v Post, R. & Ljungberg A. 2002. Wheat anther culture. In: Doubled haploid production in crop plants. A manual. Eds: M. Maluszynski, K. J. Kasha, B. P. Forster, I. Szarejko (Invited book chapter 2.11, pp 71-76)

12. Tuvešson, S., v Post, R. & Ljungberg A. 2002. Triticale anther culture. In: Doubled haploid production in crop plants. A manual. Eds: M. Maluszynski, K. J. Kasha, B. P. Forster, I. Szarejko (Invited book chapter 2.17, pp 117-121)

13. Dayteg, C, Kristiansson, B., v Post, R, Nilsson, M. Eklund, M. & Tuvešson, S. 2003 Automation and HT Application in Rapeseed Breeding. XIth AgroGene Seminar: High throughput genotyping. Paris, France Feb. 27-28, 2003 Abstract.

14. Kolodinska Brantestam, A , von Bothmer, R , Rashal, I , Dayteg, C , Tuveesson, S and Weibull, J · 2004 Genetic Diversity in Nordic and Baltic spring barley Material. 9th International Barley Genetics Symposium. Brno, Chech Republic 20-26 June 2004
15. Sjakste T.G., Kolodinska A., von Bothmer R., Dayteg, C. , Röder, M.S. Tuveesson, S. and Rashal, I. 2003 Characterisation of the Latvian barley genetic resources by isozymes and molecular markers. Proceedings of the International Symposium “Bioresources and Environmental Stress”, February 22, 2002, Okayama University, Research Institute for Bioresources. Kurashiki, Japan, 2002, pp. 13-16.
16. Ma, C., Fu, T. , Tuveesson S. , Gertsson, B . 2003. Genetic diversity of Chinese and Swedish rapeseed (*Brassica napus* L) analysed by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR). *Agricultural Sciences in China* 2(2), 137-143.
- Ma, C., Fu, T. , Tuveesson S. , Gertsson, B . 2003. Genetic diversity of Chinese and Swedish rapeseed (*Brassica napus* L) analysed by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs). *Plant genetic resources* 1(2-3): 169-174. 2003
- Ma C, Fu T. , Tueveesson, S.; Gertsson, B. 2003. Genetic diversity of Chinese and Swedish rapeseed (*Brassica napus* L.) analysed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Scientia Agricultura Sinica* , Volume: 36 , Number: 11 , Page: 1403-1408 (in Chinese)
17. Ma, C., Gertsson, B., Tuveesson, S., Bengtsson, L., Dayteg, C., & Fu, T. 2003. Seed yield of self-incompatibility hybrids (*Brassica napus*) in China and Sweden GCRI July 2003, Copenhagen, Denmark. pp 1-4
18. Ma, C., Fu, T, Bengtsson, L, Gertsson, B. Dayteg, C. & Tuveesson S. 2003. Genetic diversity of Chinese and Swedish *Brassica napus* cultivars based on Inter-SSR PCR markers and its relationship to hybrid performance. *Journal of the Swedish Seed Association* 2: 67-77 **(Bilaga 6)**
19. Brantestam, A.K., von Bothmer, R., Dayteg, C, Rashal, I., Tuveesson, S., and Weibull, J. 2004. Inter Simple Sequence repeat analysis of genetic diversity and relationships in cultivated barley of Nordic and Baltic origin. *Hereditas* 141: 186-192.
20. Madeleine Ek. 2004. Development of SSR markers linked to mildew resistance in pea (*Pisum sativum* L.) Examensarbete i molekylärbiologi. Lunds Universitetet. pp 1-6
21. Brantestam, A.K., von Bothmer, R., Dayteg, D, Rashal, I., Tuveesson, S., and Weibull, J. 2004: Diversity of SSRs in spring barley from Nordic and Baltic regions. Proceedings of the 17th EUCARPIA general Congress, 8-11 September 2004, Tulln Austria p 148
22. Tuveesson, S., von Post, R. , Eklund, M. & Dayteg, C. 2004 . Markers in agri- and horticultural crops at Svalöf Weibull AB. Speakers abstract. In 'Gametic cells and molecular breeding for crop improvement' COST851 WG3 workshop in Tulln, Austria September 7, 2004. **(Bilaga 7)**
23. Forster BP, Hansen M, Wedzony M, Bohanec B, Rasmussen S, Custers J, Tuveesson S and Weyen J .2004. Gametic cells and molecular breeding for crop improvement. *Aspects of Applied Biology* 72: 163-168.
24. Bertholdsson, N. O., and Tuveesson, S. 2005. Possibilities to use marker assisted selection to improve allelopathic activity in cereals. Speakers abstract. COST 860 SUSVAR 'Organic

Breeding strategies and the Use of Molecular markers' 17-19 January 2005, Driebergen- The Netherlands.

25. Zhou, W.J., Zhang G.Q., Tuvesson, S., Dayteg, C. & Gertsson, B. 2005: Genetic survey of Chinese and Swedish oilseed rape (*Brassica napus* L.) by simple sequence repeats (SSRs). Genetic resources and Crop Evolution, in press

26. Ek, M., Eklund, M., von Post, R., Dayteg, C., Henriksson, T., Weibull, P., Ceplitis, A., Isaac, P. & Tuvesson, S. 2005. SSR markers for powdery mildew resistance in pea (*Pisum sativum* L.) Submitted

27. Brantestam, A.K., von Bothmer, R., Rashal, I., Dayteg, C., Tuvesson, S., and Weibull, J. 2005. Genetic diversity changes and relationships in spring barley germplasm of Nordic and Baltic areas as shown by SSR markers. Submitted

28. Dayteg, C., Tuvesson, S., Merker, A., von Bothmer, R., Jahoor, A., Outhouse, A. & Khane, T. 2005 Automation of marker assisted selection in practical breeding programs: Experience of a plant breeding company. Manuscript

29. Tuvesson, S., Dayteg, C., Hagberg, P., Manninen, O., Tanhuanpää, P., Tenhola-Roininen, T., Kiviharju K., Weyen, J., Förster, J., Schondelmaier, J., Lafferty, L., Marn, M. & Fleck, A. 2005. Molecular markers and doubled haploids in European plant breeding. Euphytica manuscript

Övrig resultatförmedling

SWs hemsida: [http://www.swseed.se/växtförädling/F & U/molekylärgenetiska markörer/läs mer om markörteknologi](http://www.swseed.se/växtförädling/F%20U/molekylärgenetiska%20markörer/läs%20mer%20om%20markörteknologi).

COST 851: Gametic cells and molecular breeding for crop improvement. Stine Tuvesson är medlem i "management committee" för Sverige och ordförande för WG3 "deployment of genetic embryogenesis" <http://www.scri.sari.ac.uk/assoc/COST851/Default.htm>

Resultatförmedling till agronom- och hortonomstuderande. Som ett led i utbildningen har studerande på SLU och KVL i "Plant Genomics" och "Plant breeding, genetic resources and biotechnology" schemalagda besök på markörlaboratoriet.

397 Interna rapporter från markörlaboratoriet och 15 interna föredrag har uppdaterat SWs förädlare om analysresultat och om vad som är nytt på utvecklingsidan.

Föredrag: Stine Tuvesson, "Udvikling og anvendelse af genmarkører i planteforædlingen "Øresund food network" workshop på KVL, København, 1 Mars, 2001

Föredrag: Stine Tuvesson, "Användning av markörer på Svalöf Weibull AB" Seminarium på UPSC, Umeå, 17 juni 2002

Föredrag: Stine Tuvesson, "DNA-markörer. Ett kraftfullt verktyg i växtförädlingen" Genteknikseminarium på LRF, Stockholm Jan 8, 2003

Föredrag: Christophe Dayteg, "Automation and HT Application in Rapeseed Breeding", .XIth AgroGene Seminar: High throughput genotyping. Paris, France Feb. 27-28, 2003 presentation.

Föredrag: Stine Tuveesson, "Molecular technologies at SW" Oat molecular biology workshop, IGER, Aberystwyth, UK, 24-25 June, 2003

Föredrag: Kolodinska Brantestam, A , von Bothmer, R , Rashal, I , Dayteg, C , Tuveesson, S and Weibull, J · 2004 · ISSR analysis of Nordic and Baltic spring barley. Invited presentation at ' DNA-marker workshop' at Nordiska Genbanken, Alnarp Feb 11, 2004.

Föredrag: Stine Tuveesson "Markers in agri- and horticultural crops at Svalöf Weibull AB", "Gametic cells and molecular breeding for crop improvement" COST851 WG3 workshop in Tulln, Austria September 7, 2004.

Föredrag: Stine Tuveesson, "Use of DNA markers for plant breeding" Genomic biology for Agriculture and Forestry, An international outlook seminar, KSLA, January 25, 2005

Föredrag: StineTuveesson "Use of DNA markers for commercial plant breeding" 2nd Small Grain Cereals Workshop, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee UK, 9, 10 & 11 March 2005