

Äppleskorv, resistensgener och resistensbrott

HILDE NYBOM

Inte är det väl så farligt med lite äppleskorv? I min egen trädgård står ett Katjaträd, som jag missköter efter konstens alla regler. Litet och knyttigt är trädet men äpplen blir det varje år, och en del av dem har små mörkbruna eller svarta prickar. Dessa orsakas av svampsjukdomen äppleskorv, *Venturia inaequalis*. Äppleskorv finns överallt där äpplen odlas men gynnas speciellt av fuktigt och varmt klimat. Även om situationen är bättre i Sverige än längre söderut, så kan det bli rejäla skorv-angrepp vid gynnsam väderlek.

I hemträdgårdarna kan man ändå klara sig bra om man har någorlunda motståndskraftiga sorter som exempelvis Katja. I yrkesodlingarna blir skorvtrycket mycket större eftersom träden är många och dessutom ofta tätt planterade, vilket gör att svampen har större spridningsmöjligheter. Skorvkänsliga sorter, som Mutsu och Summerred, har gått starkt tillbaka sedan man införde IP-konceptet (integrerad produktion) inom svensk fruktodling. Användning av kemiska växtskyddsmedel är visserligen tillåtet i IP-odling men endast efter att man fått indikationer på sporspridning via t ex en skorvvarnare som mäter temperatur och luftfuktighet. Ännu svårare är det att undvika skorv i ekologisk odling där tillgången på effektiva växtskyddsmedel är mycket begränsad.

Mer skorv i ekologiska odlingar

På SLUs dåvarande försöksstation i Kivik lades delar av en IP-odling om till ekologisk produktion på 1990-talet. Träd av äpplesorterna Aroma och Ingrid Marie (mutationen Karin

Schneider) analyserades både i den gamla IP-delen och i den omlagda ekologiska produktionen, och resultaten beskrevs i en doktorsavhandling (Jönsson 2007, Jönsson och Nybom 2008). Den ackumulerade skörden för de tre försöksåren var något lägre i de ekologiska försöksleden jämfört med IP-leden, vilket berodde på att träden bar färre frukter. Skillnaderna i frukt-kvalitet var ännu allvarligare; 10% av den ekologiskt odlade frukten visade angrepp av äppleskorv medan mindre än 1% av frukten var skadad i IP-leden. Aroma drabbades värre än Karin Schneider, troligen beroende på att Aroma-träden var betydligt större och därför inte torkade upp lika snabbt efter regn.

Nedärvd resistens mot skorv

Skorvsvampen *Venturia inaequalis* är extremt variabel, och det kan finnas flera olika stammar – med olika DNA fingeravtryck – på samma träd. Dessa stammar grupperas i olika raser beroende på i vilken omfattning de kan framkalla symptom hos olika äpplesorter och hos vilda arter av äpple (så kallade *Malus*-arter), som i sin tur har olika resistensener mot skorv.



Bild 1. Kraftiga skorv-angrepp på en fröplanta på Balsgård.

Den mest kända resistensgenen inom äppelförädling är *Vf*-genen som fått sitt namn av *Venturia* och *Malus floribunda*, dvs den vilda äppleart som man först hittade genen hos. Just *Vf*-genen har visat sig vara effektiv mot alla de 5 skorvraser man kände till fram tills för några år sedan. Ytterligare minst 14 resistensgener har hittats sedan dess, oftast i vilda arter eller i sorter med en vild art i stamtavlan. En sådan gen är *Vm*-genen, som hittats hos *Malus micromalus* och *Malus atrosanguinea*, och en annan är *Vb* som återfinns hos bl a *Malus baccata*. Båda dessa gener skyddar mot flertalet av



Bild 2. Ibland kan en skorvfläck utgöra inkörsport för getingangrepp, här på Collina. Foto: Johan Ascard.



Bild 3. Skorvangrepp på Vf-sorten Santana i en ekologisk odling. Foto: Johan Ascard.



Bild 4. Ungt träd av rasvärden *Malus floribunda* i Vinquest-projektet på Balsgård.



Bild 5. Lindriga skorvangrepp på rasvärden H8 i Vinquest-projektet på Balsgård. Foto: Kimmo Rumpunen.

de olika skorvraser. Nyligen har man även hittat några resistensgener som bara skyddar mot enstaka raser. En sådan gen har påträffats hos Golden Delicious, *Vg*, medan en annan gen, *Vd*, hittats hos den italienska lokalsorten Durello di Forli. Enligt ett nytt beteckningssystem, ska dessa gener istället heta *Rvi6* (*Vf*), *Rvi5* (*Vm*), *Rvi12* (*Vb*), *Rvi1* (*Vg*) och *Rvi13* (*Vd*).

Resistensbrott i Sverige!

I början av 90-talet började man hitta skorv på flera äpplesorter i Europa, trots att de hade *Vf*-genen eller dess variant *Vfh*, och därför borde varit resistenta. Dessa resistensbrott berodde på två dittills okända skorvraser: ras 6 som beskrevs i Tyskland 1993 och ras 7 som beskrevs i England 1994. Dessa

två raser har sedan spridit sig över stora delar av Europa.

Nyligen rapporterades om ett eventuellt resistensbrott av *Vf*-genen även i Sverige (Sandskär 2003). År 2006 återfanns skorvangripna blad och frukter hos *Vf*-sorter i en obesprutad försöksodling i Kivik i Skåne, och ett par år senare även i flera ekologiska odlingar trots att dessa behandlades med svavelpreparat flera gånger per säsong. Angripna blad samlades in från Santana och Rubinola, och skickades till skorvforskare i Frankrike. Dessa undersökte sammanlagt 80 DNA-prov av skorv från de svenska äppleträdensbladen med en typ av DNA-markör som kallas SSR (simple sequence repeats, också känt som mikrosatellit DNA). Man undersökte den genetiska variationen i sammanlagt 11 olika gener hos vart och ett av dessa 80 DNA-prov. De svenska DNA-provens bandprofiler jämfördes därefter med alla andra DNA-profiler (många hundra!) som de franska forskarna har i sin datasamling, och som samlats in från hela världen. De svenska DNA-proven liknade de DNA-prov som man hittat runt om i Europa på *Vf*-resistenta äpplesorter. Det är alltså knappast något nytt resistensbrott, som har inträffat i Sverige. Troligen är det bara vanliga europeiska skorvstammar som har migrerat hit.

Vinquest för inventering av skorvraser

År 2009 startades det internationella samarbetsprojektet Vinquest för att närmare undersöka förekomsten av olika skorvraser runt om i världen (Patocchi et al. 2009, se även www.vinquest.ch). Detta projekt bygger på ett antal testodlingar med träd av den mycket mottagliga kontrollsorten Gala samt av 15 olika sorter/selektioner. Var och en av dessa så kallade rasvärden har en resistensgen som gör att den är resistent mot en viss skorvras. Genom att se vilka rasvärden som har angripits av skorv, vet man vilka skorvraser som finns i en viss testodling. Träden har planterats ut (eller kommer inom en snar framtid att planteras ut) i 29 olika testodlingar, i sammanlagt 16 länder främst i Europa men även i Nordamerika, Indien och Sydafrika. Varje år kommer angreppet av skorv på blad och frukt att noteras inom varje testodling. Med tiden hoppas man kunna följa globala förändringar i skorvsvampens rasdifferentiering samt bidra med viktig information inom resistensförädlingen.

En uppsättning av Vinquest-försök finns på Balsgård. De första avläsningarna genomfördes 2011, när träden fortfarande stod i en bäckgård. Resultaten visar att vi då hade skorvraser som kunde attackera rasvärden med generna *Rvi1* (*Vg*, hos Golden Delicious), *Rvi3* och *Rvi8*. Senare



Bild 6. Kraftigare skorvarepp på rasvärden H3 i Vinqwest-projektet på Balsgård. Foto: Kimmo Rumpunen.



Bild 7. Alla svarta fläckar är dock inte skorv - en annan svamp har angripit blad av rasvärden H2 i Vinqwest-projektet på Balsgård. Foto: Kimmo Rumpunen.

samma höst planterades träden ut på ett från övrig odling (genbanker, selektionsförsök etc) väl isolerat fält. Dock fanns det ett 10-tal rader med obesprutade fröplantor alldeles intill det aktuella försöket. Vid avläsningen sommaren 2012 visade det sig att ytterligare ett antal rasvärdar i försöket nu hade blivit infekterade med skorv; resistensen är bruten för *Rvi6* (*Vf*, finns hos många 'skorvresistenta' sorter), *Rvi7* (*Vfh*, finns hos *Malus floribunda* samt hos många 'skorvresistenta sorter'), *Rvi9*, *Rvi10* (*Va*, 'Antonovka-resistens', återfinns hos t ex Angold) och *Rvi14* (finns hos den tyska lokal-sorten Dülmener Rosen). Alltså har vi fått ett resistensbrott för *Vf*-genen även här. Troligen är det INTE en ny ras som bildats. Istället har nog initialt fåtaliga representanter för raserna 6 och 7 nu lyckats hitta ett lämpligt ställe att föröka upp sig på (de obesprutade fröplantorna) och sedan har de kunnat attackera rasvärdar som annars skulle ha klarat sig. Det är just av denna anledning som man INTE rekommenderar odling av *Vf*-resistenta äpplesorter i närheten av andra sorter såvida inte de andra besprutas kraftigt för att förhindra uppförökning av skorven (Ascard och Andersson, 2012).

DNA-markörer för resistensgenerna

I fält yttrar sig skorvresistensen främst som avsaknad av skorv på blad och frukt. Ibland kan man visserligen se specifika resistensreaktioner, när en

resistent äpplesort försvarar sig mot en skorvras som den är resistent emot. Men med hjälp av DNA-markörer kan man identifiera exakt vilken resistensgen en skorvresistent äpplesort har. Utgångsmaterialet är färskt blad från den äpplesort man vill testa. DNA från bladen extraheras och används sedan för att ta fram olika markörband. Under årens lopp har flera olika typer av DNA-markörer använts för att se vilka resistensgener olika äpplesorter har, både på Balsgård (Mattisson och Nybom 2005) och många andra ställen runt om i världen. Som en del av det ovan beskrivna Vinqwest-projektet, har man nu valt ut ett antal speciellt tydliga och bra markörer. I en tabell har man sedan angivit exakt vilka DNA-band som är kopplade till vilka resistensgener (Paticchi et al. 2011).

Man har sedan länge tillgång till genetiska kartor för äpple (och många andra växtslag), vilka baseras på DNA-markörer. Sådana kartor framställs genom att man analyserar många fröplantor (minst 200) i en korsning där föräldrarna har olika DNA-markörer. Genom att analysera hur ofta två DNA-markörer förekommer hos samma fröplanta, kan man se om markörerna finns på samma kromosom eller ej, och hur nära varandra de ligger om de förekommer på samma kromosom. Denna information används för att bygga upp kartor, där man kan se hur olika DNA-markörer fördelar sig på de 17 kromosomparen hos äpple.

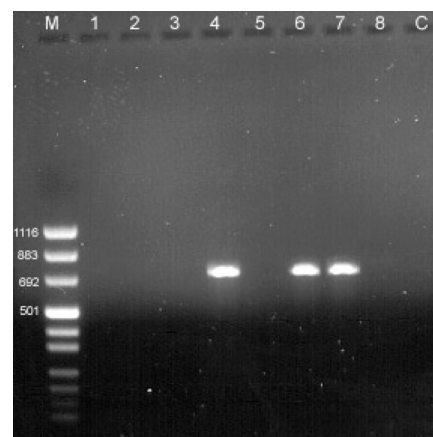


Bild 8. DNA-markör för *Vf*-genen. Markören finns hos prov nr 4 (selektion OR48T70 från USA), 6 (Rowville från Kanada) och 7 (selektion OR45T132 från USA). M är en storleksmarkör, C är en kontroll (utan DNA) och proverna 1–3, 5 och 8 är äpplesorter som saknar *Vf*-genen. Foto: Helena Mattisson.



Bild 9. Med hjälp av modern växtförädling ska vi förhoppningsvis slippa sådana här äpplen i framtiden!

Genom att karaktärisera sitt växtmaterial även för 'riktiga' egenskaper som exempelvis skorvresistens och sedan gradera graden av samstämmighet i växtmaterialet (dvs hur ofta en viss gen förekommer tillsammans med en viss DNA-markör), kan man även räkna ut ungefär var på kromosomerna de olika generna sitter. På senare tid har man funnit att gener med likartad funktion ofta sitter ganska tätt ihop på samma kromosom. Sålunda finns skorvresistensgenerna *Va* och *Vb* i samma kromosomregion som den välkända *Vf*-genen medan *Vbj*, *Vx* och *Vr* sitter tillsammans på en annan kromosom. Detta gör att

man ibland blir osäker: är det flera olika gener, eller bara olika varianter av samma gen? Molekylärgenetik är ett ämne som bara blir mer komplicerat hela tiden...

Växtförädling för resistens mot skorv

Att det finns ett stort behov av äpplesorter med god motståndskraft mot skorv blir mycket tydligt i jämförande sortförsök (Tahir och Nybom 2008, Tahir et al. 2008). Upptäckten av *Vf*-genen i ett träd av *Malus floribunda* på ett universitetscampus i USA, blev starten på ett stort växtförädlingsprogram med inriktning just mot skorvresistens. I detta program deltog tre universitet; Purdue i Indiana, Rutgers i Rhode Island och Illinois-universitetet i Champagne-Urbana. De gemensamma selektionerna betecknades P.R.I. följt av ett selektionsnummer. De bästa av dessa selektioner fick sedan beteckningen 'Co-op' följt av ett annat nummer. Co-op selektionerna sändes ut till växtförädlare över hela världen, och några registrerades så småningom som sorter, till exempel Prima, Priscilla, Enterprise, Dayton, Redfree och Goldrush. *Vf*-genen har dessutom använts inom många andra växtförädlingsprogram runt om i världen (Nybom 2010), och det finns numera ett 70-tal registrerade sorter med denna gen. Bland dem som odlats mest märks Florina, Vanda, Topas och Santana. I Sverige odlas även de *Vf*-resistenta sorterna Frida och Fredrik, framtagna på Balsgård och registrerade 2003 (Nybom 2003a, 2003b, 2004). Hittills tycks *Vf*-resistensen hål-

la i Nordamerika. I framför allt Europa försöker man däremot korsa in material med andra resistensgener för att förstärka nya äpplesorters försvar mot olika skorvraser. Detta kallas pyramidisering, och målsättningen är att det ska finnas flera olika gener hos den nya sorten, för den händelse att någon av dem drabbas av ett resistensbrott.

Förutom alla dessa rasspecifika gener, finns det även ett antal andra gener som har mindre effekt men som ändå är viktiga för sorternas motståndskraft. Sålunda har de jämförelsevis friska sorterna Discovery och Katja visat sig nedärva hög grad av 'fältresistens' till sina avkommor trots att de inte har några rasspecifika gener. Nya typer av DNA-analyser gör det nu lättare att hitta även sådana här gener. I framtiden kommer växtförädlarna troligen att lägga allt mer vikt vid 'fältresistens' eftersom den tycks vara stabilare än den rasspecifika resistensen.

Referenser

- Ascard J. och Andersson L. (red.) Eko fruktodling, Nyhetsbrev från Jordbruksverket, 2012, nr 4.
- Jönsson Å. 2007. Organic apple production in Sweden, cultivation and cultivars. Doktorsavhandling 2007:14, SLU, Sverige.
- Jönsson Å. och Nybom H. 2008. Omläggning av en äppleodling till ekologisk produktion. Ekologiskt Lantbruk 2008 (4):12–13.
- Mattisson H. och Nybom H. 2005. Flera resistensgener behövs för att bekämpa skorv. Frukt & Bär 47(4): 12–13.

- Nybom H. 2003a. Två lovande äpplesorter från Balsgård i vår. Pomologen 3(2): 4–5.
- Nybom H. 2003b. Nya tåliga svenska äpplesorter. Frukt & bär 45(2): 4.
- Nybom H. 2004. 'Frida' and 'Fredrik', the first scab-resistant apple cultivars developed in Sweden. Acta Horticult. 663: 871–874.
- Nybom H. 2010. Äppelförädling på Balsgård. Fakta från Partnerskap Alnarp, nr 23, 1–4.
- Patocchi A., Frei A., Frey J.E. och Kellerhals M. 2009. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes. Mol. Breeding 24: 337–347.
- Sandskär B. 2003. Apple scab (*Venturia inaequalis*) and pests in organic orchards. Doktorsavhandling, Agraria 378, SLU, Sverige.
- Tahir I. och Nybom H. 2008. Jämförande försök med skorvresistenta äpplesorter. Fakta från Partnerskap Alnarp, nr 8, 1–4.
- Tahir I.I., Jönsson Å. och Nybom H. 2008. Äpplesorter för ekologisk odling. Frukt & Bär 2008 (10): 18–21.

Faktabladet är utarbetat inom
LTI-fakultetens område för Växtförädling och bioteknik, Balsgård
www.slu.se/balsgard

Äppelforskningen på Balsgård har finansierats ur många olika källor under årens lopp. På senare tid har exempelvis Formas, Jordbruksverket och Stiftelsen Svensk Lantbruksforskning bidragit. Enligt beslut av fakultetsledningen vid SLU Alnarp år 2011 ska forskningen flyttas från Balsgård till Alnarp. Hur detta kommer att påverka den fortsatta äppelförädlingen och -forskningen i Sverige är ännu oklart.

Projektansvarig Hilde Nybom, hilde.nybom@slu.se

<http://epsilon.slu.se>