

Äppleförädling för låg halt allergener, högt fenolinnehåll och stark resistens mot skorv, projektnummer S0636007

Bakgrund

Svensk yrkesodling av äpple har blivit allt mer trängd av importerad frukt vilket resulterat i ojämn och ofta ganska dålig lönsamhet. För att äppleproduktionen i Sverige ska kunna bli konkurrenskraftig bör vi utveckla speciella, efterfrågade nischvaror med hög kvalitet och som odlas så miljövänligt som möjligt. Intresset för att utveckla friskare äpplesorter har ökat markant under senare år med speciell uppmärksamhet på sjukdomen äppleskorv, men för att ytterligare profilera svenska äpplen vill vi även utveckla sorter som ger vissa hälsoeffekter. Naturligtvis är det viktigt att behålla eller ännu hellre förstärka de egenskaper som gör frukten attraktiv hos konsumenterna, dvs utseende, konsistens och smak.

År 2006 beviljades vi bidrag från SLF för vårt projekt ”Äppleförädling för låg halt allergener, högt fenolinnehåll och stark resistens mot skorv”, projektnummer S0636007. I vår ansökan koncentrerade vi oss på tre områden inom äppleförädling där vi redan har goda erfarenheter på SLU, Balsgård; låg halt av det allergena proteinet Mal d 1, hög halt av polyfenoler med antioxidativ effekt samt skorvresistens. I projektet används kemiska analyser och DNA-markörer för att identifiera bra föräldrasorter och lovande korsningsavkommor, som på sikt kan ge oss ännu bättre och lönsammare äpplesorter.

I norra och centrala Europa utvecklar många björkpollenallergiker överkänslighet mot viss mat och kan drabbas av klåda och svullnad i läppar, gom och svalg (oralt allergisyndrom, OAS) efter att ha ätit t ex färska äpplen. Orsaken till denna sk korsallergi är att äpple innehåller ett protein, Mal d 1, som liknar ett vanligt allergiframkallande protein (=allergen) i björkpollen, Bet v 1. Olika studier har visat på skillnader i Mal d 1-innehåll mellan sorter, vilket i sin tur medför skillnader i hur allergiframkallande olika sorter är (Vieths *et al.* 1994, Son *et al.* 1999, Persson Hovmalm *et al.* 2004). Det verkar finnas betydligt högre halter Mal d 1 i skal än i fruktkött och lagrad frukt innehåller generellt högre halter Mal d 1 än nyplockad frukt.

Flavonoider, som visat sig ha hälsobefrämjande effekter, tillhör gruppen fenoler där många ämnen med hög antioxidativ aktivitet återfinns. I äpple finns många olika typer av flavonoider och innehållet varierar i skal, fruktkött och kärna. Skalet har i flera studier visat sig ha mycket höga halter fenoler jämfört med fruktköttet, men eftersom det finns mycket mer fruktkött än skal i ett äpple så anses även fruktköttsfenolerna ha stor betydelse ur hälsosynpunkt. Bland fenolerna är särskilt phloridzin intressant eftersom det är en fenol som endast finns i äpple och har en antidiabetisk verkan (Crespy *et al.* 2002). Det finns studier som pekar på att skalfenolerna har betydelse för t ex skorvresistens. Tidigare studier på Balsgård har visat på stora sortskillnader vad gäller fenolinnehåll.

Äppleskorv, som uppkommer efter angrepp av svampen *Venturia inaequalis*, är en av de allvarligaste sjukdomarna i kommersiella äppleodlingar och kräver 10-20 årliga besprutningar med fungicider. Resistens mot äppleskorv är därför högst eftersträvansvärt. Ett antal olika resistensgener har identifierats (Crosby *et al.* 1992, Vinatzer *et al.* 2004, Hemmat *et al.* 2003, Bus *et al.* 2004, 2005) men även polygent nedärvd sk fältresistens finns i *Malus*. Numera använder man ofta flera resistensgener i växtförädlingen för att försäkra sig om hållbar resistens. Genom att använda DNA-markörer är det möjligt att korrekt identifiera de olika resistensgenerna i föräldramaterial och korsningsavkommor.

Material

Analys av allergen- och fenolinnehåll

I oktober **2006** plockade vi in äpplen från olika föräldrasorter som ingår i några av Balsgårds mest lovande korsningar. I samtliga korsningar är den ena föräldern skorvresistent. Två äpplesorter (BM50717 och BM54859) var dock övermogna vid skördetillfället och kunde tyvärr inte skördas. Frukten lagrades en månad i Balsgårds kylrum. Vid provberedningen samplades skal och fruktkött var för sig direkt i flytande kväve och frystes sedan in i -80°C i väntan på analys. De utvalda föräldrasorterna är:

- Florina och Priam: franska sorter; har V_F -genen som ger resistens mot äppleskorv
- Dayton, HCR23T113, Prima och William's Pride: amerikanska sorter; har V_F -genen
- Julia: ny sort från Tjeckien; god motståndskraft mot äppleskorv
- Katja: svensk sort från Balsgård; god motståndskraft mot svampsjukdomar
- Belle de Boskoop: gammal holländsk sort; innehåller relativt låg halt av Mal d 1
- BM50717, BM51880 och BM54859: lovande selektioner från Balsgård

I september **2007** plockades frukt in från föräldrasorterna och från nio av Balsgårds korsningar (Tabell 2). Selektionerna BM50717 och BM54859 samt Julia blev snabbt övermogna och vi hann inte plocka in frukt från dessa träd. Frukten lagrades i Balsgårds kylrum under en månad och därefter samplades skal och fruktkött var för sig direkt i flytande kväve och frystes sedan in i väntan på analys.

Fler träd/korsning bar frukt hösten **2008**, vilket gjorde det möjligt att komplettera insamlingen av material (Tabell 3). Från korsningarna plockades även frukt från de träd som analyserats året innan. En viss variation i innehåll av Mal d 1 och fenoler mellan olika år har observerats och för att kunna göra en rättvisande analys inom korsningsavkomman bör frukt från samma år jämföras.

Vi plockade även in frukt från några lovande selektioner som eventuellt ska registreras som sorter: B1377, B0654 (Allgott), K1160 (Lovisa), K1343 (Augusta), CSV2020, samt Discovery som sk jämförelsesort. Frukten lagrades i Balsgårds kylrum under en månad och därefter samplades skal och fruktkött var för sig direkt i flytande kväve och frystes sedan in.

Skorvanalys

Blad samlades in från 70 fröplantor från 22 olika korsningspopulationer (Tabell 7) och placerades i -80°C i väntan på analys. I 20 av korsningarna bar ena föräldern på genen för V_F -resistens. I den ena av de två resterande korsningarna ingick den V_m -resistenta Rouville och i den andra Julia, som anses ha god fältresistens. En del av plantorna analyserades även parallellt vad gäller innehåll av fenoler och Mal d 1 i frukt, övriga valdes ut då de visat en del andra lovande egenskaper beträffande fruktqualitet.

Metoder

Innehåll av Mal d 1

Analys av Mal d 1-innehåll utfördes i Alnarp, SLU, av Helena Persson Hovmalm och Ann-Charlotte Strömdahl. Metodval, försöksupplägg, statistisk bearbetning samt sammanställning av försöksresultat genomfördes av Helena Persson Hovmalm.

Proteiner extraherades enligt Barraclough *et al.* (2004). Mal d 1 analyserades separat för fruktkött och skal med hjälp av sk indirect competitive ELISA. Vid projektets början hoppades vi kunna använda oss av DNA-markörer för låg allergenicitet, men i en studie utförd på Wageningen Universitet, Nederländerna, hittade man ganska dåliga samband mellan markörerna

och graden av allergenicitet och därför fann vi det inte motiverat att screena växtmaterial med dessa markörer.

Analys av totalfenolhalt och enskilda fenoler i äpple

Analyser av fenoler och total antioxidativ aktivitet utfördes på Balsgård, SLU, av Anders Ekholm och Dorota Piwowar-Zail. Metodval, försöksupplägg, statistisk bearbetning samt sammanställning av försöksresultaten genomfördes av Kimmo Rumpunen.

Analys av totalfenolhalt och enskilda fenoler utfördes separat för fruktkött och skal. De djupfrysta proverna frystorkades, varvid samtidigt torrsubstansen bestämdes, och därefter maldes proverna för att erhålla ett så homogent poolat prov som möjligt. Analyserna av totalfenolhalt utfördes spektrofotometriskt med Folin Ciocalteu-reagens enligt Singleton & Rosst (1965). Analyserna av enskilda fenoler utfördes med HPLC-MS utgående ifrån en modifierad HPLC metod (Gao *et al.* 2000).

Skorvanalys

Screening av växtmaterial för skorstens resistens utfördes på Balsgård, SLU, av Jasna Sehic. DNA extraherades ur blad med hjälp av Qiagen DNeasy™ Plant Mini Kit. Vi analyserade två olika sk 'major genes' som ger ras-specifik resistens, V_f och V_m , samt två QTL (polygent nedärvd fältresistens). V_f -resistens analyserades med CAPS-markören M18 och V_m -resistens med SSR-markören Hi07h02. För QTL användes de två SSR-markörerna CH01h01 och CH04h02.

Resultat

Innehåll av Mal d 1

ELISA-analyserna av frukt plockad 2006 visade på ganska stora skillnader i Mal d 1-innehåll mellan föräldrasorterna (Tabell 1). Skalet hos Prima hade allra högst innehåll (26,84 µg/g uppvägt äpple) och även fruktköttet hade relativt hög halt (8,03 µg/g uppvägt äpple). BM51880 hade låga halter i både skal och kött (4,34 resp 0,30 µg/g uppvägt äpple).

Analyserna av frukt skördad 2007 och 2008 visade på stora variationer i Mal d 1-innehåll inom varje korsning (se Tabell 2 och 3; tabeller med alla enskilda fröplantor redovisas ej i denna rapport, men finns tillgängliga vid förfrågan). Fruktköttsproverna låg i allmänhet betydligt lägre i Mal d 1-innehåll än skalproverna, vilket innebär att det framför allt är Mal d 1-nivåerna i skalet som är intressanta vid identifiering av lågallergen frukt. År 2007 fanns de lägsta värdena i korsningarna Dayton x Belle de Boskoop, Florina x BM51880 och Priam x Katja (Tabell 2). Korsningen Priam x Katja förefaller vara den korsning med störst spridning i Mal d 1-innehåll. Även år 2008 hade fröplantor från korsningen Dayton x Belle de Boskoop, tillsammans med Allgott/B0654, lägst Mal d 1-innehåll (Tabell 3).

Då samma sorter och fröplantor analyserades flera år i rad, visade det sig dock att Mal d 1-innehållet varierar en hel del år från år. År 2008 hade de flesta sorter/fröplantor anmärkningsvärt lägre Mal d 1-nivå än tidigare år (Tabell 1,2,3).

För några sorter/fröplantor upprepade vi proteinextraktionen ur den frusna frukten två eller tre gånger. Mal d 1-innehållet visade sig ligga på ungefär samma nivå för alla extraktioner för en sort/fröplanta, t ex Florina x BM51880, skal (4,78; 5,83; 5,66 µg/g uppvägt äpple), Priam x Katja, skal (7,29; 10,25; 7,49 µg/g uppvägt äpple), Prima x Katja, skal (29,37; 24,36; 26,12 µg/g uppvägt äpple), Dayton x Belle de Boskoop, fruktkött (0,51; 1,07; 1,16 µg/g uppvägt äpple), Julia x Katja, fruktkött (0,12; 0,10 µg/g uppvägt äpple).

Tabell 1. Mal d 1-innehåll i skal och fruktkött av sorter skördade 2006. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal.

Sort	µg Mal d 1 i skal/g uppvägt	µg Mal d 1 i fruktkött/g uppvägt
	äpple	äpple
BM51880	4,34	0,30
HCR23T113	7,16	2,54
William's Pride	12,01	2,85
Florina	13,88	1,23
Priam	13,95	3,41
Dayton	16,46	5,02
Belle de Boskoop	18,04	0,15
Julia	18,06	3,97
Katja	18,80	1,46
Prima	26,84	8,03

Tabell 2. Mal d 1-innehåll i skal och fruktkött av äpplesorter och fröplantor skördade 2007. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal, med standardavvikelse inom parentes. Högsta och lägsta värde inom varje korsningspopulation är angivet.

Sort/Korsnings- population	Antal prover	Mal d 1-innehåll i skal (µg Mal d 1/g uppvägt äpple)			Mal d 1-innehåll i fruktkött (µg Mal d 1/g uppvägt äpple)		
		Medel	Min	Max	Medel	Min	Max
William's Pride	1	4,07			1,19		
Florina	1	7,11			1,30		
Priam	1	9,32			0,51		
Dayton x Belle de Boskoop	5	10,38 (10,34)	3,21	28,12	1,29(1,08)	0,38	3,43
BM51880	1	10,54			1,53		
Florina x BM51880	16	11,60 (9,04)	4,78	43,17	2,21(1,60)	0,32	5,73
HCR23T113 x Katja	2	12,90 (6,69)	8,17	17,64	1,05 (0,70)	0,55	1,54
Priam x Katja	8	16,75 (15,85)	2,85	57,48	2,46 (2,86)	0,40	7,60
HCR23T113 x BM54859	15	17,77 (9,02)	6,54	39,62	2,63 (2,16)	0,30	6,73
HCR23T113 x BM50717	9	19,77 (9,34)	8,13	32,53	1,88 (1,99)	0,40	6,04
HCR23T113	1	20,14			0,66		
William's Pride x BM50717	9	22,17 (8,78)	7,65	36,49	1,46 (1,02)	0,27	3,16
Prima x Katja	18	26,71 (10,14)	8,06	53,98	2,25 (0,86)	0,57	4,39
Belle de Boskoop	1	29,12			2,10		
Julia x Katja	7	33,08 (11,52)	11,45	48,82	2,12 (2,53)	0,24	7,68
Katja	1	33,14			1,99		
Dayton	1	36,98			3,23		
Prima	1	50,33			2,26		

Tabell 3. Mal d 1-innehåll i skal och fruktkött av äpplesorter och fröplantor skördade 2008. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal, med standardavvikelse inom parentes. Högsta och lägsta värde inom varje korsningspopulation är angivet.

Sort/Korsningspopulation	Antal prover	Mal d 1-innehåll i skal (µg Mal d 1/g uppvägt äpple)			Mal d 1-innehåll i fruktkött (µg Mal d 1/g uppvägt äpple)		
		Medel	Min	Max	Medel	Min	Max
Allgott/B0654	1	0,86			0,11		
Belle de Boskoop	1	1,77			0,26		
Florina	1	1,84			0,80		
Lovisa/K1160	1	1,88			0,18		
Priam	1	1,97			0,02		
Dayton	1	2,00			0,44		
Dayton x Belle de Boskoop	15	2,51 (1,62)	0,18	6,06	0,19 (0,20)	0,02	0,68
Augusta/K1343	1	2,79			0,27		
Prima	1	2,94			0,04		
BM51880	1	3,40			0,30		
Julia x Katja	15	3,68 (1,83)	1,03	8,84	0,24 (0,13)	0,08	0,56
BM54859	1	4,21			0,72		
B1377	1	4,60			1,05		
BM50717	1	5,00			0,82		
HCR23T113 x Katja	5	5,14 (4,36)	3,00	12,94	0,51 (0,36)	0,25	1,20
Discovery	1	5,30			0,36		
Katja	1	6,09			0,73		
CSV2020	1	6,16			0,08		
HCR23T113	1	6,98			0,38		
Julia	1	13,21			6,92		

Analys av totalfenolhalt och enskilda fenoler i äpple

Analys av frukt plockad 2006 visade på stora skillnader mellan sorter vad gäller totalvärden för fenoler (Tabell 4), totalvärde för antioxidativ aktivitet samt innehåll av enskilda fenoler (redovisas ej i denna rapport, men finns tillgängliga vid förfrågan). Korrelationen mellan fenolvärden och total antioxidativ aktivitet var hög (skal $R^2=0.97$, fruktkött $R^2=0.92$), vilket innebär att vid selektion av äpplesorter kan och bör med fördel den snabbare och billigare totalfenolanalysen användas. Beträffande totalinnehållet av skalfenoler så framstod BM51880 som extremt rik bland de undersökta sorterna. Dayton uppvisade högt fenolinnehåll i fruktköttet. När det gäller enskilda fenoler i skal och fruktkött så stack BM51880 och Dayton ut pga av höga värden i flera fall. Belle de Boskoop var anmärkningsvärd eftersom den innehöll särskilt höga halter av phloridzin i både skal och fruktkött.

Samtliga sorter och fröplantor skördade 2007 och 2008 analyserades vad gäller totalfenoler, dock gav en del fröplantor lite frukt och vi valde att analysera endast Mal d 1-innehåll för dessa. Därutöver analyserades 7 sorter och 5 korsningskombinationer i detalj avseende enskilda fenoler i fruktkött och skal (tabell med alla enskilda fenoler redovisas ej i denna rapport, men finns tillgängliga vid förfrågan). Skillnaderna i det undersökta växtmaterialet var stora både när det gäller totalvärden för fenoler (Tabell 5,6) och innehållet av enskilda fenoler. Liksom för Mal d 1, varierade innehållet av totalfenoler mellan åren, både för skal och fruktköttsfenoler. Även 2007 uppvisade BM51880 höga halter både vad gäller totalfenoler och innehållet av enskilda fenoler i

skal och fruktkött. Höga totalvärden noterades också hos flera av fröplantorna i korsningen Florina x BM51880. Belle de Boskoop stack åter igen ut eftersom den innehöll höga halter av phloridzin även 2007 och 2008.

Tabell 4. Totalfenolhalt i skal och fruktkött hos sorter skördade 2006. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal.

Sort	Totalfenoler skal (mg GAE/g tv)	Totalfenoler fruktkött (mg GAE/g tv)
Belle de Boskoop	23,96	7,80
William's Pride	24,02	3,59
Julia	24,08	8,84
Priam	27,98	7,66
HCR23T113	28,27	4,60
Florina	28,51	7,35
Prima	29,45	8,43
Katja	33,24	8,06
Dayton	35,62	10,14
BM51880	45,64	7,65

Tabell 5. Totalfenolhalt i skal och fruktkött hos sorter och fröplantor skördade 2007. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal. Standardavvikelsen anges inom parentes. Högsta och lägsta värde inom varje korsningspopulation är angivet.

Sort/Korsnings- population	Antal prover	Totalfenoler skal (mg GAE/g tv)			Totalfenoler fruktkött (mg GAE/g tv)		
		Medel	Min	Max	Medel	Min	Max
William's Pride	1	20,56			4,61		
William's Pride x BM50717	9	20,96 (5,00)	11,90	27,94	6,22 (2,11)	2,20	10,10
HCR23T113 x BM54859	15	22,97 (7,13)	12,40	35,61	6,19 (2,05)	2,84	9,08
Priam x Katja	8	24,88 (5,59)	19,81	36,45	10,28 (2,16)	7,81	13,84
Dayton x Belle de Boskoop	5	24,92 (7,76)	15,32	34,50	9,08 (4,10)	5,99	15,70
Priam	1	26,21			9,98		
HCR23T113 x BM50717	8	26,29 (5,94)	19,27	34,70	5,56 (1,71)	3,56	8,09
HCR23T113 x Katja	2	27,86 (0,42)	27,57	28,15	7,89 (1,71)	6,67	9,10
Katja	1	27,90			7,60		
HCR23T113	1	28,28			5,60		
Prima x Katja	15	29,76 (6,94)	14,07	39,05	8,89 (2,63)	3,27	12,43
Belle de Boskoop	1	30,18			8,60		
Florina x BM51880	15	30,89 (6,65)	20,21	41,75	10,08 (2,06)	6,68	12,77
Julia x Katja	7	32,11 (7,12)	23,16	44,55	9,27 (3,91)	4,15	17,00
Dayton	1	33,33			11,67		
Florina	1	35,30			9,11		
Prima	1	35,88			11,19		
BM51880	1	54,04			11,92		

Tabell 6. Totalfenolhalt i skal och fruktkött hos sorter och fröplantor skördade 2008. Resultaten är sorterade efter medelvärdet i skal. Standardavvikelsen anges inom parentes. Högsta och lägsta värde inom varje korsningspopulation är angivet.

Sort/Korsnings- population	Antal prover	Totalfenoler skal (mg GAE/g tv)			Totalfenoler fruktkött (mg GAE/g tv)		
		Medel	Min	Max	Medel	Min	Max
Augusta/K1343	1	23,05			3,88		
CSV2020	1	24,42			4,54		
BM54859	1	25,61			7,61		
BM50717	1	27,38			4,98		
B1377	1	28,44			6,44		
HCR23T113	1	30,46			4,68		
Julia	1	30,85			11,72		
Dayton x Belle de Boskoop	15	33,18 (9,65)	17,51	53,55	8,62 (4,22)	3,52	16,00
HCR23T113 x Katja	5	33,54 (10,67)	22,03	47,10	7,60 (3,28)	3,47	11,98
Priam	1	36,56			9,57		
Julia x Katja	15	37,41 (9,70)	24,78	60,89	9,85 (3,28)	4,70	17,00
Belle de Boskoop	1	39,85			9,60		
Prima	1	41,87			10,10		
Dayton	1	44,54			12,09		
Lovisa/K1160	1	46,70			7,19		
Florina	1	49,86			8,94		

Skorvresistens

En CAPS-markör (M18) och tre SSR-markörer användes för att analysera växtmaterialet (Tabell 7). Av de 70 fröplantorna uppvisade 38 markören för V_f . Vad gäller markören för V_m , verkade den inte fungera i korsningen Katja x Rouville, då varken den resistenta Rouville eller någon av avkommorna visade upp den allel som är kopplad till V_m -resistens (227bp). Inte heller markören CH04h02 fungerade, då inte ens de inkluderade referenssorterna (med kända allelstorlekar) uppvisade den allel för resistens (185 bp) som de ska ha enligt litteraturen. För CH01h01 är två alleler (132bp och 136 bp) kopplade till resistens. I vår studie blev det en sk basparsförskjutning på 4-5 bp, vilket innebar att alleler på 128 resp 131 bp är kopplade till resistens. Ingen allel på 128 bp hittades i materialet, däremot hade flera plantor en allel på 131 bp (Tabell 7).

Tabell 7. Screening av fröplantor med användning av fyra olika DNA-markörer för skorv. För V_f anges funnen markör med ett +, för övriga anges storlek (bp) för funna alleler.

Korsning / sort	V_f	V_m	QTL 1	QTL 2
	M18	Hi07h02	CH01h01	CH04h02
Coop 19 x BM27735	+			
Coop 19 x BM27735	+			
Coop 19 x BM27735	-			
Coop 19 x BM27735	-		120	173:200
Coop 19 x BM27735	+			
William's Pride x BM50602	+		120:144	171:173
Florina x BM51880	+		116:118	175:177
Florina x BM51880	+		116:118	173:177
Florina x BM51880	+		114:131	173:177

Florina x BM51880	+	131	177:214
Florina x BM51880	-	114:131	173:175
Florina x BM51880	+	116:118	167:177
Florina x BM51880	+	116:118	167:177
Florina x BM51880	-	116:118	173:177
Florina x BM51880	+	118:131	167:177
Florina x BM51880	+	116:118	167:175
Florina x BM51880	-	114:131	173:175
Florina x BM51880	-	118:131	173:175
Florina x BM51880	-	116:118	173:177
Florina x BM51880	+	114:116	173:175
Florina x BM51880	-	114:116	167:175
Florina x BM51880	-	118:131	167:175
Florina x BM51880	+	114:116	167:175
HCR23T113 x Katja	-	114:118	200:214
HCR23T113 x BM54859	+	118:131	200:214
HCR23T113 x BM54859	-		
HCR23T113 x BM54859	+	118:131	200:214
HCR23T113 x BM54859	+	112:118	186:200
HCR23T113 x BM54859	-		
HCR23T113 x BM54859	+	112:131	167:200
Prima x Katja	+	114:118	190:214
Priam x Katja	+	114:131	190:214
William's Pride x BM50717	+		
William's Pride x BM50717	+		
William's Pride x BM50717	+		
HCR23T113 x BM50717	-		
Julia x Katja	-		
Julia x Katja	-		
Julia x Katja	-		
Polka o.p.	-	114:116	175:206
Katja x Pernilla	-	114:118	173:214
Katja x Pernilla	-	114:118	167:173
BM55180 x Coop12	?	118:131	175:214
Kim x Coop12	+	112:118	173:175
BM47612 x Coop 13	+	118	177:200
BM47612 x Coop 13	+	118	186:200
BM47612 x Coop 13	-	118	177:200
BM47612 x Coop 13	+	112:118	173:186
Coop13 x B:0752	?	?	?
Coop13 x B:0752	+	112:116	167:173
Coop13 x B:0752	+	112:116	167:173
Coop13 x Bolero	+	112:118	198:200
Coop13 x Bolero	+	118	198:200
Prima x BM51880	+	114:118	171:186
Coop19 o.p.	+	114	177:200
Coop19 o.p.	+	118	175
Coop19 o.p.	+	118	186:200
Coop19 o.p.	+	114:118	175:177:200
Selena o.p.	+	114:120	167:190
Pernilla x Discovery	+	114:131	190:214

Pernilla x Discovery	-		114:131	190:214
Katja x Rouville	-	265:275	114:118	175:214
Katja x Rouville	-	262:265	112:118	175:214
Katja x Rouville	-	262:265	114:118	167:173
Katja x Rouville	-	262:265	114:118	167:175
Katja x Rouville	-	265:275	112:118	167:173
Katja x Rouville	-	265:275	114:131	175:200
Katja x Rouville	-	262:265	112:118	167:175
Katja x Rouville	-	262:271	114:118	167:173
Katja x Rouville	-	265:275	114:131	167:175

Diskussion

En av Balsgårds selektioner, BM51880, visade sig ha låg halt Mal d 1 men högt innehåll av fenoler. Denna sort är inte skorvresistent, men ingår i en korsning med den resistenta sorten Florina. En del fröplantor från denna korsning hade också relativt höga värden för totalfenoler och/eller lågt Mal d 1-innehåll. Då vi sedan gick vidare med att undersöka dessa fröplantor vad gäller skorvresistens, visade det sig att två plantor kombinerade samtliga egenskaper, dvs låg halt Mal d 1, relativt hög halt totalfenoler samt markör för V_f -resistens. Det är möjligt att dessa fröplantor lämpar sig som nya sorter, men de måste dock först utvärderas även för andra viktiga egenskaper som t ex smak, utseende och avkastning.

Belle de Boskoop visade alla tre åren anmärkningsvärt hög nivå av phloridzin, en fenol som bara finns i äpple och som har visat sig ha antidiabetisk verkan. Dock hade denna sort, som i andra studier identifierats som en sort med relativt låg halt Mal d 1, i vår studie tämligen höga halter både 2006 och 2007, men låg halt 2008.

Vi analyserade också frukt från några lovande selektioner som eventuellt kommer att registreras som sorter (B1377, Allgott/B0654, Lovisa/K1160, Augusta/K1343 och CSV2020). Ett positivt screeningresultat, dvs lågt allergeninnehåll och/eller högt fenolinnehåll, kan bli just det som avgör om vi satsar på att registrera en av dessa selektioner som en ny sort. Allgott hade liksom i tidigare studier ett relativt lågt Mal d 1-innehåll. Av övriga sorter verkade Lovisa/K1160 vara den selektion som är mest lovande, då den hade hög halt totalfenoler i skalet samtidigt som den hade relativt låg halt Mal d 1.

Mal d 1-innehållet, och även fenolinnehållet, varierade en hel del år från år. Speciellt tydligt var detta för år 2008, då Mal d 1-innehållet var betydligt lägre än tidigare år. Detta kan jämföras med Allgott/B0654, som vi för något år sedan identifierade som lågallergen. Senare års analyser har dock visat på något högre Mal d 1-nivå, fastän detta äpple i diverse undersökningar verkar kunna tolereras av äppleallergiker. Detta antyder att det, snarare än totalinnehåll av Mal d 1, är olika isoformer i olika mängder som leder till att en frukt blir mer eller mindre allergen. Detta hoppas vi kunna undersöka mer i framtida studier. Variation mellan år visar också på miljöns stora inverkan på Mal d 1- och fenolinnehållet och även detta bör studeras mer. För att kunna göra rättvisande jämförelser mellan år, bör samma jämförelsesorter, dvs sorter med känd ungefärlig halt Mal d 1 och/eller fenoler, ingå de olika åren.

Vi analyserade fyra olika gener, två s k 'major genes' som ger ras-specifik resistens: V_f och V_m , samt två QTL (polygent nedärvd fältresistens). Vi har goda kunskaper om flertalet av de moderna sorternas härstamning, och chansen att dessa sorter eller deras avkommor bär på en annan 'major' resistensgen än den som redan finns dokumenterad i deras stamtavla är mycket liten. QTL-resistens kan däremot förekomma hos vilka sorter som helst, och har mycket stor potential inom växtförädlingen. En hel del plantor hade både markören för V_f och en QTL, vilket

kan innebära att just dessa plantor har en mer långvarig resistens mot skorv.

Publikationer

Några publikationer har ännu inte producerats, då de sista laborativa momenten ganska nyligen avslutades. Det analyserade växtmaterialet är omfattande och det återstår nu ytterligare granskning av erhållna resultat för att de i slutändan ska kunna sammanfattas och publiceras i vetenskapliga så väl som populärvetenskapliga tidskrifter.

Resultatförmedling

Av samma anledning som ovan har inga resultat ännu förmedlats till näringen.

Referenser

- Barraclough D, Obenland D, Laing W, Carroll T (2004) A general method for two-dimensional protein electrophoresis of fruit samples. *Postharvest Biol Technol* 32: 175-181.
- Bus V, van de Weg WE, Durel CE, Gessler C, Calenge F, Parisi L, Rikkerink E, Gardiner S, Patocchi A, Meulenbroek M, Schouten H, Laurens F (2004) Delineation of a scab resistance gene cluster on linkage group 2 of apple. *Acta Horticult* 663: 57-62.
- Bus VGM, Rikkerink EHA, van de Weg WE, Rusholme RL, Gardiner SE, Bassett HCM, Kodde LP, Parisi L, Laurens FND, Meulenbroek EJ, Plummer KM (2005) The V_{h2} and V_{h4} scab resistance genes in two differential hosts derived from Russian apple R12740-7A map to the same linkage group in apple. *Molec Breeding* 15: 103-116.
- Crespy V, Aprikian O, Morand C, Besson C, Manach C, Demigné, Rémésy C (2002) Bioavailability of Phloretin and Phloridzin in Rats. *J Nutr* 132: 3227-3230.
- Crosby JA, Janick J, Pecknold PC, Korban SS, O'Connor PA, Ries SM, Goffreda J, Voordeckers A (1992) Breeding apples for scab resistance: 1945-1990. *Fruit Var J* 46: 145-166.
- Gao X, Björk L, Trajkovski V, Ugglå M (2000) Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *J Sci Food Agr* 80: 2021-2027.
- Hemmat M, Brown SK, Mehlenbacher SA, Weeden NF (2003) Identification and mapping of markers for resistance to apple scab from 'Antonovka' and 'Hansen's baccata #2'. *Acta Horticult* 622: 153-161.
- Persson Hovmalm HA, Nybom H, Barraclough D, Beuning L, Bowen J, Bulley S, MacRae E. (2004) *Mal d* 1-like allergenic patterns in two apple cultivars. *Acta Hort (ISHS)* 663: 297-300.
- Singleton VL, Rosst JA (1965) Colourmetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.
- Son DY, Scheurer S, Hoffmann A, Haustein D, Vieths S (1999) Pollen-related food allergy: cloning and immunological analysis of isoforms and mutants of *Mal d* 1, the major apple allergen, and *Bet v* 1, the major birch pollen allergen. *Eur J Nutr* 38: 201-215.
- Vieths S, Jankiewicz A, Schöning B, Aulepp H (1994) Apple allergy: the IgE-binding potency of apple strains is related to the occurrence of the 18-kDa allergen. *Allergy* 49: 262-271.
- Vinatzer BA, Patocchi A, Tartarini S, Gianfranceschi L, Sansavini S, Gessler C (2004) Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the V_f scab resistance region and molecular characterization of scab-resistant accessions in *Malus* germplasm. *Plant Breeding* 123: 321-326.