



## **Bilaga till slutrapport för projektet: Framtagning av bladmögelresistenta matpotatissorter för stora delar av Sverige: (O-15-20-557)**

### **Inledning**

#### Syfte – målbeskrivning

Syftet med projektet var att införa molekylära markörer för "stacking" av resistensgener mot potatisbladmögel samt upprätthållande av den "lägsta rimliga nivån" i det befintliga växtförädlingsprogrammet för potatis vid SLU Alnarp. Detta förbättrar möjligheterna att utveckla nya matpotatissorter med hållbar motståndskraft mot potatisbladmögel och därmed bidra till möjligheterna att minska användningen av fungicider, alternativt kunna odla sorter ekologiskt. Svenska potatisodlare kan då i framtiden erbjudas flera alternativ på marknaden. Även information om vilka resistenskällor och resistensgener som är lämpliga i Sverige har varit inom projektramens mål.

#### Bakgrund

##### *Odlingssituationen*

Den totala potatisarealen i Sverige 2012 var 24 500 hektar varav drygt 75 % utgjordes av matpotatis, varav en mindre del till industriell bearbetning, och resten stärkelsepotatis (SCB, 2013). Hektarskörden för matpotatis 2012 var 29 370 kg och den totala skörden under samma år 549 400 ton vilket är 6 % lägre än 2011 (SCB, 2013). Endast 2 % av den totala matpotatisproduktionen var ekologiskt odlad år 2012. En nedåtgående trend kan noteras även här avseende totalskörd (11 200 ton) och odlad areal (820 hektar) under de senaste åren. Dock har värdet för hela branschen ökat jämfört för 10 år sedan, så också exporten (Eriksson et al 2016).

Potatisodlingen upptar endast cirka 1 % av den totala odlade arealen av agrikulturella växtslag men är den gröda som besprutas med den största mängden fungicider per hektar (SCB, 2012). I södra Sverige besprutas konventionella potatisodlingar 8–12 gånger/säsong. Den huvudsakliga orsaken är bladmögel/brunröta-angrepp orsakade av oomyceten *Phytophthora infestans*. Kostnaderna för bekämpning av *P. infestans* plus de

Projekt har fått finansiering genom:

förluster i avkastning som patogenen orsakar beräknas uppgå till 4 800 miljoner € årligen i världen (Haverkort *et al.*, 2008).

Livscykeln för *P. infestans* kan delas upp i en asexuell och en sexuell del. Den asexuella reproduktionen möjliggör snabb spridning och förökning och kan upprepas flera gånger per säsong (Fry, 2008) medan den sexuella fasen resulterar i ökad genetisk variation och hjälper patogenen att överleva mellan odlingssäsongerna. De sexuellt bildade sporerna, oosporerna, kan överleva flera år i jorden (Mayton *et al.*, 2000) och fungera som ytterligare en smittkälla på våren. Spridning av den sexuellt förökade parningstypen, patotyp A, av *P. infestans* utgör därför ett reellt hot för odlingen. De populationer som finns i Europa är till största del av asexuell härkomst och ett begränsat antal genotyper existerar (Gisi *et al.*, 2011) utom i de nordiska länderna där sexuell förökning och genotypisk variation förekommer (Brurberg *et al.*, 2011). Parningstyperna A1 och A2 förekommer i Sverige dessutom i förhållandet 1/1, vilket leder till hög risk för sexuell förökning jämfört med andra länder där den ena parningstypen, A1, dominerar starkt.

Från att sorter som Bintje och King Edward, som kräver mycket stora insatser av kemisk bekämpning, tidigare har dominerat den svenska potatisodlingen har sedan slutet av 1990-talet nya sorter börjat komma in på marknaden. Ett exempel är den numera välkända sorten Asterix som har god motståndskraft mot brunröta men inte mot bladmögel och därför även den kräver intensiv svampbekämpning. Detta visar också på behovet av sorter med kombinerad resistens mot både bladmögel och brunröta. Odlarna visar ett ökat intresse för nya sorter. Den längre dagslängden och de speciella klimatförhållandena, ofta med kyla och fukt tidigt på säsongen, gör att odlingarna bl a drabbas av sjukdomar som inte har någon större betydelse söder om Östersjön. I Sverige brottas vi dessutom, som beskrivits ovan, med mer komplexa populationer av *P. infestans* än i övriga Europa. På lång sikt är den enda bärkraftiga lösningen på bladmögel/brunnröta-problemet förädling av nya och mer resistent sorter.

#### *Växtförädling av potatis i Sverige*

Sedan 2006 då den svenska delen av potatisförädlingen upphörde vid Svalöf Weibull AB (SW) har ett mindre förädlingsprogram (det enda i Sverige) bedrivits vid SLU Alnarp. Cirka 1/3 av SWs tidigare förädlingsmaterial övertogs då av SLU. Under 2006–2008 finansierades programmet genom medel från SLF (Dnr S0636008). År 2009 beviljades medel för växtförädlingsverksamhet vid SLU. Satsningen innefattar 5 olika program varav förädling av potatis är ett. Fokus i detta förädlingsprogram ligger på att ta fram bladmögelresistent matpotatissorter för odling i hela Sverige. 2 mkr/år erhöles från Stiftelsen Lantbruksforskning, Formas och Jordbruksverket vardera och SLUs styrelse avsatte samma belopp under 2009, 2010 och 2011. Av den totala summan erhöles förädling av potatis 1,5 mkr/år under 2009, 2010 och 2011. Under 2012 och 2013 har inte SLF och Jordbruksverket medverkat sedan restitutionen av miljöavgifter upphört medan Formas har fördubblat sin insats. Detta har inneburit att potatisförädlingen endast erhölet 1,125 mkr/år från 2012. Verksamheten har nu kunnat komma upp i rekommenderad miniminivå mycket tack vare att SLF lämnade ett generöst extra bidrag till projektet 2013/14, och det har varit detta anslag som har möjliggjort en fortsättning av det.

## Projektresultat

### *Del A: Vidmakthållande av fröplantsmaterialet och förädlingsprogrammet*

Vi har följt rekommendationerna att starta varje år med ca 10 000 förstårkloner (Eriksson et al 2016). Detta mål har nästan uppnåtts de senaste åren men på grund av dålig fröutveckling så har inte riktigt så många varit ute i fält (ca 7000/år). Efter varje generation har antalet kloner som sparas minska radikalt och i sjunde generations finns vara enstaka kvar. Ett antal linjer sent i selektionen har blivit testade av medsökande "Potatisodlarna" men tyvärr fyller ingen av dem allmänna produkt-kriterierna för att vara intressanta att gå vidare med utifrån dessa resultat. Bladmögelresistensen var dock tillfredställande. Dock finns möjligheten att några linjer från korsningarna som gjordes under de senaste åren kan ge någon kommersiellt intressant linje.

En analys av potatisförädlingen har publicerats 2016, som också fått en hel del mediatäckning: "Overview and breeding strategies of table potato production in Sweden and the Fennoscandian region" av Dennis Eriksson, Ulrika Carlson-Nilsson, Rodomiro Ortíz, Erik Andreasson. *Potato Research* 59 (3): 279-294. Här diskuterar vi behov och struktur i Sverige och jämför med Norge och Finland. Danmark har en kommersiell potatisförädling.



### *Del B: Markörutveckling och analys av nya korsningar*

Den tidigare nämnda förädlingsklonen SW93-1015 har i fleråriga fältförsök liksom vid artificiell inokulering av blad i labbförsök visat sig bära på en mycket hög resistens mot *P. infestans* i bladverket. Dock är motståndskraften mot brunröta i knölnarna relativt dålig. I ett tidigare växtförädlingsprojekt (Formas/SLF 2009-1946) har vi studerat främst bladmögelresistensen i denna klon (Ali *et al.*, 2012). Med hjälp av en effektorscreening utförd av vår samarbetspartner Wivanne Vleeshouwers, Wageningen University, kunde vi dra slutsatsen att denna klon har en annan resistensmekanism än den som finns i den också mycket bladmögelresistent sorten Sarpö Mira, och en robust markör har tagits fram (Lenman *et al.* 2016). Eftersom SW93-1015 och Sarpö Mira enligt våra tidigare undersökningar visade sig ha kompletterande resistensegenskaper är vår målsättning att ta fram en avkomma där både SW93-1015 och Sarpö Miras resistensegenskaper finns kombinerade i en och samma genotyp. Med andra ord en uthållig, ”superstackad” bladmögelresistent linje som också bör sakna de dåliga egenskaper såsom låg avkastning och ofta missformade knölar (AFBI, 2011) som noterats hos Sarpö Mira. För att kunna fastställa att båda resistenstyperna har nedärvt till avkomman kan vi inte använda oss av fenotypiska undersökningsmetoder eftersom genotyper med resistens enbart nedärvt från den ena föräldern inte kommer att skilja sig från genotyper som innehar resistensegenskaper från båda föräldrarna. Tillsammans med markörer framtagna för resistensgenerna hos Sarpö Mira, (*R3a*, *R3b*, *R4*, *Rpi-smira1*, *Rpi-smira2*) (Rietman, 2011, Tiwari *et al.*, 2013, Sliwka, pers. kontakt), har den av oss framtagna markören för SW93-1015 lämplig för att finna de genotyper vi vill gå vidare med i förädlingsprogrammet. Först har vi etablerat metoder för att köra dessa markerör utan bakgrundsproblem i laboratoriet. Ca 200 linjer har blivit analyserade med dessa DNA markörer.

Potentialen för att använda RNA baserade markörer har också blivit analyserade, och där har bla resistensfaktorer för *Dickeya* (orsakar stjälbakterios) identifierats (Alexandersson *et al* 2020). Detta arbete fortsätter nu med att relatera detta till QTL markörer tillsammans med ett förädlingsföretag i Holland. Vi har även undersökt, tillsammans med mistrabiotech programmet, om det en ”stackningsstrategi” den skulle kunna fungera i Sveriges mycket populära King Edward. Konklusionen att det inte är något problem (Wang *et al* 2020).

### *Del C. Lämpligt resistensmaterial för Sverige*

Carolus har visat sig vara en förhållandevis bra sort ur bladmögel synpunkt i Sverige under tre år fältförsök i Borgeby. Den har en resistensgen (*Rpi-chc1*). En annan sort som verkar lovande är Sevilla som fungera bra i Sverige odlingsmässigt. För att identifiera nya resistenskällor som är anpassade till vår population av bladmögel gjordes en screen av vilka *Solanum* arter i Sverige (Abreha *et al* 2018). Nattskatta (*Solanum nigrum*) har mkt konsistent resistens, i det närmaste vad man kan kalla icke-värdväxts resistens. Besksöta har en viss resistens men den inte så lätt att arbeta med. Vi vet nu åtminstone hur en av de resistensgenerna i nattskatta ser ut. Vi har även inlett ett samarbete med Danespo, ett danskt potatisförädlingsföretag, som jobbar med bl a

Sarpomira korsningar. Detta arbete kommer att utföras inom ramen för det nyligen startade SLF/Formas projektet: "Integrated use of genetic resistance in Swedish food potato production".

Nedan ses en tabell med skördekvoter mellan Umeå och Skåne (Umeå/Skåne, dvs t ex mandel fungerade bra i Umeå förhållandevis). Denna analys gjordes för att undersöka hur fyra kloner från förädlingsprogrammet (x9nnnnn) fungerade i "hela Sverige", samt att undersöka framtida eventuella korsningsföräldrar så att de ger en förhållandevis bra skörd i hela Sverige.

<u>Sort eller förädlingslinje</u>	<u>Skördekvot</u>
Amour	1.58
Mandel	1.44
x913057	1.37
Sarpomira	1.37
x908510	1.33
Folva	1.34
Fontane	1.24
Bintje	1.21
Desiree	1.15
King Edward	1.15
Asterix	1.14
Rocket	1.13
Toluca	1.13
Connect	1.11
x908170	1.03
x910106	1.01
Artemis	0.96
Carolus	0.86
Solist	0.86

Generellt var det inte så stor skillnad mellan Umeå och Skåne. Tyvärr kom Carolus inte ut så bra i denna undersökning, medan Sarpomira producerade bra i Umeå och King Edward var jämn.

Slutligen har vi som ett komplement till den klassiska förädlingen analyserat ett alternativ med geneditering (tillsammans med medel från mistrabiotech och NNF): Increased late blight resistance in potato through CRISPR/Cas9 edited mutations in Susceptibility genes, to be submitted in July to Theoretical and Applied Genetics. Vi har inaktiverat två gener och fått ökad resistens mot bladmögel. Dock är det inte lika effektivt som de klassiska resistensgener, men kan kanske i framtiden fungera som ett alternativ att förlänga uthålligheten av resistensgener.

### Angelägenhet för näringen

Resistenta sorter är det mest effektiva medlet för att hindra sjukdomsangrepp och minska behovet av kemisk bekämpning eller andra åtgärder för att minimera skadorna av angrepp. I potatis är detta särskilt uttalat med 8-12 kemiska bekämpningar under odlingssäsongen alternativt avbruten tillväxt. Detta kombinerat med en extremt komplex populationsstruktur hos oomyceten *P. infestans* i Sverige. Bekämpningen av bladmögel/brunnröta kostar följaktligen stora belopp och riskerar dessutom i långa loppet att minska potatisarealen då konsumenter kan bli skeptiska till så frekvent sprutning. Det är ett allmänt mål att reducera och behovsanpassa användningen av kemiska bekämpningsmedel i Sverige för att minska miljöbelastningen från lantbruket. Betydelsen av detta ökar med implementeringen av det nya EU-direktivet om integrerad bekämpning. Samtidigt som det är önskvärt att resistensen mot skadegöraren är mer hållbar än i de sorter som tidigare introducerats så måste nya sorter också ha odlings- och kvalitetsegenskaper som är anpassade till svenska odlingsförhållanden och svensk marknad. King Edward är fortfarande en ledande sort trots sina brister. Den situation som råder på svensk sortmarknad för potatis visar härigenom på behovet av en växtförädling som är inriktad på att kombinera resistens, odlingssegenskaper och marknadens kvalitetskrav.

### Sammanfattning

Syftet med projektet var att införa molekylära markörer för ”stacking” av resistensgener mot potatisbladmögel samt upprätthållande av den ”lägsta rimliga nivån” i det befintliga växtförädlingsprogrammet för potatis vid SLU Alnarp. Detta förbättrar möjligheterna att utveckla nya matpotatissorter med hållbar motståndskraft mot potatisbladmögel och därmed bidra till möjligheterna att minska användningen av fungicider, alternativt kunna odla sorter ekologiskt. Svenska potatisodlare kan då i framtiden erbjudas flera alternativ på marknaden. Årligen har nästan 10 000 frön från korsningar såtts och ytterligare urval i ett osprutat fält i Skåne har genomförts. Molekylära markörer för flera resistensgener mot potatisbladmögel har etablerats och används. Även information om resistenskällor och resistensgener som är lämpliga i Sverige har genererats. Lovande kloner är i utvärderingsprocessen och ett fåtal har testas i odlingsförsök.

### Referenser

- Abreha KB, Lankinen Å, Masini L, Hydbom S, Andreasson E (2018) Late blight resistance screening of major wild Swedish Solanum species: *S. dulcamara*, *S. nigrum* and *S. physalifolium*. *Phytopathology*, doi.org/10.1094/PHYTO-10-17-0355-R
- AFBI (Agr-Food and Biosciences Institute) (2011). Potatoes. Varieties for northern Ireland 2011. (online) <http://www.afbini.gov.uk/12816AFBIPotatoVarieties.pdf>
- Ali A., Lenman M., Moushib L., Ohlsson K., Levander F., Carlson-Nilsson U., Zoteyeva N., Liljeroth E., Andreasson E. (2011). Paranoid potato: Phytophthora resistant genotype show constitutively activated defence. *Plant Signaling and Behavior* 7(3), 1–9.

- Alexandersson E, Kushwaha S, Subedi A, Weighill D, Climer S, Daniel Jacobson, Andreasson E (2020) Linking crop traits to transcriptome differences in a progeny population of tetraploid potato. *BMC Plant Biology* DOI: 10.1186/s12870-020-2305-x.
- Brurberg, M.B., Elameen, A., Le, V.H., Nærstad, R., Hermansen, A., Lehtinen, A., Hannukkala, A., Nielsen, B., Hansen, J., Andersson, B. & Yuen, J. (2011). Genetic analysis of *Phytophthora infestans* populations in the Nordic European countries reveals high genetic variability. *Fungal Biology* 115(4–5), 335–342.
- Eriksson D, Carlson Nilsson U, Ortiz R, Andreasson E (2016) Overview and breeding strategies of table potato production in Sweden and the Fennoscandian region. *Potato Res*, DOI 10.1007/s11540-016-9328-6
- Lenman L, Ali A, Mühlenbock P, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E, Vleeshouwer W, Andreasson E (2016) Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theor Applied Genetics* 129 (1): 105-115, DOI: 10.1007/s00122-015-2613-y
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* 9(3), 385–402.
- Gisi, U., Walder, F., Resheat-Eini, Z., Edel, D. & Sierotzki, H. (2011). Changes of Genotype, Sensitivity and Aggressiveness in *Phytophthora infestans* Isolates Collected in European Countries in 1997, 2006 and 2007. *Journal of Phytopathology* 159(4), 223–232.
- Haverkort, A.J., Boonekamp, P.M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L.A.P., Kessel, G.J.T., Visser, R.G.F. & Vossen, E.A.G., (2008). Societal Costs of Late Blight in Potato and Prospects of Durable Resistance Through Cisgenic Modification. *Potato Research* 51(1), 47–57.
- Mayton, H, Smart, C.D., Moravec, B.C., Mizubuti, E.S.G., Muldoon, A.E. & Fry, W.E. (2000). Oospore Survival and Pathogenicity of Single Oospore Recombinant Progeny from a Cross Involving US-17 and US-8 Genotypes of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease* 84(11), 1190–1196.
- Rietman, H. (2011). Putting the *Phytophthora infestans* genome sequence at work; identification of many new R and Avr genes in *Solanum*. PhD thesis, Wageningen University
- SCB, Statistiska meddelanden, Växtskyddsmedel i jordbruket 2011. (2012). Beräknat antal hektardoser. Slutlig statistik (online) <http://www.scb.se/>.
- SCB, Jordbruksstatistisk årsbok 2013 med data om livsmedel. (2013). (online) <http://www.scb.se/>.
- Sliwka, J. Młochów Research Centre, Poland (pers. kontakt)
- Tiwari, J.K., Siddappa, S., Singh, B.P., Kaushik, S.K., Chakrabarti, S.K., Bhardwaj, V, Chandel, P. (2013). Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: an update. *Plant Breeding* 132, 237–245.
- Wang ES, Kieu NP, Lenman M, Andreasson E (2020) Tissue culture and refreshment techniques for improvement of transformation in local tetraploid and diploid potato with late blight resistance as an example. *Plants (MDPI)*, 9, 695: doi.org/10.3390/plants9060695



### Del 3: Resultatförmedling

<b>Vetenskapliga publiceringar</b>	Eriksson D, Carlson Nilsson U, Ortiz R, Andreasson E (2016) Overview and breeding strategies of table potato production in Sweden and the Fennoscandian region. Potato Res, DOI 10.1007/s11540-016-9328-6
	Wang ES, Kieu NP, Lenman M, Andreasson E (2020) Tissue culture and refreshment techniques for improvement of transformation in local tetraploid and diploid potato with late blight resistance as an example. Plants (MDPI), 9, 695: doi.org/10.3390/plants9060695
	Alexandersson E, Kushwaha S, Subedi A, Weighill D, Climer S, Daniel Jacobson, Andreasson E (2020) Linking crop traits to transcriptome differences in a progeny population of tetraploid potato. BMC Plant Biology DOI: 10.1186/s12870-020-2305-x.
	Abreha KB, Lankinen Å, Masini L, Hydbom S, Andreasson E (2018) Late blight resistance screening of major wild Swedish Solanum species: S. dulcamara, S. nigrum and S. physalifolium. Phytopathology, doi.org/10.1094/PHYTO-10-17-0355-R
	Nam Phuong Kieu, Eu Sheng Wang, Bent L Petersen, Marit Lenman, Erik Andreasson (2020) Increased late blight resistance in potato through CRISPR/Cas9 edited mutations in Susceptibility genes, to be submitted in July to Theoretical and Applied Genetics
	Field resistance in Sweden to late blight, in preparation
	Resistance genes from Solanum americanum, last data collection in process
<b>Muntlig kommunikation</b>	Intervju för artikel i Viola potatis
	Intervju för artikel i Biodiverse
	Intervju för artikel i Lantbruksnytt
	Fältvisningar vid Borgebydagarna
	Deltagande vi FK dagarna i Kristianstad flera gånger
	Föredrag och middag vid Potatisodlarnas årstämma



<b>Övrigt</b>	Två referensgruppsmöten har avhållits