

Integrerad användning av genetisk resistens i svensk matpotatisproduktion

Inledning

Den totala potatisarealen i Sverige är ca 20 000 hektar varav majoriteten utgörs av matpotatis, varav en mindre del till industriell bearbetning, och resten stärkelsepotatis. Endast ett fåtal procent av den totala matpotatisproduktionen är ekologiskt odlad. 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. I södra Sverige besprutas konventionella potatisodlingar 8–12 gånger/säsong. Den huvudsakliga orsaken är bladmögel/brunröta-angrepp orsakade av oomyceten *Phytophthora infestans*. Nyligen har bladmögelproblematiken blivit än svårare eftersom nya fungicidresistenta isolat har påträffats samtidigt som färre fungicider finns att använda. Dessutom har problem med skalfinish blivit större, på grund av graden av tvättad produkt och antagligen konsumenters kravnivå.

Nya potatissorter har börjat bli tillgängliga som är resistenta mot bladmögel samtidigt som de verkar acceptabla ur andra synpunkter. Bara lite av detta material används i svensk potatisproduktion och inga officiella sortförsök görs med matpotatis. Nya biologiska produkter mot skalfinish problem utvecklas, och skalfinish samt torka är ökande problem för svenska potatisodlare. Syftet med detta projekt är att främja hållbar användning av nya resistenta potatissorter och biopesticider/stimulanter i svensk potatisproduktion. Detta planerades att nås genom screeningförsök av omfattande startmaterial samt mer traditionella fältförsök, med biologisk betning. Egenskaper som resistens mot bladmögel, skalfinish och kokegenskaper samt utbyte och storleksfördelning har undersökts. Detta förbättrar möjligheterna att utveckla nya matpotatissorter med hållbar motståndskraft mot potatisbladmögel och därmed bidra till möjligheterna att minska användningen av fungicider. Svenska potatisodlare kan då i framtiden erbjudas flera alternativ på marknaden. Även information om vilka resistenskällor som är lämpliga i Sverige har varit inom projektramens mål.

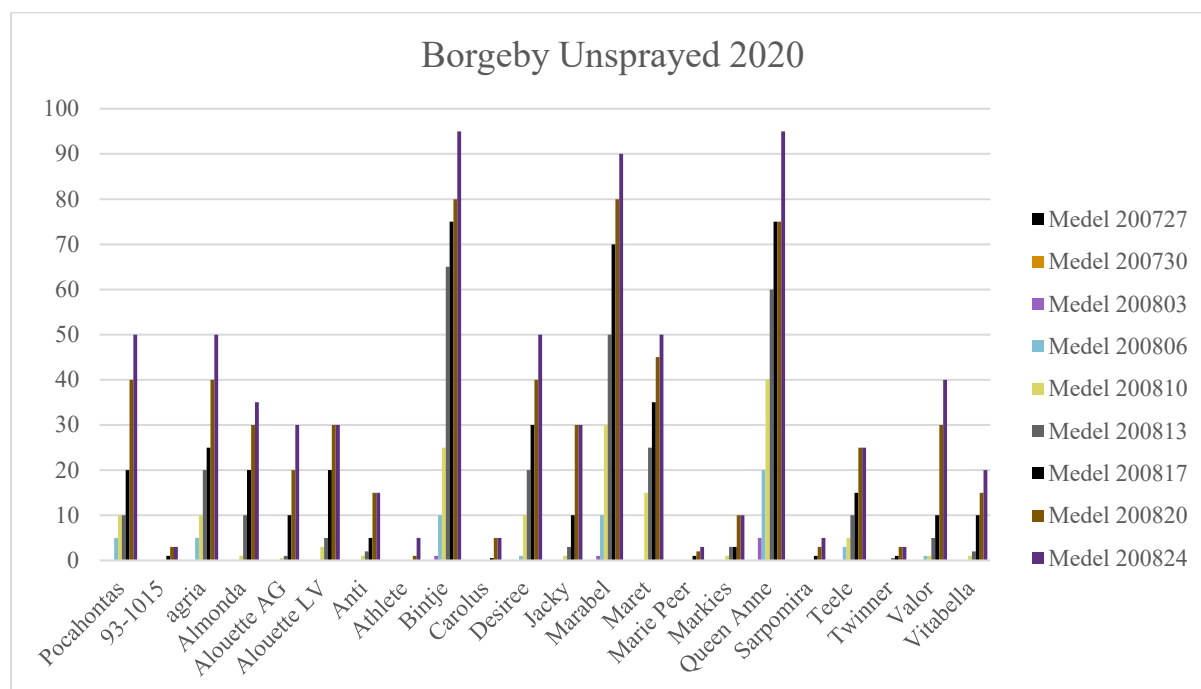
Resultat och diskussion

Detta avsnitt innehåller följande delavsnitt:

1. Kartläggning och försök på kommersiellt material (registrerade sorter)
2. Hjälp till konventionell potatisförädling
3. Biokontroll av skalfinishproblem
4. Nya mål och förädlingstekniker för ökad resistens

1. Kartläggning och försök på kommersiellt material (registrerade sorter)

Vi har inventerat olika möjligheter för att medverka med introduktionen av nya bladmögelresistenta sorter i Sverige. Polskt potentiellt intressant material var identifierat varav vi har testat 10 olika genotyper. Dock visade sig ingen av dem vara intressant på grund av för låg bladmögelresistens i våra försök. Dessutom har ett stort antal nyare sorter testats i jämförande analyser i Borgeby (se tabell 1). Speciellt en sort från Estland och två från Danmark har visat sig vara mycket intressanta skördemässigt. Dock har till exempel Tinca, en nyare sort med bara en resistenskälla, inte levt upp till förväntningarna och resultat har förmedlats på potatisodlarnas demoodling. Athlete, Twinner och Marie Peer hade mycket lite bladmögel, vilket beror antagligen på att de vissnade ner tidigt (se figur 1, exempel från 2020).



Figur 1. Procent bladmögelangrepp på registrerade sorter i Borgeby 2020 (exempel).

En Estnisk sort, Anti, befanns 2020 som intressant med avseende på mycket hög skörd, mycket bra bladmögelresistens, och acceptabel kvalitet utifrån knölanalyser gjorda av Svensk potatis. Därför testades denna sort igen i 2021 i Borgeby och i potatisodlarnas demoförsök. 2021 fick denna sort mycket stora skorvangrepp, samt befanns vara svår att blastdöda vilket gör den eventuellt lämplig som stärkelsepotatis, men ej intressant att jobba vidare med i relation till Svensk matpotatisproduktion. Denna stora datamängd från flera år, olika patogener och knölkvalitet är nu under analys och ett manuskript om detta

är på gång. När slutsatserna blir klara kommer vi att kunna ge konkreta sortråd utifrån våra data.

Tabell 1. Testade nummer-kloner och kultivarer.

Testade nummerkloner	Testade kultivarer
18HY5003	Anti
18HY5367	Maret
18HY6225	Teele
18SR0005	Pocahontas
19HY0448	Almonda
19HY0450	Alouette (LV)
19HY0475	Marabel
19HY0482	Marie Peer
19HY0518	Queen Anne
19HY0524	Valor
09-MBS-2	Vitabella
12-LHI-6	Alouette (AG)
12-MVF-1	Athlete
12-MVN-4	Jacky
13-Nep-1	Twiner
14-NKR-2	Argana
15-NCY-10	Kelly
15-Nos-4	Tinca
P-19	Agria
P-24	Carolus
P-72	Sarpomira
dmr6-1-A	Desiree

dmr6-1-B	Markies
dmr6-1-C	
93-1015	Bintje
CMK2025	Otolia
B682	Sound
B683	
B684	Lady Jane
	Acoustic
B685	Belmira
HY1	Bintje
HY3	Gardena

Potatisprover skickades till Svensk Potatis för kokprov och analys av ett antal skalsjukdomar, bland annat vanlig skorv, nätskorv, pulverskorv, lackskorv (och andra skador orsakade av *Rhizoctonia*), silverskorv och stjälkbakterios. De vanligaste skalsjukdomarna var vanlig skorv samt lackskorv och andra skador orsakade av *Rhizoctonia*. Variationen var dock stor vilket gör att det är svårt att dra säkra slutsatser om huruvida vissa av de prövade sorterna är mer känsliga än andra. Vi kunde dock se att sorten Tinca har låg känslighet för vanlig skorv medan sorten Sarpo Mira har hög känslighet. Sarpo Mira hade, å andra sidan, hög känslighet för lackskorv, medan Belmira, en korsning med bland annat Sarpo Mira som förälder, hade betydligt högre känslighet. Kokproverna visade låg grad av mörkfärgning, stark blöta och sönderfall hos alla sorter, vilket är ett eftersträvarsvårt resultat.

2. Hjälp till konventionell resistensförädling

Vi har testat konventionellt förädlad bladmögelresistent potatismaterial i fält (se tabell 1), främst från Danmark och Holland, eftersom de länderna genererar flest sorter till den svenska marknaden. Det danska materialet består av stor del avancerade förädlingslinjer med två resistensgener, vilket borde göra att resistensen håller längre. Vi har hjälpt till i urvalsprocessen i tre år nu så att de ska passa svenska förhållanden. Vi har dessutom identifierat två bra resistensgener av tre testade för användning i diploid hybridförädling för Europa. I ett samarbetsprojekt med försök också i Holland och Österrike testar vi om vi kan mäta bättre resistens med tre jämfört med två gener i ett och samma år. Material för kvalitetsanalyser har analyserats av organisationen Svensk potatis, och inget av detta material

kunde avfärdas på grund av dålig skal eller kokkvalitet. Vi har också publicerat en artikel från försöken i Borgeby där tre resistensgener (Blb1, Blb2 och Vnt1) ger fullkomlig bladmögelsresistens: *Genetically modified (GM) late blight-resistant potato and consumer attitudes before and after a field visit. (2022) GM Crops and Food.*

10.1080/21645698.2022.2133396 av Jéssica Bubolz, Patrycja Sleboda, Anna Lehrman, Sven-Ove Hansson, Carl Johan Lagerkvist, Björn Andersson, Marit Lenman, Svante Resjö, Marc Ghislain, Muhammad Awais Zahid, Nam Phuong Kieu, Erik Andreasson.

Framtida potatisförädling kommer att inkludera molekylär information, men det finns få robusta biomarkörer tillgängliga, särskilt för växter som odlats under extremt långa dagar som många i Sverige. Vi presenterar kvantitativa proteomikdata från 3 års fältförsök på potatis (Svante Resjö, Jakob Willforss, Annabel Large, Valentina Siino, Erik Alexandersson, Fredrik Levander, Erik Andreasson (2024) *Comparative proteomic analyses of potato leaves from field-grown plants grown under extremely long days. Plant Physiology and Biochemistry*, under revision), utförda i Rönnebydalen nära Umeå och Borgeby i Skåne. Vi analyserar över 3000 proteiner per år, och kompletterar den proteomiska analysen med metaboliska och transkriptomiska analyser. Små men konsekventa skillnader kopplade till de längre dagarna (i genomsnitt fyra timmar mer ljus per dag) i norra Sverige (20 timmar ljus/dag) jämfört med södra Sverige kan observeras, med en hög korrelation mellan mRNA och proteinnivåer. Majoriteten av proteinerna med konsistent olika mängd mellan norra och södra Sverige kunde delas in i tre grupper: metaboliska enzymer (särskilt GABA-metabolism), proteiner involverade i redoxmetabolism och hydrolytiska enzymer. De observerade skillnaderna i mängder av metabola enzymer överensstämde väl med metabolitdata. Vi analyserade även skillnader i proteinmängd mellan potatissorter som klarade sig relativt bra i norra Sverige när det gäller skörd, med de som klarade sig relativt sämre. Denna jämförelse indikerar att proteinerna med högre förekomst i högvakastningskvotgruppen är mer anabola till sin karaktär, medan proteinerna med lägre förekomst är mer kataboliska. Våra data indikerar att potatisplantor generellt sett inte stressas av extremt långa dagar.

3. Biokontroll av skalfinish problem

Vid planeringen av biokontrollförsök med biologisk betning hade vi möten med företagsrepresentanter för det biologiska preparat som var tanken att användas. Då fick vi ta del av en stor mängd försök från tidigare år (främst från Holland). Slutsatsen från dessa är att det inte är tillräckligt att bara använda ett preparat för oss i kontexten av detta projekt. Därför

evaluerades olika alternativ, och vi valde att bara använda den rimligt bladmögelresistent sorten Carolus, samt testa flera olika betningsmedel.

Försök med biologisk och kemisk betning utfördes i Borgeby, med nio olika behandlingar. En biologisk behandling gav mycket stora negativa effekter, annars inga stora negativa eller positiva effekter på tillväxt har kunnat ses. Material för kvalitetsanalyser skickades till organisationen Svensk potatis, och inga tydliga effekter kunde ses. Resultaten för 2021 hade för stor variation, varför 2022 år försök hade ett utökat antal repetitioner (8 per behandling). Resultaten visade tyvärr ingen positiv effekt, bara försenad uppkomst för ett preparat. Försenad uppkomst kan dock kan vara en dosfråga. Dessa försök indikerar att inget av preparaten var lämpliga att använda, åtminstone i förhållanden liknande de i Borgeby. Det kan konstateras att försöksfältet innehöll både vanlig skorv och silverskorv.

Vi har inhandlat svampisolat för att kunna undersöka resistens mot skalfinishproblem. Dessa växer i laboratoriet, och är infrysta i vår klonbank. Vi har dessutom etablerat ett assay-system för silverskorv.

4. Nya mål och förädlingstekniker för ökad resistens

I flera politiska initiativ inom EU och nationellt anges minskningsmål för användning av växtskyddsmedel. Nya genomiska tekniker (NGT) anges i dessa sammanhang som ett uthålligt sätt att minska behovet av kemiska insatsmedel och därmed bidra till minskningsmålen.

En väg att gå är via cis-genesis, i detta fall direkt introducera flera resistensgener i elitsorter, gener som redan finns i förädlingspoolen eller har använts länge i liknande system. Denna metod är till diskussion inom EU och förhoppningsvis kan vi få en lagstiftning som är proportionell till risker även inom EU. Som ett underlag till detta har vi haft upprepade kontakter med EUs Joint research center i Sevilla, och vi har skrivit en artikel tillsammans, där cis-genesis med bladmögelresistent gener anges som ett av de bästa exemplen för tillfället:

Schneider, Kevin; Barreiro-Hurle, Jesus; Vossen, Jack; Schouten, Henk J.; Kessel, Geert; Andreasson, Erik; Kieu, Nam Phuong; Strassemeier, Joern; Hristov, Jordan; Rodriguez-Cerezo, Emilio (2023) *Insights on cisgenic plants with durable disease resistance under the European Green Deal. Trends in Biotechnology*. doi.org/10.1016/j.tibtech.2023.02.005

Ett annat sätt att öka resistensen hos potatis är att ta bort så kallade sensitivitetsgener eller känslighetsgener via hjälp av gensaxen. Till detta behövs bra målgener och verktyg som vi utvecklat i fem artiklar:

1. Nam Phuong Kieu, Marit Lenman, Eu Sheng Wang, Bent L. Petersen & Erik Andreasson (2021) *Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes*. *Scientific Reports* DOI: 10.1038/s41598-021-83972-
2. Muhammad Awais Zahid, Nam Phuong Kieu, Frida Meijer Carlsen, Marit Lenman, Naga Charan Konakalla, Huanjie Yang, Sunmoon Jyakhwa, Jozef Mravec, Ramesh Vetukuri, Bent Larsen Petersen, Svante Resjö, Erik Andreasson (2024) *Enhanced stress resilience in potato by deletion of Parakletos*. *Nature Communication*, 10.1038/s41467-024-49584-4.
3. Milla Karlsson, Nam Phuong Kieu, Marit Lenman, Salla Marttila, Svante Resjö, Muhammad Awais Zahid, Erik Andreasson (2024) *CRISPR/Cas9 genome editing of potato StDMR6-1 results in plants less affected by different stress conditions*. *Horticultural Research* 10.1093/hr/uhae130.
4. Kieu N.P., Lenman M., Andreasson E. (2021) *Potato as a Model for Field Trials with Modified Gene Functions in Research and Translational Experiments*. In: Dobnik D., Gruden K., Ramšak Ž., Coll A. (eds) *Solanum tuberosum. Methods in Molecular Biology*, vol 2354. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1609-3_5
5. Andreasson Erik, Kieu Nam Phuong, Zahid Muhammad Awais, Carlsen Frida Meijer, Marit Lenman, Sandgrind Sjur, Petersen Bent Larsen, Zhu Li-Hua (2022) *Schemes for In Vitro Shoot Regeneration From Tissues and Protoplasts of Potato and Rapeseed: Implications of Bioengineering Such as Gene Editing of Broad-Leaved Plants*. *Front Genome Ed.* 29;4:780004. doi: 10.3389/fgeed.2022.780004

Genom att identifiera, och med hjälp av gensaxen plocka ut de gener som gör potatisen känslig för angrepp, minskas angreppsgraden av bladmögel (Kieu et al 2021). Det har vi bevisat genom ett fyraårigt fältförsök med potatissorten King Edward. Ett sådant långt fältförsök med gensaxen finns inte tidigare publicerat från någon annan gröda (Karlsson et al 2024). Genom att ta bort en potatisgen för så kallade susceptibilitet, en S-gen, minskar risken för att potatisplantan ska utveckla bladmögel. Via fyraåriga fältförsök i Borgeby kan vi bekräfta en generell minskning av bladmögel på potatis där genen tagits bort. Vi visar även att borttagandet av genen inte försämrade skörden. Skademinskningens storlek är dock varierande från år till år. Den ökade sjukdomsresistensen är också bredverkande mot fler sjukdomar än bladmögel såsom torrfläcksjuka och skorv. Vi har också identifierat en helt ny S-gen (Parakletos), som ökade skörden i osprutade fält med ca 20 % i tvååriga försök (Zahid et al 2024). De andra artiklarna ovan rör mer tekniska metoder för att optimera

gensaxanvändningen samt potatis som ett modellsystem. S-genmetoden bör kombineras med andra metoder.

Övrig kommentar

Detta SLF projekt har kopplats på som ett pilotfall i ett EU projekt med namn ”Nextfood Impact Framework”. Den svenska delen leds av Lisa Blix Germundsson och det handlar om utvärdering av tillämpad forskning. Representanter har för det projektet varit med på referensgruppsmöten och detta SLF-projekt var ett av några i en fallstudie.

Slutsatser

Även om några befintliga sorter är lovande ur bladmögelsesistens krävs mer fältförsök, speciellt med tanke på osäkerheten kring uthålligheten i resistenskällorna som oftast fortfarande bara är en gen. Sortanalysen är inte slutförd ännu. Potatis där två olika S-gener var för sig klippts ut med gensaxen, visar minskad bladmögelse och torrfläckssjuka. En av nya potatisgenotyperna visar också minskade angrepp av vanlig skurv.

Biologisk betning av sättknölar är en utmaning, och våra resultat har inte varit positiva utan tyvärr varit negativa i vissa fall. Vi har etablerat en metod att mäta resistens mot silverskuv.

Vi har nu identifierat vilka resistensgener mot bladmögelse som kan användas i Sverige. De nya genomiska teknikerna (NGT) visar stor potential inom potatisförädling, speciellt med tanke på fungicidresistens och färre möjligheter av mix av fungicider. En tanke är kombinera många olika resistenskällor i elitpotatiskultivarer. Det är viktigt att lagstiftningsarbetet kring NGT i EU går framåt i en positiv riktning för att undvika konkurrensnackdelar och miljöbelastning. Detta projekt har lyfts som ett gott exempel i diskussionen om NGT, och klassisk potatisförädling är mycket svårt vilket kan illustreras med det faktum att vi i Sverige fortfarande använder King Edward i så stor utsträckning.

Fortsättningsprojekt sker via SLU Grogrund och Formas, medan mer sortprovning med olika sprutregimer bör finansieras på annat sätt.

Resultatförmedling

Vetenskapliga publiceringar	Se ovan (7 stycken)
Övriga publiceringar	SLU WEB: https://www.slu.se/ew-nyheter/2024/6/bortklippt-gen-gav-friskare-potatis/
	SLU WEB: https://internt.slu.se/nyheter-originalen/2023/3/inget-bladmogel-pa-king-edward-potatis-som-fatt-tre-gener-fran-vilda-potatisslaktingar/
	SLU WEB: https://internt.slu.se/nyheter-originalen/2024/2/eu-beslut-oppnar-for-nya-genomiska-tekniker/
	Viola Potatis 2022
Muntlig kommunikation	Borgeby dagarna 2021 och 2023
	Gamla Riksdagssalen: Muntlig presentation i ett gensaxseminarium 2023 (Erik Andreasson)
	Potatisodlarnas demoodling (årligen)
Övrigt	Rapport: Möjliga tillämpningar av nya genomiska tekniker inom integrerat växtskydd av Milla Karlsson, Jens Sundström, Anna Berlin, Erik Andreasson 2023/12/11 DOI: https://doi.org/10.54612/a.3n00ebeumo
	Manuskript: Late blight resistance and tuber aspects in new potato material grown in Sweden