

SOFIA BERLIN KOLM • CHRISTER BJÖRKMAN • LORENZO BONOSI • LUISA GHELARDINI
 ANNA LEHRMAN • NILS-ERIK NORDH • ANN CHRISTIN RÖNNBERG-WÄSTLJUNG • BERIT SAMILS
 JOHAN A STENBERG • JAN STENLID • MARTIN WEIH • INGER ÅHMAN • SARA VON ARNOLD

Nya salixsorter med modern växtförädlingsteknik



Foto: Karin Eklund (a, c-e), Berit Samils (b)

FIGUR 1. Salixodling för biobränsle (a) och några viktiga skadegörare och nyttoinsekter: bladrost (b), blå pilbladbagge som lägger ägg (c) samt allmänt näbbstinkfly (d) och grönt ängstinkfly (e) ätandes ägg av blå pilbladbagge.

- Vi försöker utnyttja ny teknik, *markörbaserat urval*, för att öka precisionen och effektiviteten i växtförädlingen av salix. I korthet handlar det om att vi i ett stort förädlingsmaterial vill kunna identifiera unga plantor med genetiska anlag för en viss egenskap – i stället för att låta plantorna växa upp och sedan testa om de har egenskapen i fråga.
- Vi kartlägger nu den genetiska bakgrunden till egenskaper som påverkar biomassaproduktionen. Det handlar om fenologiska egenskaper som datum för knoppsprickning, lövfällning och knoppsättning, om resistens mot insekter och rostsvamp och om tolerans mot torka och värme.
- För att kunna identifiera gener bakom dessa egenskaper har vi konstruerat två genkartor som beskriver geners position längs kromosomerna.
- När den genetiska bakgrunden är utredd kan vi undersöka om en planta har ärvt de egenskaper vi söker genom att använda genetiska markörer belägna i generna bakom egenskaperna.

Bioenergi har en nyckelroll i EU:s ”energi- och klimatpaket”, som bland annat fastslår att förnybar energi ska stå för 20 procent av energikonsumtionen inom EU år 2020. Biobränsle är en viktig förnyelsebar energikälla och skulle kunna ersätta fossila bränslen i ännu högre grad än nu. Olika länder har skilda förutsättningar att använda sig av biobränslen. Länder med stora skogsarealer kan använda hyggesrester och avfall från sågverk och massaindustri som biobränsle medan andra länder ser biobränslen odlade på jordbruksmark som ett viktigt alternativ. Efterfrågan på åkerbränslen ökar snabbt och behovet att få fram grödor för olika klimatområden är därför stort.

Av de energigrödor som odlas på åkermark i Sverige är det salix som har bäst miljöprofil – grödan växer snabbt och har en mycket god energibalans.

Förädlingen – vad har gjorts och vad behöver göras?

Den praktiska salixförädlingen startade vid Svalöf Weibull AB 1987. Genom denna förädling har avkastningen ökat med ca 60 procent, och under dessa år har ett trettio sorter tagits fram genom korsning och efterföljande urval i fält. Idag finns ett tiotal högavkastande salixsorter på marknaden, med god tillväxt och hög resistens mot vissa sjukdomar och insekter. Men det finns mer att göra, och idag finns ett stort intresse för salix också i andra delar av Europa (se faktaruta). För de nya marknaderna behövs dock nya och bättre anpassade salixsorter, med egenskaper som ökad tolerans mot värme, torka, starkt solljus och vissa lokala skadegörare.

Traditionell växtförädling har ibland vissa begränsningar, speciellt när man ska göra urval för egenskaper som är svåra att mäta. När egenskaperna uttrycks sent i livscykeln tar det t.ex. flera år innan urvalet

Bredare marknad för salix

Odling av energiskog på jordbruksmark (figur 1a) ses idag som en mycket intressant möjlighet att öka tillgången på biobränsle, nationellt och internationellt. Utvecklingen och försäljningen av salix var länge koncentrerad till Sverige, där vi sedan 1990-talet har ett fungerande kommersiellt system för både odling och bränsleanvändning. Under de senaste fem åren har intresset för salixodling dock ökat kraftigt i andra delar av världen, och övriga Europa är nu den helt dominerande marknaden för svenskt salixmaterial.

Salixodlingar anläggs främst för energiändamål, men även för sanering av tungmetall-förorenad mark och för rening av kommunalt avlopps- och lakvatten. Vidare kan röttslam och aska ersätta konstgödning i odlingen. Med lämplig lokalisering kan salixodlingar förbättra vattenmiljön inom sina avrinningsområden, och de kan därmed vara ett sätt att uppfylla de hårda krav som EU:s vattendirektiv ställer, inte minst på lantbruket.

Salix odlas relativt extensivt och i första hand på marker som inte direkt lämpar sig för andra lantbruksgrödor. Salix är också ett bra komplement till mer arbetsintensiva grödor och odlingen sprider riskerna i företaget som helhet. Behovet av biobränsle gör också att allt fler större energibolag försöker säkra sin egen försörjning av bränslen genom att i egen regi, eller på kontrakt, anlägga storskaliga salixodlingar.

kan göras. Ett sätt att effektivisera salixförädlingen är utnyttja nya tekniker som har utvecklats för förädling av kommersiellt viktiga jordbruks- och trädgårdsgrödor.

Markörbaserat urval komplement till traditionell växtförädling

I detta faktablad beskrivs projektet *Hög och uthållig biomassaproduktion från salix: integration av molekylärgenetik, ekofysiologi och växtförädling*, med arbetsnamnet SAMBA. Syftet med projektet är att utveckla och införliva s.k. markörbaserat urval inom växtförädling av salix för att möjliggöra ett effektivare urval. I korthet handlar det om att man i ett stort förädlingsmaterial ska kunna identifiera de plantor som bär genetiska anlag för en viss egenskap – i stället för att låta plantorna växa upp och sedan testa om de har egenskapen i fråga.

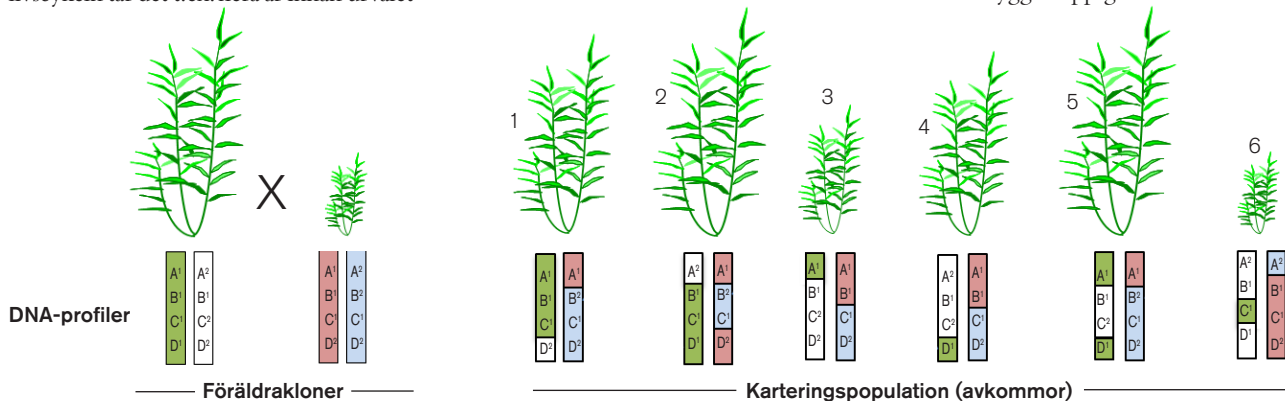
Urvalet görs med hjälp av genetiska markörer, dvs. ställen i arvsmassan som varierar mellan individer och som är kopplade till gener som styr de egenskaper man vill selektera för. Med hjälp av dessa genetiska markörer kan man på ett tidigt stadium identifiera individer med önskvärda

DNA-profiler som sedan utsätts för vidare testning och sortprovning. Om det går att göra ett tidigt urval av lovande växtindivider behöver betydligt färre plantor testas i fält än vid traditionell förädling.

Utveckling av genkartor

Det första steget mot ett markörbaserat urval i växtförädlingen är identifiering av gener som är betydelsefulla för olika egenskaper som man vill förädla för, med andra ord en kartläggning av egenskapernas genetiska bakgrund. För att påvisa dessa gener behövs genkartor som visar geners ordning och position i förhållande till varandra längs kromosomerna. För att konstruera en genkarta krävs en karteringspopulation, dvs. avkommor från en korsning mellan två föräldrar vilka bär de egenskaper som man är intresserad av (figur 2). Varje avkomma får en unik genupsättning. Genom att statistiskt analysera egenskapens variation och koppla den till olika genvarianter kan vi dessutom se var i arvsmassan de gener som bestämmer den genetiska bakgrunden ligger (figur 3).

När vi bygger upp genkartor för salix



FIGUR 2. Framställning av en karteringspopulation. Genom att korsa två föräldrakloner som besitter egenskaper av intresse för växtförädlingen produceras en mängd avkommor, en så kallad karteringspopulation. Vid korsning omkombineras föräldrarnas kromosomer, och avkommorna kommer alla att ha en unik DNA-profil. En karteringspopulation består som regel av flera hundra avkommor. I den förenklade kromosomskissen är fyra gener (A–D), vardera representerade av två genvarianter (1 och 2), markerade.

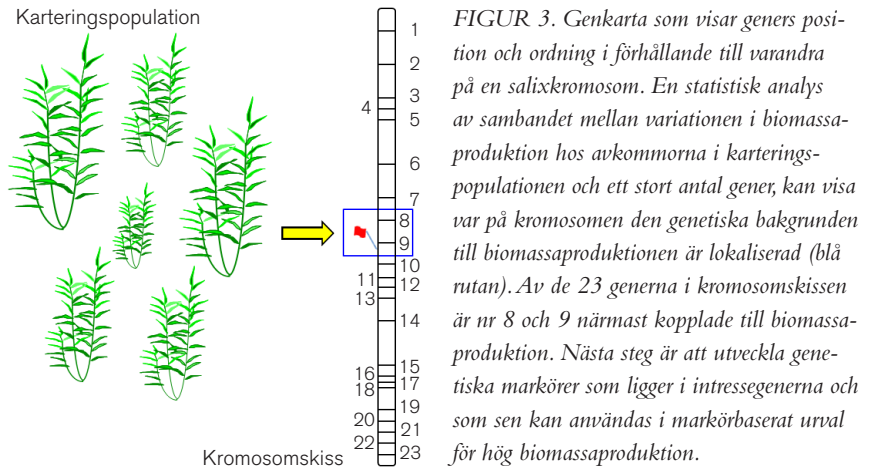
kan vi utgå från våra goda kunskaper om den närbesläktade arten poppel (*Populus trichocarpa*) – hos poppeln har hela DNA-sekvensen bestämts, och det har även gjorts kartläggningar av geners funktion och placering utmed kromosomerna. Vi har hittills konstruerat två genkartor för två olika karteringspopulationer som vi har använt för att hitta områden i arvsmassan som är kopplade till biomassaproduktion, bladrostresistens samt tid för knoppsprickning, knoppsättning och lövfällning (figur 3). Nästa steg är att utveckla genetiska markörer som är kopplade till de kartlagda generna och som ska kunna användas i markörbaserat urval. Dessa markörer behöver i ett senare skede testas och utvärderas i ett för ändamålet framställt växtförädlingsmaterial. En stor fördel blir att varje individ kan testas för ett stort antal egenskaper samtidigt.

Förädlingsmål

Inom SAMBA-programmet arbetar vi parallellt med ett flertal förädlingsmål.

Ökad produktion av stambiomassa och en bättre resursekonomi

Det är skotten på salix som skördas under vintern och används till flis för värme- och elproduktion. Då grödan är flerårig kan en verklig bedömning av produktionen hos en viss klon göras först efter många års tillväxt i fält. Detta är en betydande nackdel om man jämför med förädling av ettåriga grödor där urvalet görs efter en växtsäsong. För att kunna förädla en flerårig energigröda som salix på ett framgångsrikt sätt var vi därför tvungna att identifiera egenskaper hos unga plantor som avspeglar den långsiktiga produktionsförmågan i fält. Vi mätte ett antal egenskaper, bland annat skottbiomassa, total bladyta och kvävekoncentration, på unga, krukodlade plantor av olika salixkloner och utvärderade sedan hur väl dessa egenskaper kunde förutsäga



FIGUR 3. Genkarta som visar geners position och ordning i förhållande till varandra på en salixkromosom. En statistisk analys av sambandet mellan variationen i biomassaproduktion hos avkommorna i karteringspopulationen och ett stort antal gener, kan visa var på kromosomen den genetiska bakgrunden till biomassaproduktionen är lokaliserad (blå rutan). Av de 23 generna i kromosomskissen är nr 8 och 9 närmast kopplade till biomassaproduktion. Nästa steg är att utveckla genetiska markörer som ligger i intressegenerna och som sen kan användas i markörbaserat urval för hög biomassaproduktion.

den långsiktiga produktionsförmågan. Det vi fann var att en kombination av skottbiomassa och bladkvävekoncentration hos unga plantor väl återspeglar den långsiktiga produktionsförmågan i fält.

Vi har även med hjälp av kontrollerade försök i växthus studerat närings- och vattenutnyttjande. Här kunde vi identifiera flera områden på genkartan som påverkar variationen i t.ex. bladkvävekoncentration. I vissa av dessa områden finns dessutom gener som styr både blad- och stambiomassaproduktion.

Tolerans mot torka och värme

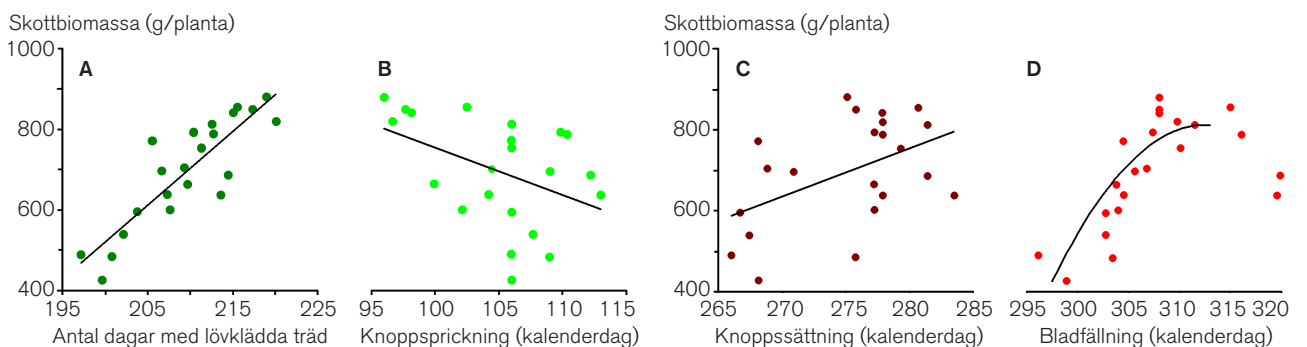
I fältförsök i Italien och Portugal har vi funnit vissa symptom, rullade blad och i vissa fall även plantdöd, som tyder på att plantorna är värme- och torkstressade. För att studera detta noggrannare har vi försökt att simulera ett sydeuropeiskt klimat i svenska växthus, men vi har inte fått samma symptom där. Vi har dock identifierat några växtegenskaper som återspeglar tolerans mot torkstress hos plantor odlade i växthus och även konstaterat stora skillnader i bladtemperatur mellan olika sorter och olika torkbehandlings (t.ex. vid konstant eller tillfällig torkstress). Vi arbetar med hypotesen att bladtemperatur under normala förhållanden kan avspeglar tolerans mot torka och har även

identifierat områden i arvsmassan som är kopplade till bladtemperatur.

Fenologi – årstidsbundna förlopp

Hos lövfällande träd och buskar såsom salix är längden på den period då plantorna är lövklädda avgörande för deras potentiella produktionsförmåga. Knoppsprickningen på våren styrs främst av temperaturförhållandena och är startpunkten för utvecklingen av fotosyntetiserande bladyta. Knoppsättningen och lövfällningen på hösten styrs däremot främst av dagslängden och sätter slutpunkt för den årliga biomassaproduktionen. Tidpunkterna för dessa tre förlopp varierar starkt mellan olika kloner (figur 4), och denna fenologiska variation kan utnyttjas i växtförädlingen för utveckling av sorter vilka är bättre anpassade till olika klimat och dagslängdsförhållanden.

Vi har med hjälp av försök i både odlingskammare och fält, upprepade under flera år, identifierat områden i arvsmassan där det finns gener som styr den variation vi har sett beträffande dessa egenskaper. Inom vissa områden finns dessutom gener som styr flera av egenskaperna. Totalt förklarar dessa områden upp till 55 procent av variationen för en viss egenskap. Ett urval baserat på markörer från dessa områden skulle därmed vara effektivt.



FIGUR 4. Antalet dagar då träden var lövklädda (A) hade stor inverkan på biomassaproduktionen hos sex fältodlade salixsorter i Uppsala-trakten. Av de enskilda variabler som påverkar plantornas fenologi hade kalenderdag för höstens lövfällning (D) störst inverkan på biomassaproduktionen. Kalenderdag för vårens knoppsprickning (B) samt höstens tillväxtavslut (knoppsättning, C) hade mindre betydelse.

Resistens mot bladrost

Bladrostsvampen *Melampsora larici-epitea* (figur 1b) kan orsaka betydande skador på salixodlingar, och hos mottagliga kloner har det förekommit att biomassaproduktionen minskat med upp till 40 procent. Resistens mot bladrost är och har länge varit ett av de viktigaste förädlingsmålen och det har också tagits fram kloner med höggradig resistens.

Ett fenomen som vi brottas med är att bladrostsvampen, i likhet med många andra rostsvampar, har förmågan att snabbt förändra sig och övervinna växtens resistens. Detta gäller speciellt den typ av resistens som styrs av en enda gen (kvalitativ resistens). Det finns också resistenstyper som baseras på flera gener (kvantitativ resistens), vilket svampen har svårare att kringgå. För att uppnå en långsiktigt hållbar resistens är det därför nödvändigt att basera förädlingen på flera gener. Idag har vi lyckats att lokalisera flera områden på genkartorna som är kopplade till resistens mot bladrostsvampen. Därmed finns det goda förutsättningar att kombinera flera olika resistensgener i salixsorterna med hjälp av markörbaserat urval och att därmed få en stabil resistens mot bladrosten.

Resistens mot insekter

Den blå pilbladbaggen (*Phratora vulgatissima*) (figur 1c) är den skadeinsekt som orsakar störst skördeförlost vid odling av salix. Vi arbetar med att öka kunskapen om denna skadegörare för att förbättra odlingssäkerheten. Hur stora skadorna blir i en viss klon beror på växtens direkta och indirekta försvar. Vi har funnit ett starkt samband mellan antal lagda ägg och bladbaggeskadorna på bladen hos ett urval av salixkloner. En hona kan under goda betingelser lägga 600–700 ägg. Växtegenskaper som minskar äggläggningen är därför mycket intressanta som urvalskriterier i växtförädlingen.

Det är känt att behåring och vissa bladkemikalier kan påverka äggläggning och ätande hos bladbaggar på salix, men detta direkta försvar behöver undersökas mer i detalj i speciellt framtagna förädlingspopulationer.

Salix har också ett indirekt försvar,



SAMBA

HÖG OCH UTHÅLLIG BIOMASSAPRODUKTION FRÅN SALIX
INTEGRERING AV MOLEKYLÄRGENETIK, EKOFYSIOLOGI OCH VÄXTFÖRÄDLING



Projektet koordineras av Sara von Arnold (SLU) & Stig Larsson (Lantmännen). För de olika delprojekten ansvarar Christer Björkman (bladbaggar), Jan Stenlid (rost), Martin Weih (växtegenskaper), Ann Christin Rönnberg-Wästljung (genkartor) & Inger Åhman (test/applisering). Finansierare är Energimyndigheten, Sveriges lantbruksuniversitet & Lantmännen SW Seed.

en förmåga att locka till sig och behålla pilbladbaggens naturliga fiender, t.ex. allmänt näbbstinkfly (*Anthocoris nemorum*) och grönt ängstinkfly (*Orthotylus marginalis*) (figur 1d), som i sin tur äter upp pilbladbaggens ägg och larver. Dessa båda stinkflyn äter inte bara skadegörarnas ägg och larver utan kan även livnära sig på att suga växtsaft från salix. Eftersom plantorna inte tar någon större skada av detta, har vi testat vilka salixkloner stinkflyna föredrar och hur väl de klarar sig på plantorna när det inte finns något byte. Resultaten visar att de kloner som har ett starkt direkt försvar mot pilbladbaggen samtidigt lockar till sig stinkflyna och erbjuder dessa högkvalitativ växtsaft. De salixkloner som har ett svagt direkt försvar mot pilbladbaggen är däremot dåliga på att attrahera och föda stinkflyna. Tvärtemot de teorier som ofta framläggs verkar det alltså inte finnas något negativt samband mellan det direkta och det indirekta försvaret hos salix; snarare tvärtom – de kloner som har ett starkt direkt försvar har även ett starkt indirekt försvar. Detta positiva samband ger oss goda förutsättningar att ta fram kloner med ett starkt och allsidigt försvar mot växtätande insekter och att därmed förbättra odlingssäkerheten.

Planer för framtiden

Det långsiktiga målet med SAMBA-projektet är att ta fram genetiska markörer i intressanta områden av arvsmissan, vilka sedan kan användas för markörbaserat urval i växtförädlingen. För att nå detta mål arbetar vi med att kartlägga den genetiska bakgrunden till de egenskaper som vi vill förädla för. Därefter konstrueras genetiska markörer i dessa områden. Ett centralt mål för vår forskning är också att förstå hur generna uttrycks under olika miljöbetingelser – sådan kunskap är viktig dels med

tanke på de pågående klimatförändringarna, dels för att de nya marknaderna för salix finns i varmare områden.

Läs mer

- Berlin, S., Lagercrantz, U., von Arnold, S., Öst, T. & Rönnberg-Wästljung, A.C. 2010. High-density linkage mapping and evolution of paralogs and orthologs in *Salix* and *Populus*. *BMC Genomics* 11: 129.
- Bonosi, L., Ghelardini, L. & Weih, M. 2010. Growth responses of 15 *Salix* genotypes to temporary water stress are different from the responses to permanent water shortage. *Trees* 24: 843–854.
- Samils, B., Rönnberg-Wästljung, A.C. & Stenlid, J. QTL mapping of resistance to leaf rust in *Salix*. *Tree Genetics & Genomes*. Accepterad.
- Stenberg, J.A., Lehrman, A. & Björkman, C. 2010. Uncoupling direct and indirect plant defences: Novel opportunities for improving crop security in willow plantations. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 139: 528–533.
- Weih, M. 2009. Genetic and environmental variation in spring and autumn phenology of biomass willows (*Salix* spp.): Effects on shoot growth and nitrogen economy. *Tree Physiology* 29: 1479–1490.
- www.samba-webb.se

Författare

Christer Björkman (professor), Anna Lehrman (konsulent) & Johan A. Stenberg (forskarassistent). Inst. för ekologi, SLU, Box 7044, 750 07 Uppsala.

Berit Samils (forskare) & Jan Stenlid (professor). Inst. för skoglig mykologi & patologi, SLU, Box 7026, 750 07 Uppsala.

Sara von Arnold (professor), Sofia Berlin Kolm (forskarassistent), Luisa Ghelardini (postdoc) & Ann Christin Rönnberg-Wästljung (docent). Inst. för växtbiologi & skogsgenetik, SLU, Box 7080, 750 07 Uppsala.

Inger Åhman (universitetslektor). Område växtförädling och bioteknik, SLU, Box 101, 230 53 Alnarp.

Lorenzo Bonosi (postdoc), Nils-Erik Nordh (forskningsingenjör) & Martin Weih (professor). Inst. för växtproduktionsökologi, SLU, Box 7043, 750 07 Uppsala.

E-post: fornamn.effernamn@slu.se

Fakta Jordbruk – rön från Sveriges lantbruksuniversitet

Redaktör: David Stephansson, 018-67 14 92, David.Stephansson@adm.slu.se, SLU Informationsavdelningen, Box 7077, 750 07 Uppsala. **Ansvarig utgivare:** Kristina Glimelius, SLU, Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap, Box 7082, 750 07 Uppsala. **Webb:** www.slu.se/faktajordbruk/

Prenumeration: Ca 5–10 nummer kostnadsfritt per år. Skicka följande e-postbrev till majordomo@slu.se: subscribe faktajordbruk-slu

end (Obs! skriv i brevdelen, avsluta med "end" på ny rad)

ISSN: 1403-1744 © SLU

