

Resistensscreening av rotröta på gran. Projekt ID: 24-530

English summary

Planning is underway for the establishment of a screening center located at Skogforsk's field station in Sävar, Västerbotten. Initially, the center's activities will focus on root rot on spruce and pine blister rust. The resistance of spruce to root rot (*Heterobasidion* spp.) has been investigated in several studies and demonstrates the existence of genetic variation in how much the fungus grows in wood. There is currently an established test protocol for screening resistance to root rot on spruce developed by the Department of Forest Mycology and Plant Pathology, SLU Uppsala. The goal of the project was to carry out a large-scale root-rot screening of spruce material from the breeding program and to train Skogforsk staff in the screening technique established at SLU. The experimental material in the project was based on cloned full-sibling material (2480 propagated cuttings) from the central Swedish spruce population Gpop 13. Inoculation of fungal mycelium and assessment of rot infestation was carried out in the fall of 2025 at the Department of Forest Mycology and Plant Pathology, SLU Uppsala together with visiting staff from Skogforsk Sävar. In addition to root growth, measurement data on the vitality and size of the planting material were also recorded. The collected measurement data were processed using standard mixed-model methodology with the aim of estimating additive genetic variation and heritability. The additive variation was significant for both growth in inner bark and sapwood and calculated heritabilities varied between 0.11–0.18. The results also showed a relationship between root rot growth and the vitality and development of the planting material. The aim of carrying out a screening of root rot that could be used for the breeding program was achieved, with predicted breeding values directly implementable in operational breeding.

Svensk sammanfattning

Planering pågår för uppbyggnad av ett screeningcenter lokaliserat på Skogforsk fältstation i Sävar, Västerbotten. Initialt kommer verksamheten i centrat att fokusera på rotröta på gran och törskate på tall. Granens resistens mot rotticka (*Heterobasidion spp*) har undersökts i en mängd studier och belägger förekomsten av genetisk variation i motståndskraft mot röttillväxt av rotticka i ved. Det finns idag ett etablerat testprotokoll för screening av resistens mot rotticka på gran framtaget av Inst. f Skoglig Mykologi och Växtpatologi, SLU Uppsala. Målsättningen med projektet var att genomföra en storskalig rotrötescreening av granmaterial från förädlingsprogrammet och utbilda Skogforsk personal i screeningtekniken inarbetad på SLU. Försöksmaterialet i projektet byggde på klonat helsyskonmaterial (2480 uppförökade sticklingar) från den mellansvenska granpopulationen G13. Inokulering av svampmycel och avläsning av rötangrepp genomfördes hösten 2025 vid Inst. för skoglig Mykologi och Patologi, Uppsala tillsammans med tillrest personal från Skogforsk i Sävar. Utöver röttillväxt samlades det även in mätdata på plantmaterialets vitalitet och storlek. Insamlat mätdata bearbetades med gängse mixed-model metodik med målsättningen att skatta additiv genetisk variation och heritabilitet. Den additiva variationen var signifikant för både tillväxt i innerbark och splintved och beräknade heritabiliteter varierade mellan 0.11–0.18. Resultaten visade även på ett samband mellan röttillväxt och plantmaterialets vitalitet och storlek. Målsättningen att genomföra en för förädlingsprogrammet användbar screening av rotröta infriades, med predikterade avelsvärden direkt implementerbara i den operativa förädlingen.

Torgny Persson
Seniorforskare

Torgny.Persson@skogforsk.se
Box 3, 918 21 Sävar
+46 (18) 18 85 00, www.skogforsk.se

Bakgrund

Planering pågår för uppbyggnad av ett screeningcenter lokaliserat på Skogforsks fältstation i Sävar, Västerbotten (Hannerz m.fl. 2024). Syftet med centrat är att bygga upp kompetens och infrastruktur för resistensscreening av såväl dagens som framtida skadliga skogliga patogener. Medel har tillskjutits av både staten och skogsnäringen och byggstart planeras till hösten 2026. Initialt kommer verksamheten i centrat att fokusera på rotröta på gran och törskate på tall.

Granens motståndskraft mot rotticka (*Heterobasidion spp*) har undersökts i en mängd studier, både i fältförsök på naturligt infekterade granar och i plantskole-/labbmiljö vid inokulering av svampmycel. Undersökningarna tog fart på 1990-talet och huvuddelen av försöksmaterialet i studierna har bestått av fröplantor eller klonade sticklingar uppförade från halv- eller helsyskonmaterial (Stenlid och Swedjemark 1988, Swedjemark och Stenlid 1996, Swedjemark och Karlsson 2004a, 2004b, 2005, Karlsson och Swedjemark 2006, Arnerup et al. 2010, Skrøppa et al. 2015a, 2015b, Steffenrem et al. 2016, Chen et al. 2018, Capador-Barreto et al. 2021). Studierna belägger genomgående förekomsten av genetisk variation i motståndskraft mot röttillväxt av rotticka i ved, på nivåer som möjliggör urvalsarbete för ökad resistens.

Det finns idag ett etablerat testprotokoll för screening av resistens mot rotticka på gran framtaget av Inst. f Skoglig Mykologi och Växtpatologi, SLU Uppsala. Eftersom unga granar är relativt lätta att sticklingföra är kloning av uppodlat helsyskonmaterial en utmärkt teststrategi. En summering av resultat från rotrötestudier på förädlad svenskt granmaterial visar på behovet av kompletterande information av genetiska nyckeltal inför planeringen av framtida screeningprojekt.

Målsättningen med projektet var att genomföra en storskalig rotrötescreening av gransticklingar från förädlingspopulation G13 och samtidigt utbilda Skogforsk personal i screeningtekniken inarbetad på Inst. f Skoglig Mykologi och Växtpatologi.

Material och Metod

Försöksmaterialet i projektet byggde på klonat helsyskonmaterial från den mellansvenska förädlingspopulationen G13, sticklingföroökad 2023 på Skogforsk fältstation i Ekebo. Användningscentrum för skogsodlingsmaterial från granpopulation G13 är definierat till latitud 59,5°N, 100 möh. I sticklingföroökningen ingick ursprungligen 23 000 rotade sticklingar. Målsättningen var att för projektets räkning plocka ut 3000 sticklingar fördelade på 25 helsyskonfamiljer, 20 kloner/familj och 6–12 rameter per klon. Tyvärr reducerade en dålig odlingssäsong i Ekebo mängden tillgängligt försöksmaterial till 2480 sticklingar fördelade på 26 helsyskonfamiljer, 15.7 kloner/familj (sammanlagt 407 kloner) och i genomsnitt 6.1 rameter/klon. Det utvalda försöksmaterialet härstammade från 40 förälderträd med i genomsnitt 1.1 pollenfäder per korsad moder.

Själva arbetet med inokulering av svampmycel och avläsning av rötangrepp genomfördes vid Inst. för skoglig Mykologi och Patologi i Uppsala hösten 2025. Vid själva inokuleringen fixerades med Parafilm® en 5 mm bred vedplugg av gran infekterad med rotticka (*Heterobasidion parviporum*, isolat Rb175) på en med skalpell förberedd såryta på stammen (enligt gängse testprotokoll utarbetat av Stenlid och Swedjemark 1988). Arbetet utfördes under en sju veckors period med uppstart vecka 35 av personal på institutionen tillsammans med tillrest personal från Skogforsk i Sävar. Testerna genomfördes alltså under en relativt kort tid, men processen var arbetsintensiv och avslutades med registrering av tillväxten av rotticka från inokuleringspunkten på stammen ut i innerbarken (floemet) resp. underliggande splintved. Inför analysen sammanfördes den vertikala tillväxten, upp och ner från inokuleringspunkten, till ett för varje planta sammanlagt tillväxtmått.

De två egenskaper som analyserades var tillväxt av rotticka i innerbark resp. splintved. En plott av mätvärden för tillväxt i innerbark visade på en kraftigt skev fördelning, varför mätdata för egenskapen transformerades med den naturliga logaritmen (se Steffenrem et al. 2016). Efter att rensat bort en mindre mängd sticklingplantor där inokuleringen bedömdes ha misslyckats bearbetades försöksmaterialet med gängse mixed-model metodik i en gemensam bivariat analys i programpaket ASReml, med målsättningen att skatta additiv genetisk variation och arvbarheten för respektive mätegenskap samt den genetiska korrelationen dem emellan.

Följande modell utnyttjades:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u} + \mathbf{Z}_2\mathbf{f} + \mathbf{Z}_3\mathbf{c} + \mathbf{e},$$

där \mathbf{y} är en vektor med mätvärden för tillväxt i innerbark resp. splintved, \mathbf{b} representerar fixa effekter, \mathbf{u} representerar slumpmässiga additiva genetiska effekter av individuell genotyp, \mathbf{f} representerar slumpmässiga effekter av familj, \mathbf{c} representerar slumpmässiga effekter av klon inom familj, och avslutningsvis \mathbf{e} som representerar resterande slumpmässig residual variation. \mathbf{X} , \mathbf{Z}_1 , \mathbf{Z}_2 och \mathbf{Z}_3 är incidens matriser.

Syftet med modellvariablerna \mathbf{u} , \mathbf{f} och \mathbf{c} är att försöka skatta hur mycket av variationen inom respektive mätegenskap som kan kopplas till genetik, där \mathbf{u} fångar den additiva variationen (variationen i egenskaper som går i arv) medan \mathbf{f} och \mathbf{c} skattar resterande "icke additiv" genetiska variation i materialet (dominans och epistasi). Andelen additiv variation redovisas vanligtvis med den genetiska parametern heritabilitet (arvbarhet). Den icke additiva variationen går inte i arv utan går bara att koppla till en viss genotyp. För att kunna härleda icke additiva variation i ett klonat helsyskonmaterial krävs generellt att varje moderträd är korsad med ett stort antal fäder (resulterar i en stor mängd familjer), ett stort antal uppförökade kloner per familj samt en anpassad mängd producerade sticklingar per klon.

De fixa effekter som prövades i modellen var inokuleringsvecka, plantvitalitet (registrerad i fyra klasser, från 1=död till 4=levande och fullt vital), flushing (bruten knoppvila för adventivknoppar på stam och gren) samt kovariaterna planthöjd och stamdiameter vid inokuleringspunkt. Heritabilitet och additiv resp. miljömässig variationskoefficient för tillväxt under bark och splintved samt den additiva genetiska korrelationen dem emellan beräknades med hjälp av skattade varianskomponenter som $\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_u^2}{\hat{\sigma}_u^2 + \hat{\sigma}_f^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_e^2}$, $\hat{C}V_A = 100 \left(\sqrt{\hat{\sigma}_u^2 / \bar{x}} \right)$, $\hat{C}V_E = 100 \left(\sqrt{\hat{\sigma}_e^2 / \bar{x}} \right)$ resp. $r_A = \frac{\hat{\sigma}_{u_{12}}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{u_1}^2 \times \hat{\sigma}_{u_2}^2}}$, där $\hat{\sigma}_u^2$, $\hat{\sigma}_{u_{12}}$, $\hat{\sigma}_f^2$, $\hat{\sigma}_c^2$ och $\hat{\sigma}_e^2$ är skattade (co)varianskomponenter för modellerade effekter och \bar{x} representerar minsta kvadrat anpassat medelvärde (över inokuleringsvecka) för respektive egenskap.

Resultat och diskussion

Klonöverlevnaden under testperioden var generellt hög och majoriteten av klonerna uppvisade symptom på angrepp av rotticka efter inokulering, ett kvitto på att inokuleringen fungerade. Mätvärden för tillväxten av rotticka i innerbark och splintved varierade mellan 0–335 mm resp. 0–140 mm (med medelvärde 18.8 och 78.5 mm). Den kompletterande registreringen av plantans vitalitet, diameter vid inokuleringspunkt och planthöjd varierade mellan 2–4, 2–9 mm resp. 25–95 cm (med genomsnitt 3.9, 5.3 mm och 60.4 cm). Samtliga fixa effekter visade sig signifikanta, där diameter vid inokuleringspunkten hade högst förklaringsgrad, följt av vitalitet, planthöjd, testvecka och flushing i fallande ordning. Det verkar alltså finnas ett samband mellan röttillväxt och vitalitet/plantstorlek, vilket även redovisats i Chen et al. (2018) och Capador-Barreto et al. (2021). För stamdiameter var sambandet negativt både för röttillväxt i innerbark och splintved, med generellt kortare röttillväxt vid stigande diameter. Samma negativa samband upprepades mellan planthöjd och röttillväxt i innerbark. Däremot var sambandet mellan planthöjd och tillväxten i splintved positivt, med generellt längre röttillväxt vid stigande planthöjd, vilket överensstämmer med Chen et al. (2018) och Capador-Barreto et al. (2021).

Skattade varianskomponenter och beräknade genetiska parametrar redovisas i Tabell 1. Den additiva variationen ($\hat{\sigma}_u^2$) var signifikant för både tillväxt i innerbark och splintved och den genetiska korrelationen mellan egenskaperna skattades till 0.49 (± 0.20), vilket visar på en signifikant moderat additiv samvariation mellan egenskaperna. Den additiva variationen inom egenskap (inom och mellan familj) och samvariationen mellan egenskaperna illustreras i Figur 1, där avelsvärden för tillväxt i innerbark resp. splintved är plottade över familj.

Tabell 1. Redovisning av skattade varianskomponenter samt beräknad heritabilitet (\hat{h}^2) och additiv (\widehat{CV}_A) respektive miljömässig (\widehat{CV}_E) variationskoefficient för analyserade egenskaper (medelfel inom parentes).

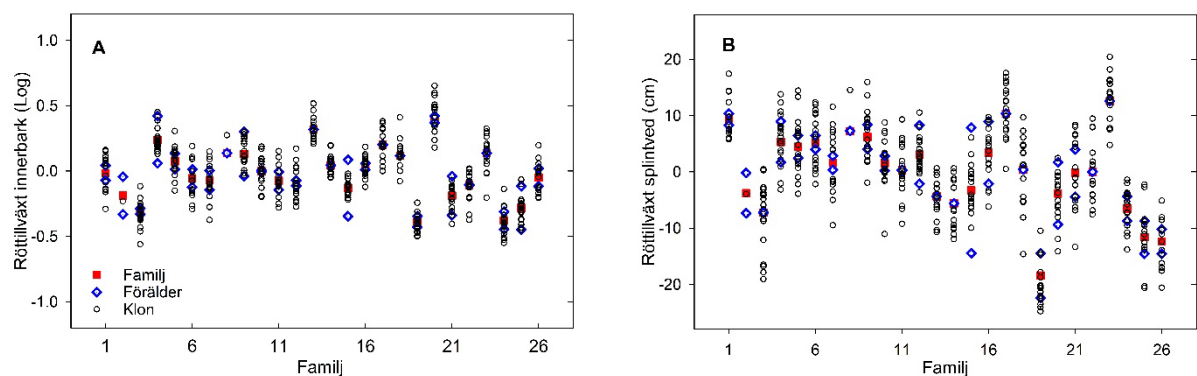
Egenskap	Varianskomponent				Genetisk parameter		
	$\hat{\sigma}_u^2$	$\hat{\sigma}_f^2$	$\hat{\sigma}_c^2$	$\hat{\sigma}_e^2$	\hat{h}^2	\widehat{CV}_A	\widehat{CV}_E
Tillväxt i innerbark	0.103 (0.04)	0 ^a	0.040 (0.03)	0.816 (0.03)	0.108 (0.04)	12.9 %	36.1 %
Tillväxt i splintved	132.97 (47.7)	0 ^a	32.06 (28.6)	587.86 (18.3)	0.177 (0.06)	14.6 %	30.7 %

^a En införd modellrestriktion, att endast tillåta positiva varianser, resulterade i att variansskattningarna för familj fixerades till mycket små positiva värden (bounded).

Eftersom flertalet moderträd endast var korsade med en fader fanns det inget utrymme att skatta någon ytterligare genetisk familjevariation (utöver den additiva variationen mellan familjer som uttrycktes av föräldrarna), vilket förklarar varför varianskomponenten för familj ($\hat{\sigma}_f^2$) gick mot noll (Tabell 1). Det är viktigt att förtydliga att den icke additiva effekten på familjenivå som trots allt troligtvis finns i materialet i stället fördelades mellan övriga skattade varianskomponenter och sannolikt har resulterat i en något förstörd (felaktig) additiv variation och arvbarhet.

Variationen mellan kloner inom familj ($\hat{\sigma}_c^2$) var svag och ej signifikant för både tillväxt i innerbark och splintved (Tabell 1). Även om målsättningen med modellvariablerna f och c är att skatta den icke additiva genetiska variationen i materialet, finns risken att $\hat{\sigma}_c^2$ även fångar variation orsakad av gemensamma miljöeffekter (C-effekter, Common environment) som kan uppstå för en grupp plantor (som sticklingar från samma klon, kloner av samma familj) under själva sticklingförökningen och efterföljande odling i plantskolan. Vad som förklarar variansskattningen för c i denna studie är oklart, men det viktiga i sammanhanget är att effekten tas med i modellen för att fånga variation som annars riskeras adderas till övriga varianskomponenter. Det kan vara värt att notera att inverkan av plantskoleffekter på klonat plantmaterial som regel klingar av efter ett tiotal år om det uppförökade materialet planteras ut i fältförsök.

Den additiva och miljömässiga variationskoefficienten varierade mellan 12.9–14.6 % resp. 30.7–36.1 %, där den additiva koefficienten var ungefär hälften så stor jämfört med Chen et al. (2018). Heritabiliteten beräknades till 0.108 och 0.177 för tillväxt under barken resp. splintved och var signifikant för båda mätegenskaperna. Redovisade heritabiliteter i Chen et al. (2018) och Capador-Barreto et al. (2021) var generellt högre, men även i dessa studier var arvbarhetsskattningarna för tillväxt i splintved högst.



Figur 1. Plott av skattade avelsvärden för röttillväxt i innerbark (A) och splintved (B), uppdelade på familj (■), förälder (◇) och enskild klon (○).

Sammanfattning

Målsättningen att genomföra en för förädlingsprogrammet användbar screening av rotröta infriades. Det svenska förändringsprogrammet av gran fokuserar i dagsläget huvudsakligen på den additiva/ärfvliga variationen realiserad via fröodlingar. Även om erhållna genetiska parameterskattningar generellt var lägre jämfört med tidigare studier visade resultaten på signifikant additiv variation, varför predikterade avelsvärden i röttillväxt är direkt implementerbara i den operativa förädlingen. Avslutningsvis så finns det behov av att rationalisera flera arbetsmoment när screeningprocessen skalas upp i planerat center.

Referenser

- Arnerup, J., Swedjemark, G., Elfstrand, M., Karlsson, B., Stenlid, J. 2010. Variation in growth of *Heterobasidion parviporum* in a full-sib family. *Scandinavian Journal of Forest Research* 25, 106–110.
- Capador-Barreto, D., Bernhardsson, C., Milesi, P., Vos, I., Lundén, K., Wu, H.X., Karlsson, B., Ingvarsson, P.K., Stenlid, J., Elfstrand, M. 2021. Killing two enemies with one stone? Genomics of resistance to two sympatric pathogens in Norway spruce. *Molecular Ecology* 30 (18), 4433-4447.
- Chen, Z-Q., Lundén, K., Karlsson, B., Vos, I., Olson, Å., Lundqvist, S-O., Stenlid, J., Wu, H.X., Garcia Gil, M.R., Elfstrand, M. 2018. Early selection for resistance to *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce is not likely to adversely affect growth and wood quality traits in late-age performance. *European Journal of Forest Research* 137, 517–525.
- Hannerz, M., Persson, T., Svennerstam, H., Stenlid, J. 2024. Friskare träd i framtidens skog. Skogforsk, Arbetsrapport 1192–2024.
- Karlsson, B., Swedjemark, G. 2006. Genotypic variation in natural infection frequency of *Heterobasidion* spp. in a *Picea abies* clone trial in southern Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research* 21, 108-114.
- Skrøppa, T., Solheim, H., Steffenrem, A. 2015a. Genetic variation, inheritance patterns and parent-offspring relationships after artificial inoculations with *Heterobasidion parviporum* and *Ceratocystis polonica* in Norway spruce seed orchards and progeny tests. *Silva Fennica* 49(1), article id 1191.
- Skrøppa, T., Solheim, H., Hietala, A. 2015b. Variation in phloem resistance of Norway spruce clones and families to *Heterobasidion parviporum* and *Ceratocystis polonica* and its relationship to phenology and growth traits. *Scandinavian Journal of Forest Research* 30, 103–111.
- Steffenrem, A., Solheim, H., Skrøppa, T. 2016. Genetic parameters for wood quality traits and resistance to the pathogens *Heterobasidion parviporum* and *Endoconidiophora polonica* in a Norway spruce breeding population. *European Journal of Forest Research* 135, 815-825.
- Stenlid, J. & Swedjemark, G. 1988. Differential growth of S- and P-isolates of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 90, 209–213.
- Swedjemark, G., Karlsson, B. 2004a. Genotypic variation in susceptibility following artificial *Heterobasidion annosum* inoculation of *Picea abies* clones in a 17-year-old field test. *Scandinavian Journal of Forest Research* 19, 103-111.
- Swedjemark, G., Karlsson, B. 2004b. Variation in incidence and genetic impact on natural infection of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* (L.) Karst. in genetic trials in south Sweden. *Forest Ecology and Management* 203, 135-145.
- Swedjemark, G., Karlsson, B. 2005. Röttålig gran, dröm som kan bli sann – på sikt. PLANTaktuellt nr 4, 2005.
- Swedjemark, G., Stenlid, J. 1996. Variation in spread of *Heterobasidion annosum* in clones of *Picea abies* grown at different vegetation phases under greenhouse conditions. *Scandinavian Journal of Forest Research* 11, 137-144.