

# FAKTA

## Skog

Sammanfattar aktuell forskning • Nr 4 2001

David Clapham • Inger Ekberg • Malin Elfstrand •  
Gunilla Swedjemark • Sara von Arnold

## Genvägen i skogen

– ny teknik ger värdefull kunskap om geners funktion

- Transgena granar är granar med på genteknisk väg införda gener. Dessa kan komma antingen från gran eller från andra arter.
- Aktiviteten hos gener som redan finns i gran kan förändras med genteknik. Genom att studera transgena granar kan vi öka kunskapen om enskilda geners funktion.
- Med genteknikens hjälp kan plantor med värdefulla gener identifieras redan vid ung ålder.



Foto: Mats Gerentz

**FIGUR 1.** *Transgena plantor av gran.*

Vid konventionell förädling av skogsträd korsas utvalda individer, och deras avkomma bedöms sedan för nya urval. Vi vill i detta nummer av Fakta skog beskriva en metod vi har för att framställa transgena barrträd, det vill säga barrträd med på konstgjord väg införda gener. Vi vill även beskriva hur dessa transgena träd kan användas för att öka effektiviteten och precisionen i förädlingsarbetet.

## Transgena träd i förädlingen

I dagens läge används transgena träd främst för att studera hur värdefulla egenskaper regleras hos träden. Först när vi har tillräckligt ingående kunskaper om detta kommer tekniken att kunna utnyttjas direkt i förädlingsarbetet. Målen med att förädla gran och tall är att förbättra trädens anpassning (exempelvis till klimatet), biomassaproduktion samt kvalitet på stam och ved. Var och en av dessa egenskaper regleras av ett stort antal olika gener som i varierande grad bidrar till egenskapen. Nu pågår ett omfattande forskningsarbete för att identifiera vilka gener som har störst betydelse för varje egenskap. Denna kunskap kan sedan utnyttjas i förädlingen för att välja ut plantor som innehåller dessa gener. Alternativt kan gentekniken utnyttjas för att direkt påverka uttrycket av viktiga gener.

I princip används två angreppssätt för att studera hur olika gener på-

verkar en egenskap. Dels kan man minska eller öka aktiviteten hos redan befintliga gener, dels kan gener som är helt nya för arten föras in. I båda fallen bildas transgena plantor.

När det gäller förändrad aktivitet hos redan befintliga gener skulle samma resultat kunna uppnås genom förädling via cykler av korsningar, tester och urval. För varje förädlingscykel sker en förbättring av odlingsmaterialens egenskaper. Problemet är att detta arbete är tidskrävande. Många cykler krävs och urvalet kan inte göras förrän efter tio år eller mer när det gäller barrträd. Om gentekniken kan utnyttjas för att förändra aktiviteten hos gener i barrträdsplantorna kan det långsiktiga förädlingsmålet uppnås med betydligt färre cykler.

Det angreppssätt som innebär att artfrämmande gener förs in i en planta är unikt för gentekniken, eftersom förädling där korsningar görs för att kombinera olika egenskaper inte kan göras mellan vitt skilda arter.

## Minska geners aktivitet

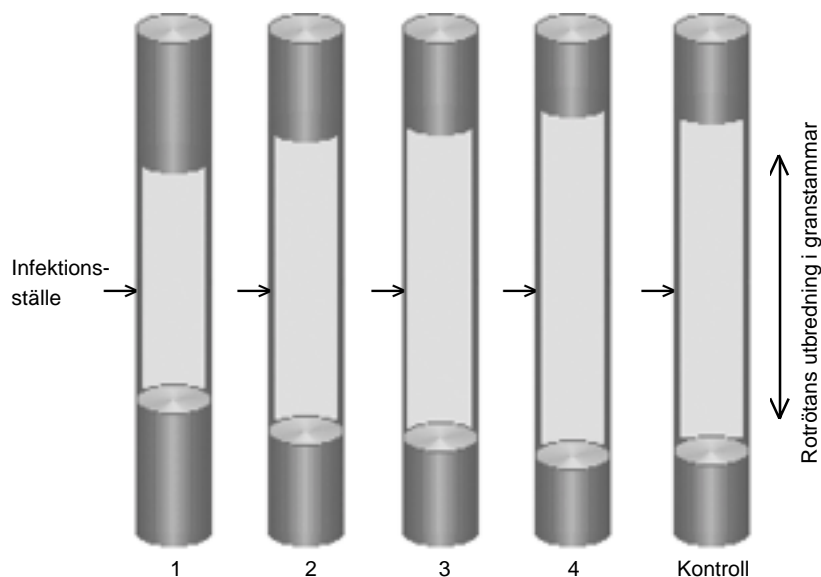
Växternas cellväggar är uppbyggda av cellulosa, hemicellulosa och lignin. Lignin är komplexa molekyler som består av olika delkomponenter och förhållandet mellan dessa bestämmer ligninets kemiska egenskaper. Omkring 25 procent av veden består av lignin. Ligninhalten och ligninets sammansättning varierar mellan arter och också inom varje

enskilt träd beroende på årstid och ålder. I USA har en forskargrupp funnit en naturlig mutant av tall som har en defekt ligninsyntesgen och därför ändrad ligninsammansättning. Vid framställning av pappersmassa är det mindre energikrävande att avlägsna ligninet från ved i dessa muterade tallar.

Intresset är stort för att på genteknisk väg efterlikna den muterade tallen. Detta skulle kunna åstadkommas genom att man minskar aktiviteten hos en eller flera av de gener som deltar i ligninsyntesen. I syfte att undersöka detta har vi inom ramen för ett EU-projekt isolerat och karakteriserat flera av de gener som reglerar uppbyggandet av lignin hos gran. Vi har fört in lignifieringsgenerna "bak-och-fram" i granplantor, vilket resulterar i att de befintliga generna stängs av. De plantor som vi har framställt ser helt normala ut (figur 1, framsidan). När plantorna har vuxit till och börjar bilda ved kommer vi att analysera ligninets sammansättning och egenskaper.

## Öka geners aktivitet

Den ekonomiska förlusten orsakad av rotröta på skogsträd i Sverige beräknas uppgå till mellan en halv och en miljard kronor per år. Om det vore möjligt att framställa granplantor med en förhöjd motståndskraft mot rotröta skulle produktionen öka och de ekonomiska förlusterna minska. Tidigare studier har



**FIGUR 2. Ettåriga granplantor som transformerats med en försvarsgen (linje 1–4) och kontrollplantor infekterades med rotrötessvampen *Heterobasidion annosum*. Försvarsgenen uttrycktes olika mycket i plantor från olika linjer, men starkast i linje 1. Efter en månad hade svampen spridit sig signifikant mindre i plantor från linje 1 än i plantor från övriga linjer (svampens spridning i linje 1 var 70 procent av spridningen i kontroll-linjen). Figur: Kjell Lämmerholm.**

visat att det finns en genetisk variation för mottaglighet för rotröta hos gran. Däremot har man inte funnit några helt resistenta grankloner.

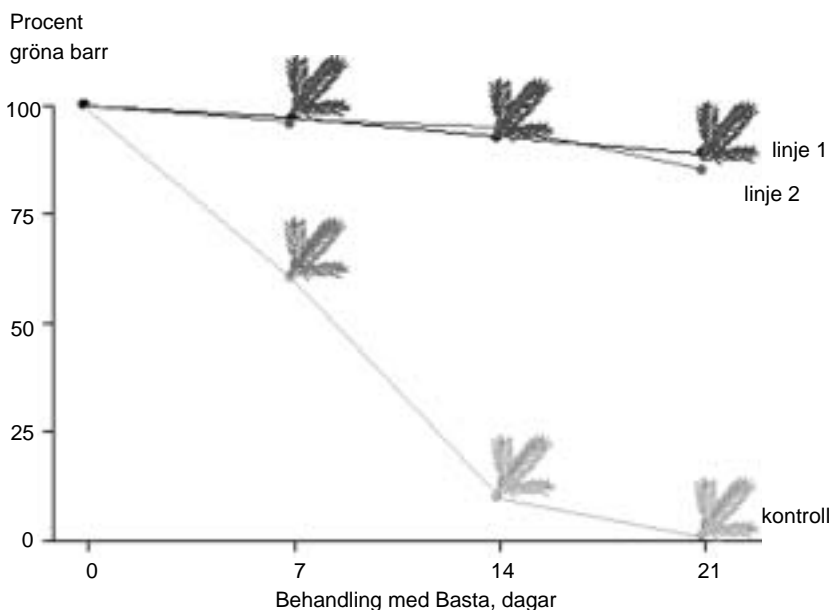
När granplantor angrips av sjukdomsframkallande svampar aktiveras ett antal försvarsgener. En av dessa gener reglerar bildandet av ett litet protein, ett defensin, som har antimikrobiella egenskaper. Vi ökade aktiviteten av denna gen i gran (figur 2) och lyckades på så sätt höja motståndskraften mot rotröta. Detta är första gången som det har visats att ökad aktivitet hos en redan befintlig barrträdsgen kan höja motståndskraften mot svampangrepp.

### Transgena granar framställs

Metoder för att framställa transgena träd har utvecklats vid flera laboratorier. Till en enskild cell kan man på teknisk väg överföra nya gener. Det kritiska steget är att kunna framställa plantor från just de celler som har transformerats, det vill säga erhållit den nya genen.

Om en kroppscell (somatisk cell), till exempel en cell från ett barr, stimuleras att börja dela sig bildas ett stort cellaggregat. Med speciell behandling kan cellerna i detta aggregat utvecklas till embryon. Aggregatet kallas embryogen kallus. Embryona som har utvecklats från somatiska celler kallas somatiska embryon. De mogna somatiska embryona gro och växer upp till plantor.

I den metod vi har utvecklat för att framställa transgena granar beskjuiter vi celler i en embryogen kallus med gener (figur 4, sista sidan). För att kunna separera de transformerade cellerna från de otransformerade för vi, utöver den eller de gener vi vill studera, även in en gen i cellerna som ger resistens mot herbiciden (ogräsmedlet) Basta. När de beskjutna cellerna behandlas med Basta kommer endast de celler som har genomgått en lyckad transformering, och fått resistensgenen, att överleva. För att undersöka om en införd gen fortsätter att fungera även när cellerna växer upp till plantor undersöker vi om plantornas barr är



**FIGUR 3. Barrn från kontrollplantor och plantor som transformerats med en resistensgen mot ett ogräsmedel (Basta) behandlades med detta ogräsmedel. Efter två veckor hade barrn från kontrollplantorna blivit bruna medan barrn från de transgena plantorna (linje 1 och 2) fortfarande var gröna. Graden av resistens varierade mellan plantor från olika transgena linjer men i samtliga fall var de transgena barrn signifikant mer resistenta än kontrollbarrn.**

**Figur: Kjell Lännerholm.**

resistenta mot Basta (se figur 3). Det är de och det visar att resistensgenen uttrycks normalt i plantorna.

### Teknik för kloning

Somatiska embryon kan vara användbara inom förädlingen även utan att deras arvs massa förändrats. Skillnaden mellan plantor som utvecklas från fröembryon respektive somatiska embryon är att de förra har en unik kombination av gener, medan de senare är genetiskt identiska med den planta från vilken de framställts. Plantor som utvecklas från somatiska embryon är därmed kloner av ursrungsplantan. För närvarande undersöker vi tillsammans med SkogForsk om somatiska embryon kan utnyttjas i förädlingsarbetet för att vegetativt föröka gran.

### Särskilt ansvar

Förädlingsmålen för genteknisk förädling är desamma som inom den traditionella förädlingen. Gentekniken har emellertid tillfört en ny dimension till förädlingen i och med att artfrämmande egenskaper kan föras in i träden. Detta lägger ett särskilt

ansvar på dem som utnyttjar denna kraftfulla teknik inom skogsträdsförädlingen.

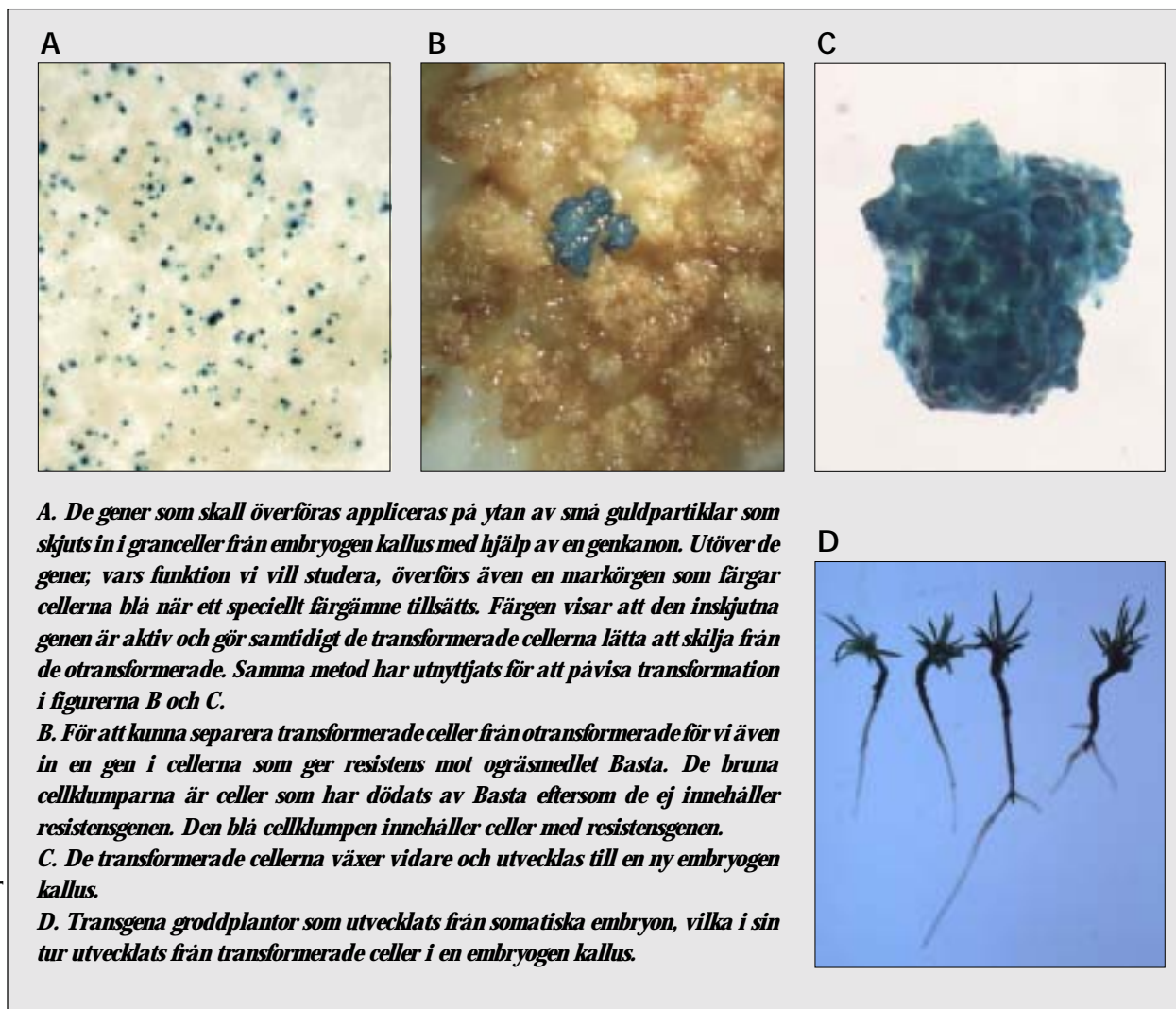
### Framtid för gentekniken

När det gäller barrträden tror vi att genteknikens främsta bidrag kommer att bli att öka vår kunskap om trädens genuppsättning och genernas funktion. Därmed kommer den på sikt att bli ett ovärderligt redskap i grundforskningen.

Men gentekniken kommer också att kunna användas för att uppnå specifika mål i förädlingsarbetet, till exempel för att minska trädets känslighet för rötsvamp. Vi vill dock framhålla att betydligt mer omfattande försök med träd i fält måste genomföras innan transgena träd kan användas för praktiskt bruk.

### Ämnesord

Genteknik, transgen, skogsträdsförädling, transformering, embryogen kallus, somatiskt embryo, genkanon, resistensgen.



**A.** De gener som skall överföras appliceras på ytan av små guldpartiklar som skjuts in i granceller från embryogen kallus med hjälp av en genkanon. Utöver de gener, vars funktion vi vill studera, överförs även en markör som färgar cellerna blå när ett speciellt färgämne tillsätts. Färgen visar att den inskjutna genen är aktiv och gör samtidigt de transformerade cellerna lätta att skilja från de otransformerade. Samma metod har utnyttjats för att påvisa transformation i figurerna B och C.

**B.** För att kunna separera transformerade celler från otransformerade för vi även in en gen i cellerna som ger resistens mot ogräsmedlet Basta. De bruna cellklumparna är celler som har dödats av Basta eftersom de ej innehåller resistensgenen. Den blå cellklumpen innehåller celler med resistensgenen.

**C.** De transformerade cellerna växer vidare och utvecklas till en ny embryogen kallus.

**D.** Transgena groddplantor som utvecklats från somatiska embryon, vilka i sin tur utvecklats från transformerade celler i en embryogen kallus.

FIGUR 4. Överföring av gener och framställning av transgena granplantor.

## Litteratur

Mo, H., Hannertz, M., von Arnold, S. och Högborg, K.A. 1995. Somatisk embryogenes – en ny metod att föröka barrträd. *Resultat 20*. SkogForsk.

SkogForsk 1995. Strategi för framtida skogsträdförädling och framställning av förädlatskogsodlingsmaterial i Sverige. Utredning utförd på uppdrag av Stiftelsen Skogsbrukets Forskningsinstitut.

Ralph, J., MacKey, J., Hatfield, R., Wetten, R., O'Malley, D. and Sederoff, R. 1997. *Science* 277, 235–239.

Clapham, D., Demel, P., Elfstrand, M., Koop, H-U., Sabala, I. and von Arnold, S. 2000. Gene transfer by particle bombardement to embryogenic cultures of *Picea abies* and the

production of transgenic plantlets. *Scand. J. For. Res.* 15, 151–160.

Elfstrand, M., Fossdal, C.-G., Swedjemark, G., Sitbon, F., Clapham, D., Olsson, O., Sharma, P., Lönnerborg, A. and von Arnold, S. 2001. Identification of candidate genes for utilisation in molecular breeding – A case study with the Norway spruce defensin-like gene. *Silvae Genetica* (in press).

Swedjemark, G., Stenlid, J. and Karlsson, B. 1998. Genetic variation among clones of *Picea abies* in resistance to growth of *Heterobasidion annosum*. *Silvae Genetica* 46(6), 369–374.

## Författare

David Clapham, Inger Ekberg, Malin Elfstrand och Sara von Arnold är

forskare vid institutionen för Skogsgenetik vid SLU i Uppsala. E-post och tel:

David.Clapham@sgen.slu.se,  
018-67 32 35

Inger.Ekberg@sgen.slu.se,  
018-67 27 21

Malin.Elfstrand@sgen.slu.se,  
018-67 32 32

Sara.von.Arnold@sgen.slu.se,  
018-67 32 30

Gunilla Swedjemark arbetar vid SkogForsk i Uppsala.

E-post och tel:

Gunilla.Swedjemark@skogforsk.se,  
018-18 85 00

Ansvarig utgivare:

Redaktör:

Internet:

Prenumeration och lösnnummer:

Prenumerationspris:

Tryck:

Göran Hallsby, SLU, institutionen för skogsskötsel, 901 83 UMEÅ

Susanna Olsson, SLU Informationsavdelningen, Box 7077, 750 07 UPPSALA

Telefon: 018-67 15 23 • Telefax: 018-67 35 20 • E-post: Susanna.Olsson@info.slu.se

www.slu.se/forskning/fakta.html

SLU Publikationstjänst, Box 7075, 750 07 UPPSALA

Telefon: 018-67 11 00 • Telefax: 018-67 35 00

E-post: Publikationstjanst@slu.se

320 kr + moms

SLU Reproenheten, Uppsala, 2001

ISSN 1400-7789 © SLU

