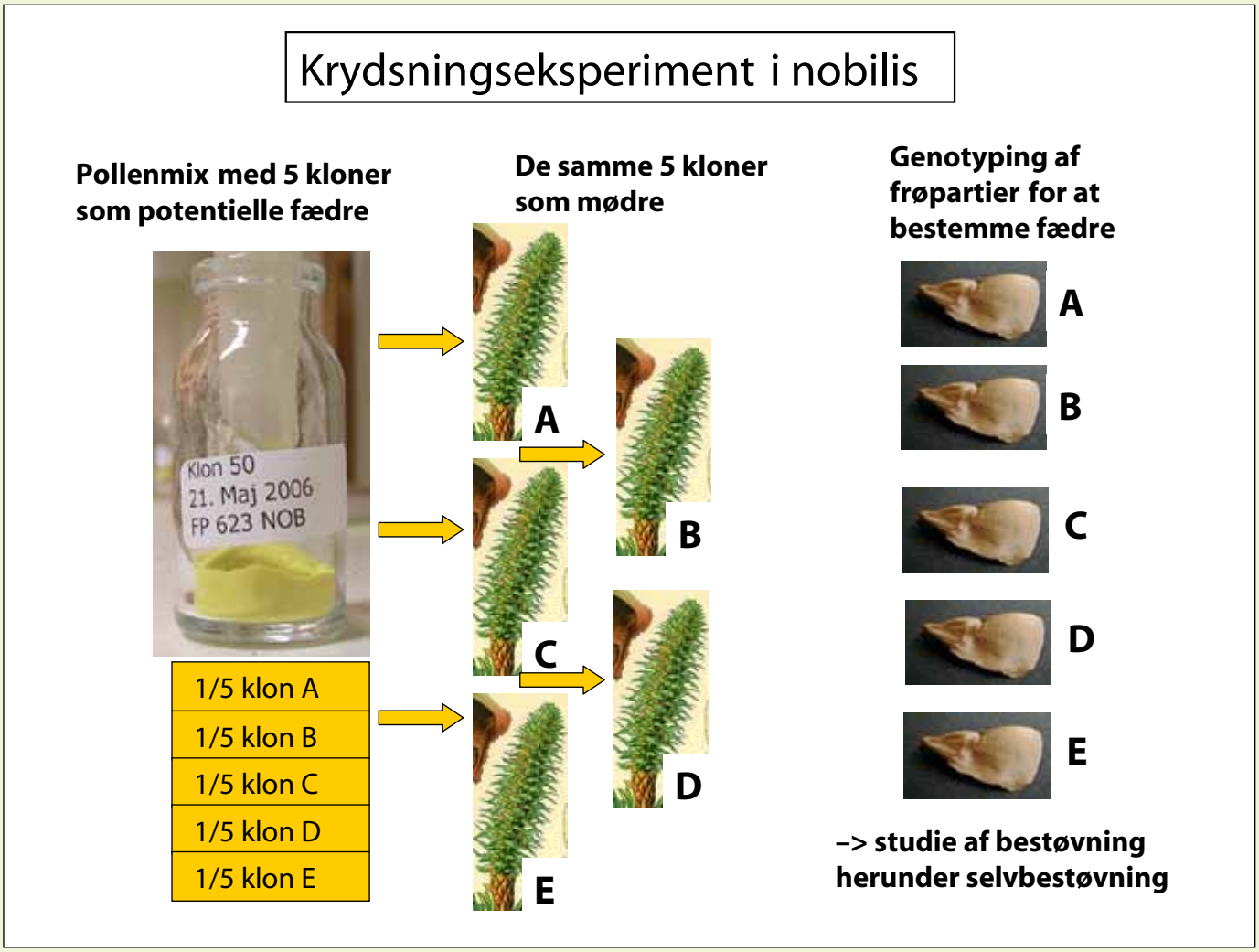
Bestøvningsforhold i udvalgte nobilis træer – betydning for nye frøplantager

Af Ole K. Hansen, Ulrik Bräuner Nielsen & Kristin Marie Lassen, Skov & Landskab, Københavns Universitet

Via krydsningsforsøg er bestøvningsforhold mellem plustræer fra forædlingspuljen i nobilis undersøgt. Undersøgelsen var svær at gennemføre på grund af lille genetisk variation i dansk nobilis. Det kunne dog konstateres, at der generelt er selektion imod selvbestøvning, som for nogle plustræer kan være stærk, men for andre synes mere moderat. Der er identificeret et enkelt tilfælde af præference for at bestøve nogle plustræer frem for nogle andre.

Oprindeligt design					
	Far				
Mor	A	B	C	D	E
A	X (S)	X	X	X	X
B	X	X (S)	X	X	X
C	X	X	X (S)	X	X
D	X	X	X	X (S)	X
E	X	X	X	X	X (S)

Figur 1. Illustration af det oprindelig planlagte krydsningsdesign. Fem plustræer bruges både som mødre og fædre. Bestøvningen sker på hver af de fem mødre med et pollenmiks, der indeholder pollen fra de selvsamme plustræer i lige store mængder. I hver af de fem forskellige krydsninger bruges det samme pollenmiks, mens det kun er identiteten af mødrene der varierer. I hver af de fem krydsninger er der således en der selvbestøver (X (S)) og fire der udkrydser (X).



Tabel 1. Resultater fra første krydsningsdesign, hvor 4 plustræer er anvendt som både mødre og fædre, sidstnævnte i pollenmikset. For hver potentiel far er vist antal afkom blandt de genotypede frø, samt procentdelen af disse ud af det samlede antal afkom. Endvidere er der for hver potentiel far vist den pågældende pollenvitalitet. Gul farve angiver at der er tale om afkom via selvbestøvning.

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N1	K9	5	6	55
	K36	35	44	77
	K50	24	30	92
Mor = K9	K56	0	0	31
	K36/K50	12	15	
	K36/K56	4	5	
	sum	80	100	

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N20	K9	8	11	55
	K36	28	39	77
Mor = K36	K50	28	39	92
	K56	0	0	31
	K50/K56	8	11	
	sum	72	100	

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N7	K9	12	15	55
	K36	42	53	77
Mor = K50	K50	23	29	92
	K56	2	3	31
	sum	79	100	

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N10	K9	9	11	55
	K36	35	44	77
Mor = K56	K50	34	43	92
	K56	1	1	31
	sum	79	100	

Konkret viden om udvalgte plustræer's bestøvningsforhold og deres indbyrdes samspil er værdifuld såfremt man ønsker at etablere elite-frøplantager baseret på meget få plustræer.

Baggrund

Det danske forædlingsprogram for nobilis er nået til et punkt, hvor højt forædlede frøkilder kan etableres. Med højt forædlede frøkilder menes frøplantager, som indeholder et lille antal plustræer, der opformeres (podes) mange gange. Podede frøplantager kaldes også klonfrøplantager. Ved kun at bruge de (få) allerbedste plustræer fås en større forædlingsgevinst. Hovedproblemet ved at lave en frøplantage med få plustræer er, at man ikke ved, i hvor høj grad plustræerne vil selvbestøve med deraf følgende risiko for indavlsproblemer. Den skadelige effekt af selvbestøvning (reduceret frøudbytte samt ringere vækst og overlevelse) er allerede påvist i udenlandske undersøgelser af nobilis (Nielsen et al. 1996) og ses tilsvarende i nordmannsgran (Nielsen & Hansen 2009; Nåledrys nr. 67). Samtidig ved man heller ikke, om nogle plustræer har svært ved at bestøve hinanden. I nordmannsgran er der således tidligere observeret tegn på, at nogle plustræer foretrækker at bestøve specifikke mødretræer frem for andre (Hansen 2007; Nåledrys nr. 60).

Projektet har søgt at belyse bestøvningsforholdene mellem udvalgte plustræer for derigennem at undersøge : 1) betydningen af selvbestøvning og 2) uens bestøvning mellem plustræer – for her ud fra at vurdere muligheden for etablering af effektive elite-frøplantager baseret på meget få plustræer med særligt gode egenskaber.

Forsøgsmaterialer

Klonfrøplantagen FP.623, der er nærmere beskrevet i Hansen & Cuenca (2008; Nåledrys nr. 64) indeholder 100 plustræer, der indgår i det danske forædlingsprogram for nobilis, og det blev derfor valgt at arbejde med materiale derfra.

Krydsningsdesign

Den oprindelige plan var at følge et krydsningsdesign som illustreret i figur 1. Princippet er, at fem plustræer bruges både som mødre og fædre. Bestøvningen sker på hver af de fem mødre med et pollenmiks, der indeholder pollen fra de selvsamme plustræer i lige store mængder. I hver af de fem forskellige krydsninger bruges altså det samme pollenmiks, mens det kun er identiteten af mødrene der varierer. I hver af de fem krydsninger er der således én der selvbestøver og fire der udkrydser. I disse kryds kunne man derfor på samme tid undersøge betydningen af selvbestøvning og om der er nogle plustræer, der bedre kan bestøve hinanden end andre. Imidlertid viste det sig, som tidligere beskrevet i Hansen & Cuenca (2008; Nåledrys nr. 64), at der var meget lille genetisk diversitet i FP.623 plustræerne. Vi var derfor nødt til at lave en modificeret krydsningsplan.

Det lykkedes kun at konstruere krydsningsdesign med henholdsvis 4 og 3 plustræer – dvs. det var ikke muligt at finde 5 plustræer, hvor vi kunne være sikre på at skelne mellem alle fædrenes afkom. De modificerede krydsningsdesign ses i figur 2, hvor princippet er det samme som det oprindelige. Forskellen er blot, at der er 4 eller 3 fædre i pollenmikset i stedet for 5. Som det ses, så indgår plustræ K9 i begge krydsningsdesign. Det skyldes, at plustræ K9 havde en så afvigende geno-

type, at den var let at adskille fra de fleste andre plustræer.

Pollenvitalitet

Alt pollen, der indgik i forsøget, blev vitalitets-testet for at sikre, at de forskelle vi så i bestøvningssucces ikke blot skyldtes, at nogle plustræer havde mere vitalt pollen end andre, men at forskellene enten skyldtes en selektion mod selvbestøvning, eller at nogle plustræer bedre kunne bestøve hinanden end andre. Prøver af pollen fra hver far blev således spiret i 48 timer, og andel spirende pollen blev opgjort i procent. Der blev lavet 3 gentagelser for hver far.

Identificering af fædre til frøene

Fædrene til frøene fra krydsningerne med pollenmikset, og dermed de enkelte plustræers bestøvningssucces, blev bestemt vha. DNA-markører. Genotypingen af plustræerne skete som beskrevet i Hansen & Cuenca (2008; Nåledrys nr. 64). Når man havde genotypen både for modertræet og de 3 eller 4 potentielle fædre (hvoraf én var identisk med modertræet) så kunne man ved simpel udelukkelse bestemme faren til hvert enkelt frø. Der var dog tilfælde, hvor den lille genetiske variation i nobilis-materialet betød, at man ikke entydigt kunne bestemme faren.

Resultater

Resultaterne for de to krydsningsserier gennemgås hver for sig.

Krydsningdesign med 4 plustræer

For krydsningsdesignet med 4 plustræer, var der i 2 ud af de 4 kryds problemer med at identificere faren til en del af afkommet. Det drejer sig om kryds N1 med plustræ K9 som mor og kryds N20 med K36 som mor (tabel 1). I N1 var der en del tilfælde, hvor det ikke kunne afgøres om faren var plustræ K36 eller K50, og for nogle spirede frø var der også problemer med, at afgøre om plustræ K36 eller K56 var faren. I N20 var det i 11% af afkommene ikke muligt, at sige om det var plustræ K50 eller K56 der havde bestøvet frøet. Sammenfattende kan man sige, at plustræ K56 klarede sig meget dårligt i alle krydsene – den havde også klart den dårligste pollenvitalitet (31% spirede pol-

Figur 2. Illustration af det modificerede krydsningsdesign. Der blev lavet to design. I det ene anvendtes 4 plustræer både som mødre og fædre, i det andet 3 plustræer. Bestøvningen sker på hver af de 3 eller 4 mødre med et pollenmiks, der indeholder pollen fra de selvsamme plustræer i lige store mængder. I hver af de 3 eller 4 forskellige krydsninger bruges det samme pollenmiks, mens det kun er identiteten af mødrene der varierer. I hver af de 3 eller 4 krydsninger er der således en der selvbestøver (X (S)) og 2 eller 3 der udkrydser (X).

	Far			
Mor	9	36	50	56
9	X (S)	X	X	X
36	X	X (S)	X	X
50	X	X	X (S)	X
56	X	X	X	X (S)

Sammensætning pollenmiks - 4-kryds

	Far 1	Far 2	Far 3	Far 4
	9	36	50	56

	Far		
Mor	9	40	97
9	X (S)	X	X
40	X	X (S)	X
97	X	X	X (S)

Sammensætning pollenmiks - 3-kryds

	Far 1	Far 2	Far 3
	9	40	97

Tabel 2. Resultater fra andet krydsningsdesign hvor 3 plustræer er anvendt som mødre og fædre, sidstnævnte i pollenmikset. For hver potentiel far er vist antal afkom blandt de genotypede frø, samt procentdelen af disse ud af det samlede antal afkom. Endvidere er der for hver potentiel far vist den pågældende pollenvitalitet. Gul farve angiver at der er tale om afkom via selvbestøvning.

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N6	K9	19	30	61
	K40	29	46	88
Mor = K9	K97	13	21	52
	K40/K97	2	3	
	sum	63	100	

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N17	K9	27	42	61
	K40	7	11	88
Mor = K40	K97	30	47	52
	sum	64	100	

Frøparti	Fædre	# afkom	afkom i %	Pollen vital. (%)
N15B	K9	29	45	61
	K40	31	48	88
Mor = K97	K97	4	6	52
	sum	64	100	

Tabel 3. Tabel der viser den relative selvbestøvningssucces for de enkelte plustræer i de to krydsningsserier. Se tekst for yderligere forklaring.

Kryds med 4 plustræer

Fædre	% afkom selv	Gns. øvrige kryds (%)	Relativ selvbestøvningssucces
K9	6	13	0,50
K36	39	50	0,77
K50	29	40	0,73
K56	1,3	1,7	0,75

Kryds med 3 plustræer

Fædre	% afkom selv	Gns. øvrige kryds (%)	Relativ selvbestøvningssucces
K9	30	44	0,69
K40	11	48	0,23
K97	6	35	0,18

lenkorn). Der ses ingen tegn på, at nogle fædre er bedre til at bestøve nogle mødre end andre. Dog optræder selvbestøvning sjældnere end udkrydsning for alle de 4 plustræer – dvs. der er en selektion der modvirker selvbestøvning. I tabel 3 er det forsøgt at kvantificere hyppigheden af selvbestøvning i forhold til den generelle bestøvningssucces, ved at dividere de enkelte plustræers bestøvningssucces når de også var modertræ (og hvor der derfor kunne opstå selvbestøvning) med deres gennemsnitlige bestøvningssucces i de kryds, hvor de ikke var modertræ. Dermed udregnes den relative selvbestøvningssucces. I de tilfælde, hvor der var tvivl om fædrene (eks. K50 el. K56 i kryds N20) er disse delt ligeligt på de to plustræer, der er tvivl om. I førnævnte tilfælde var der eksempelvis 8 individer, hvor det ikke kunne afgøres om K50 eller K56 var faren – der er begge plustræer tildelt faderskabet for 4 hver.

Af tabel 3 fremgår, at der er en klar, men dog ikke så stærk, selektion der modvirker selvbestøvning i det første krydsningsdesign (4 plustræer) – idet den relative selvbestøvningssucces er omkring 0,75 for tre af de fire plustræer. Plustræ K9 skiller sig lidt ud ved at have en relativ selvbestøvningssucces på 0,5.

Krydsningsdesign med 3 plustræer

Resultater for krydsningsdesignet med 3 plustræer ses i tabel 2. Her var der kun i ganske få tilfælde tvivl om faderskabet (2 afkom i kryds N6). Også på andre måder skiller denne krydsningsserie sig ud fra den første. Dels synes der er at være en slags vekselvirkning i bestøvningssuccesen, således at plustræ K97 har relativt stor succes når plustræ K40 optræder som mor (47 %, kryds N17 i tabel 2), mens den kun opnår 21-23% bestøvningssucces (inklusive eventuelle tvivlstilfælde) når plustræ K9 er mor. En anden forskel er, at der synes at være stor forskel på, hvor godt de tre plustræer tåler selvbestøvning. Plustræ K9 har en relativ selvbestøvningssucces på 0,69 i denne krydsningsserie, mens de to andre plustræer ligger på henholdsvis 0,23 og 0,18. Der er altså klare indikationer på, at de forskellige plustræer har forskellig evne til at tolerere selvbestøvning.

Konklusion

Krydsningsforsøgene er gennemført trods store vanskeligheder på grund af den manglende variabilitet i dansk nobilis i de markører, der har været til rådighed. Resultaterne viser, at der i nobilis er en selektion der modvirker selvbestøvning, som for nogle plustræer kan være stærk, men for andre synes mere moderat. Der er samtidig identificeret et enkelt tilfælde af præference for at bestøve nogle plustræer frem for andre.

I forsøgene er der selvfølgelig arbejdet med et begrænset antal plustræer, men hvis dette er et gennemgående mønster, så bør man nok ikke etablere klonfrøplantager, hvor kun 3-5 plustræer podes op, idet risikoen for problemer bestemt ikke er fraværende. Problemerne kan opstå i form af dårligt frøudbytte – dette gælder, hvis de anvendte plustræer har en lav relativ selvbestøvningssucces (kan ikke "tåle" selvbestøvning), således at afkom fra selvbestøvning bliver selekteret væk (i form af tomme frø – se Nielsen & Hansen (2009; Nåledrys nr. 67)). Omvendt, hvis de anvendte plustræer har høj relativ selvbestøvningsrate (kan bedre "tåle" selvbestøvning), vil mange selvbestøvede afkom "slippe igennem" til frøhøsten og senere til planteskoler og bevoksninger. Sidstnævnte afkom vil sandsynligvis lide af indavlsdepression ligesom nordmannsgran (Nielsen & Hansen 2009; Nåledrys nr. 67).

Endelig, selv om en frøplantageejer godt kan acceptere et lavt frøudbytte, og derfor vil nøjes med kun at bruge to super-plustræer som har lav relativ selvbestøvningssucces, ja så kan han risikere at netop disse to ikke bestøver hinanden særlig godt, og derfor vil få formindsket frøudbyttet yderligere, udover tabet pga. selvbestøvning.

Undersøgelsen har vist, at specifik viden om de konkrete plustræers bestøvningsforhold er værdifuld såfremt man ønsker at etablere elite-frøplantager baseret på få plustræer.

Herudover vil også forskelle i plustræernes pollen- og koglesætning samt i tidspunkt for pollenfrigivelse og koglemodtagelighed kunne have stor betydning.

Tak

Der skal lyde en stor tak til Foreningen Plan-Danmark som har støttet studiet økonomisk.

Også tak til Statsskovenes Planteavlsstation og HedeDanmark for at give os adgang til deres plantemateriale.

Litteratur

Hansen OK (2007) Hvor villigt hybridiserer almindelig ædelgran med nordmannsgran? Nåledrys nr. 60: side 4-7.

Hansen OK, Cuenca A (2008) Er dansk nobilis deprimeret? Nåledrys nr. 64: side 32-37.

Nielsen UB, Kjær E, Siegismund HR (1996) Selvbestøvning i nobilis – et særligt problem? Videnblade Pyntegrønt nr. 3.2-9.

Nielsen UB, Hansen OK (2009) Effekt af selvbestøvning i nordmannsgran. Nåledrys nr. 67: side 12-14.