

Etablering af feltforsøg i juletræsbevoksninger via DNA-markører

– hvilket plantemateriale klarer sig bedst på din mark?

Af Ole K. Hansen & Lea Vig McKinney, Skov & Landskab, KU

DNA-markører er efterhånden udviklet til at være et meget fintfølede værktøj til brug i forædlingsarbejdet i nordmannsgran. Her demonstrerer vi, hvordan de kan bruges til at

etablere feltforsøg i ganske almindelige juletræsbevoksninger, hvor plantematerialet stammer fra klonfrøplantager. Dette kan betyde en mere fleksibel måde at forædle på

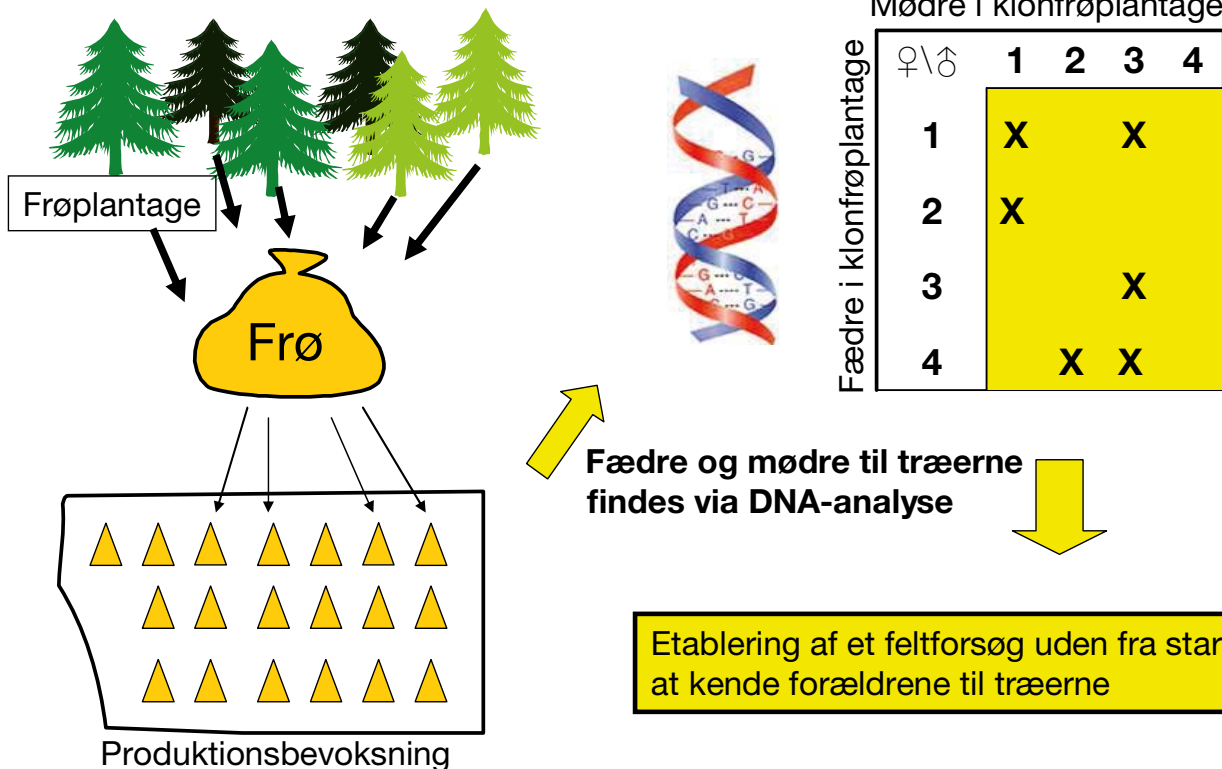
i fremtiden. Samtidig viste studiet, hvordan oprindelsen af plantematerialet kan bekræftes ved hjælp af markørerne.



Figur 1. Billederne viser det omstændelige arbejde ved traditionel anlæggelse af feltforsøg. Først høstes frø fra de udvalgte træer – man kender derfor modertræet. Frøpartierne holdes alle adskilte, og der skal i hele resten af forløbet holdes styr på hvilket frøparti de enkelte frøplanter stammer fra. Dette gælder ved såningen, ved planteoptagningen, ved sortering til de forskellige forsøg og endelig udplantning. Billederne viser anlæg af forsøg, hvor der holdes styr på hvert eneste træ i feltet – såkaldte enkelttræplots. Disse er de mest effektive, men også mest besværlige at anlægge. Fotos: Ulrik Bräuner Nielsen og Ole K. Hansen.

Princippet i ny metode til anlæggelse af feltforsøg

Produktionsbevoksning anlagt med et kommercielt frøparti fra en klonfrøplantage



Figur 2. Princippet i den nye måde at anlægge feltforsøg (kvasi-forsøg). Træerne i en juletræsbevoksning baseret på frø fra en klonfrøplantage analyseres via DNA-markører, og forældrene til de enkelte træer identificeres.

Feltforsøg – basis for forædlingsarbejde

Forædling består for det meste i at udvælge de bedste individer og lade dem producere afkom sammen. Dette afkom

kan så bruges i den primære produktion, eller afkommet kan igen krydses sammen i håbet om at skabe endnu bedre individer. De udvalgte individer bliver ofte testet gennem afprøvning af deres

afkom – i træer sker dette gennem feltforsøg. Grunden til, at der overhovedet laves feltforsøg er det gammelkendte skisma mellem arv og miljø. Ser man eksempelvis et ekstremt flot juletræ på sin



Figur 3. Kvasi-forsøget på Lundbygaard. Billedet til venstre viser bevoksningen sammen med godsforvalter Sune Norsker ved etableringen af firkanten i oktober 2006. Juletræsmærkerne på træerne i firkanten blev fjernet og der blev ikke taget nogen juletræer i firkanten før projektet var slut. Til højre ses bevoksningen i juni 2007 sammen med laborant Lena Byrgesen, der indsamlede nåleprøver til DNA-analyse. Juletræsvurderingen skete i efteråret 2007.

Tabel 1. Oversigt over de fem egenskaber som blev registreret i afkommet fra FP1100 på Lundbygaard. Arveligheden fortæller i hvor høj grad en egenskab styres af genetik – maksimum er 1,0 (100%). Næstsidste kolonne fortæller hvor mange kloner i FP1100 der kunne estimeres en pålidelig avlsværdi for på baggrund af forsøget. Sidste kolonne fortæller hvor stor en andel af forældreskabet klonerne med pålidelige avlsværdier udgjorde.

Egenskab	Arvelighed	Gennemsnit for egenskab	Enhed	# kloner med pålidelig avlsværdi	Forældreskab i %
Højde 6. vækstsæson	0,34	95	cm	39	76
Antal grene øverste grenkrans	0,58	6,0	Antal	57	90
Grenlængde	0,39	55	cm	42	79
Udspring	0,53	2,6	Score	55	89
Juletræskvalitet	0,10	6,5	Score	2	12

mark, ja så kan man ikke være sikker på, at det skyldes træets genetik alene. Det kan måske også skyldes, at træet står et særligt gunstigt sted. Feltforsøg er derfor altafgørende, når man forædler træer.

Træforædling er besværligt

Træforædling har den indlysende bagdel, at den tager lang tid. Både i forhold til hvornår man kan vurdere om et træ er godt eller dårligt, og i relation til hvornår træerne bliver kønsmodne. Derudover er det temmelig omstændeligt at etablere feltforsøg. Både hvis man høster frø på udvalgte såkaldte plustræer, hvor man så kun kender moderen (halvsøskendeforsøg – se figur 1), og i endnu højere grad hvis man udfører kontrollerede bestøvninger så man både kender moder- og fadertræet (fuldsøskendeforsøg). Blandt andet derfor findes der stort set ingen fuldsøskendeforsøg af juletræer i Danmark.

En ny metode til anlæggelse af feltforsøg

Med ønsket om at udvikle nye metoder til træforædling samt etablere de manglende fuldsøskendeforsøg med juletræer, er en ny fremgangsmåde blevet testet. Metoden er illustreret grafisk i figur 2. Princippet går ud på, via DNA-analyse, at identificere forældrene til juletræer i en almindelig produktionsbevoksning. Eneste krav til denne bevoksning er, at planterne er produceret med frø fra en klonfrøplantage, hvor klonerne er analyseret med de samme DNA-markører. Når forældrene til de enkelte træer i produktionsbevoksningen er identificeret, kan dette såkaldte kvasi-forsøg analyseres med statistiske metoder, der ligner dem man bruger til de traditionelt anlagte feltforsøg.

Afprøvning af frøplantagen FP1100 Bredal og tilhørende afkom

Den ny metode blev testet på en juletræsbevoksning på Lundbygaard gods etableret med afkom fra klonfrøplantagen FP1100 Bredal. Frøene til de i alt 40.000 planter blev høstet i 1998, og plantning skete som 2/1s i efteråret 2001 på 1x1 m. Billeder af bevoksningen ses i figur 3. Kvasi-forsøget blev udlagt i oktober 2006 ved at slå fire pæle i hvert hjørne af en firkant inde i bevoksningen. Firkanten indeholdt 16 rækker; hver med mellem 37 og 43 træer – i alt omkring 660 træer, hvorfra der blev indsamlet nåleprøver. Dernæst blev der indsamlet nåleprøver fra alle de potentielle forældre i klonfrøplantagen FP1100 Bredal. Denne er etableret i 1988 med 100 kloner, dvs.

100 plustræer er blevet podet op (gentaget) – her tre gange hver. Endelig blev der i 2007 registreret udspring, højde, antal grene i øverste grenkrans, grenlængde samt juletræskvalitet på alle 660 træer i firkanten på Lundbygaard.

Identifikation af forældre via DNA-analyse

Fra alle nåleprøver fra såvel potentielle forældre i FP1100 som afkommet på Lundbygaard blev der ekstraheret DNA, og individerne blev genotyperet med i alt 12 DNA markører. Genotyperne blev dernæst anvendt til en forældreanalyse for de 660 afkom. Tidligere er der i Nåledrys beskrevet, hvordan der blev undersøgt bestøvningsforhold i frøplantage (Nåledrys nr. 56 og nr. 64) ved at finde fædrene til frøet (faderskabsanalyse). I



Norcar-BSB
Finsk producent af maskiner i over 40 år



PRODUKTER

- Rotorklippere
- Slagleklippere
- Plantagefræsere
- Salt, grus- og gødningssprede
- Stenedlægger
- Hegns- og hækklippere
- Multisprøjte
- Powersprøjte



Hegn-Hæk-Rabat Klippere



Vaza Sprøjter



Slagleklippere

www.vaza.dk

Norcar 755



Norcar a60



Norcar 765



Norcar Minilæssere baseres på 3 grundmodeller.
"Du som kunde opstiller dine krav og ønsker ud fra grundbase modellen."

Norcar har et stort tilbehørsprogram.
"Du som kunde kan opstille dine krav og ønsker vedr. specielt tilbehør".

Norcar Minilæssere leveres i 2 farver Gul/Grå eller Rød/Grå.
"Du som kunde kan bestemme jeres Farve valg efter ønske".

Ring for nærmere info – eller en uforpligtet demonstration hos jer.



Norcar DK AS

Ellehammervej 10, Postboks 12 • 9900 Frederikshavn
www.norcar.com • Tlf. 9621 9020

Skovningssæt

Dansk Skovkontor

Danmarks største udvalg af godkendt, påkrævet
beklædning til motorsavsbrug.

Sætpris fra 995,- kr
(model standard gummistøvler, overall og hjelmsæt)
til 3500,- kr (goretex airstream læderstøvler og
stretch-air kevlar extreme bukser, hjelmsæt efter ønske).
Priser excl. moms. Lagerføres i størrelse
46-58/41-47, nogle læderstøvler str. 37-50

Dansk Skovkontor A/S . Tlf. 57 83 01 10 . www.dansk-skovkontor.dk

nærværende studie identificerede vi forældrepar, idet metoden ikke kan afgøre hvilket af de to forældretræer der har optrådt som mor (frøtræet) og hvilket som far (bestøveren).

Statistiske analyser af udvalgte juletræsegenskaber

Når man har identificeret forældrene til træerne i en bevoksning kan man analysere dem på næsten samme måde som

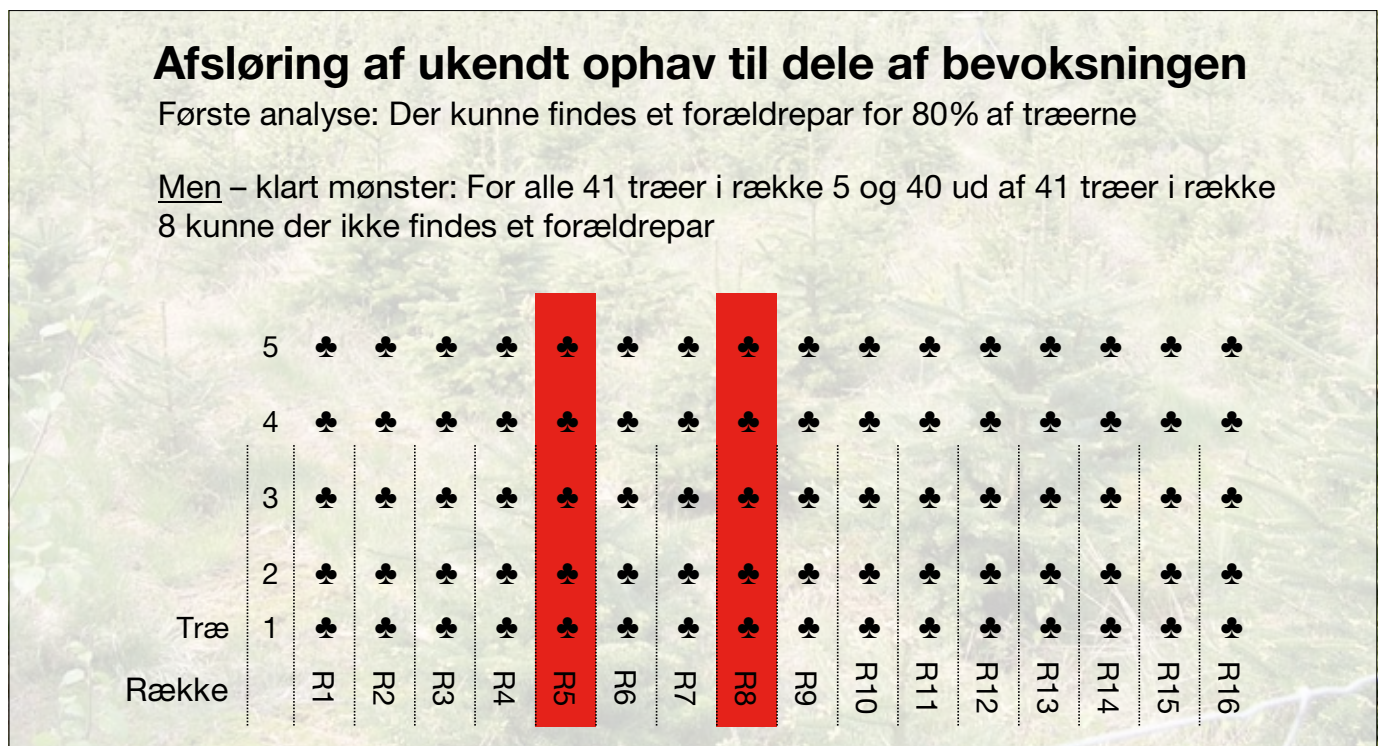
hvis de stod i et anlagt forsøg. Det betyder, at man kan vurdere forældrenes formåen på baggrund af afkommet – det benævnes forældrenes avlsværdier. I samme analyse kan man også beregne arveligheden (heritabiliteten), dvs. hvor meget betyder genetikken i forhold til miljøet for de målte egenskaber. Jo flere afkom der måles fra et givent forældertræ, jo bedre kan man beregne forældertræets avlsværdi. Her adskiller den nye metode sig fra traditionelle anlagte forsøg, idet vi

ikke har nogen kontrol over hvor mange gange klonerne i en frøplantage optræder som forældre i produktionsbevoksninger. Nogle kloner kan f.eks. have haft ringe koglesætning og/eller ingen eller lille pollenproduktion. Hvis en klon har meget få afkom, kan det betyde, at der ikke kan estimeres avlsværdier for denne. Hvor mange afkom der kræves for at estimere avlsværdier for en egenskab afhænger af arveligheden for selvsamme egenskab. Er arveligheden høj, som for eksempel i egenskaben udspring (genetik spiller en stor rolle) kræves der forholdsvis få afkom; omvendt hvis den er lille.

Resultater

Identifikation af forældre

I den første forældreanalyse blev der fundet et forældrepar for 80 % af de 651 træer på Lundbygaard, hvor der var succesfuld DNA-ekstraktion. Umiddelbart lød det jo meget godt, men nærstuderede man resultaterne var der et meget klart mønster – det var især i række nr. 5 og 8 at træerne uden forældrepar befandt sig (figur 4). Faktisk kunne der kun tildeles et forældrepar til ét enkelt træ ud af de i alt 82 træer i de to rækker. Vi konkluderede derfor, at træerne i de to rækker *ikke* stammede fra FP1100, men



Figur 4. Tegningen illustrerer et udsnit af kvasi-forsøget på Lundbygaard med de i alt 660 træer. Firkanten indeholdt 16 rækker med 37 til 43 juletræer i hver. DNA-analysen afslørede, at to af rækkerne (række 5 og 8) ikke kunne være afkom fra FP1100 som resten af bevoksningen.

måtte være fra en anden frøkilde. Dette er teknisk muligt idet bevoksningen er maskinplantet, hvor to personer har sidet med hver deres sæk og fyldt planter i maskinen. En af personerne har så haft en sæk med planter fra en anden frøkilde end FP1100. Træerne i række 5 og 8 blev taget ud af datasættet og en ny forældreanalyse kunne tildele et forældrepar til 522 ud af 569 tilbageværende træer i firkanten, hvilket svarer til 92 % af træerne. De resterende 8 % kunne bl.a. være afkom fra frø der var blevet bestøvet af træer udenfor klonfrøplantagen; fremmedbestøvningen blev beregnet til ca. 3 %. Det kunne også skyldes at DNA-markørerne bare ikke kunne identificere forældrene. Fordelingen af forældreskab var meget skæv. Den mest succesrige klon var forældre i ca. 7 % af tilfældene, mens den efterfølgende klon havde en andel på 4,8 % af forældreskabet. Skulle alle de 100 kloner have bidraget ligeligt med frø og pollen skulle dette tal jo være 1 %. Otte af de 100 kloner i FP100 havde slet ikke noget afkom på Lundbygaard.

Avlsværdier for klonerne i FP1100

Statistisk analyse af de fem målte egenskaber på afkommet på Lundbygaard, hvor resultatet fra forældreanalysen blev anvendt som 'forsøgsdesign', afslørede en statistisk sikker effekt af forældreskab (og dermed genetik) for de 4 af de 5 egenskaber. Vurderingen af juletræskvaliteten var lige netop ikke signifikant på 5 procent-niveau (p-værdien var 6%), mens de øvrige var stærkt signifikante. Den stærke effekt af forældreskab i f.eks. udspring afspejler sig også i arveligheden (heritabiliteten). At juletræskvaliteten har svagere arvelighed er velkendt fra traditionelle feltforsøg – simpelthen fordi der er mange (miljømæssige) faktorer, der kan influere på om et træ vurderes til at være et godt juletræ. Effektiv forædling for egenskaben juletræskvalitet kræver derfor større forsøg end det forholdsvis lille antal DNA-analyserede træer på Lundbygaard.

Overraskende sås stærk arvelighed for antallet af grene i øverste grenkrans – hele

0,58 (tabel 1 – kolonne 2). Det betyder at genetikken kan forklare 58 % af variationen i denne egenskab blandt afkommet. Antallet af kloner for hvilke der kunne estimeres pålidelige avlsværdier varierede alt efter egenskaben – idet dette antal som tidligere nævnt hænger nøje sammen med arveligheden. Således kunne der beregnes pålidelige avlsværdier for 57 af de potentielle 100 kloner i FP1100 for egenskaben "antal grene i øverste grenkrans" (tabel 1 – kolonne 5). Omvendt kunne der kun gives pålidelige avlsværdier for 2 kloner for egenskaben "Juletræskvalitet". Nogle vil måske synes at det er utilfredsstillende kun at få avlsværdier for en delmængde af frøplantagens kloner. Omvendt repræsenterer de f.eks. 55 kloner hvor der kunne estimeres avlsværdier for udspring 89 % af forældreskabet i frøet fra FP1100 (tabel 1 – sidste kolonne). Det betyder, at dette forholdsvis lille forsøg, for de fleste målte egenskaber, i høj grad viser, hvad outputtet er fra frøplantagen, og hvordan klonerne, der leverer dette output, ligger i forhold til hinanden.

Ekspertise og tæt samarbejde

– vi garanterer den genetiske og tekniske kvalitet hver gang

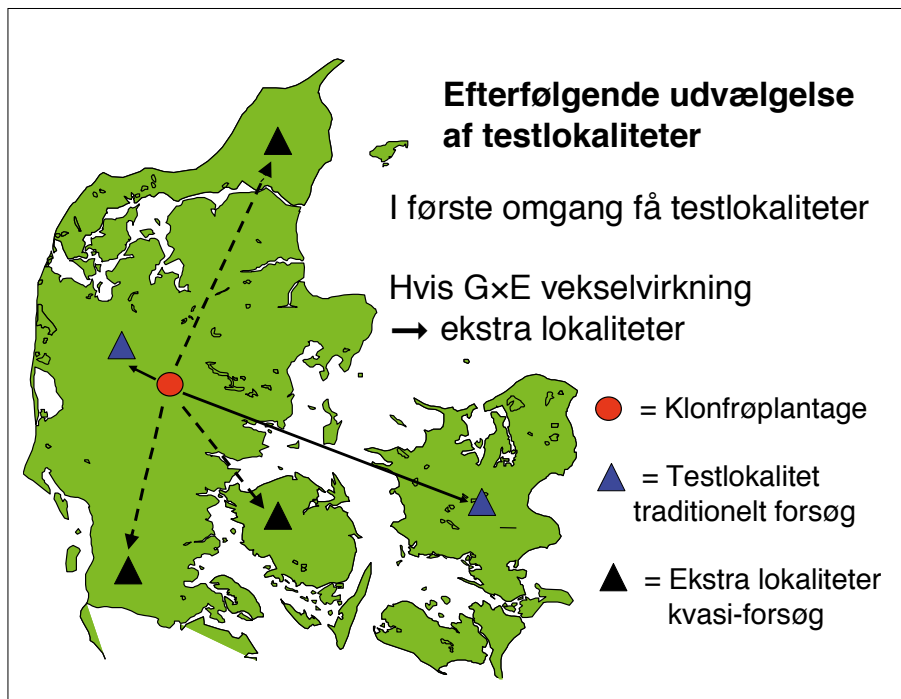


JOHANSENS PLANTESKOLE

Damhusvej 103, 7080 Børkop, Tlf. 75 86 62 22, Mobil 40 40 70 48
plj@johansens-planteskole.dk, www.johansens-planteskole.dk

SUSÅ PLANTESKOLE

Villa Gallinavej 10, 4690 Haslev, Tlf. 56 32 60 52, Mobil 20 14 60 52
jho@susaaplanteskole.dk



Figur 5. Figuren illustrerer hvordan yderligere forsøg (kvasi-forsøg – sorte trekant) kan anlægges på nye udvalgte lokaliteter efter at traditionelle feltforsøg (blå trekant) har afsløret vekselvirkning mellem lokaliteter.

Perspektiver for juletræsforædlingen

Den ny metode med anlæggelsen af kvasi-forsøg åbner nye muligheder for forædlingsarbejde. Først og fremmest kan forædlingsarbejdet blive mere fleksibelt, idet man ikke nødvendigvis behøver at anlægge forsøgene mange år før man skal bruge dem. Med kvasi-forsøg kan man i princippet indsamle nåleprøver og måle

træet samtidig. Man slipper dermed for det lange tidsrum og besværlige arbejde med at holde styr på afkommets identitet, etc. gennem hele perioden. Samtidig risikerer man ikke at anlægge forsøg som går til eller af anden grund aldrig bliver målt. Yderligere en fordel er, at man kan udvælge forsøgslokaliteter løbende. Man kan eksempelvis forestille sig at der anlægges en frøplantage og få (2-3) tilhø-

rende traditionelle feltforsøg. Viser disse feltforsøg stærk vekselvirkning mellem lokaliteter, dvs. det er forskellige kloner som præsterer bedst på de forskellige lokaliteter, ja så er det oplagt at anlægge flere feltforsøg – men nu med den nye metode hvor kvasi-forsøgene straks kan anlægges og måles. Eneste betingelse er at der findes bevoksninger fra frøplantagen. Princippet er illustreret i figur 5. I fremtiden, når teknikken forhåbentlig er blevet nemmere og billigere at bruge, kunne man jo faktisk forestille sig at en (stor)producent fik anlagt kvasi-forsøg i sine bevoksninger. Metoden kunne da identificere de kloner som giver de bedste juletræer på producentens lokalitet, og der kunne høstes specifikt på disse kloner i frøplantagen næste gang der skal plantes.

Tak

Vi takker Sune Graae Norsker, godsforvalter på Lundbygaard, for at lade os bruge hans juletræsbevoksning og Jens Stevn og Ivan Damgård for adgang til FP1100 frøplantagen. Argelia Cuenca Navarro var så venlig at hjælpe med at samle nåleprøver i frøplantagen. Tak til laborant Lena Byrgesen for at udføre de hundredvis af DNA-ekstraktioner og Hans Kristian Kromann for målinger i juletræerne på Lundbygaard. Ulrik Bräuner Nielsen, Jon Kehlet Hansen og Erik Kjær, kolleger på Skov & Landskab, anerkendes for deres kommentarer og diskussioner i forbindelse med arbejdet. Projektet var finansieret af Forskningsrådet for Teknologi og Produktion via et post. doc stipendium til Ole K. Hansen.

Kilder

- Hansen O.K. 2006.** DNA-markører anvendt til undersøgelse af nordmannsgran frøplantage. Nåledrys nr. 56 – s. 5-8.
- Hansen O.K. og Cuenca A. 2008.** Er dansk nobilis deprimeret? Nåledrys nr. 64 – s. 32-37.
- Hansen O.K. og McKinney.** Establishment of a quasi-field trial in Abies nordmanniana – test of a new approach to forest tree breeding. Tree Genetics & Genomes. In press.



Nordmannsgran planter

Fra Ambrolauri, Tlugi afdeling 28

Vi har den bedste start til din nye juletræskultur.

Få et **SUPER TILBUD** på dine planter til den kommende sæson.

Ring eller skriv til planteskolen ved Lindenberg Skovselskab A/S:

Kim Steen 20 60 86 76 e-mail ks@lindenberg.dk

Lindenberg skovselskab A/S er en del af Lindenberg Gods

