

Genetik

Hvor villigt hybridiserer almindelig ædelgran med nordmannsgran?

Af Ole K. Hansen, Skov & Landskab, Københavns Universitet

Det har længe været kendt blandt skov- og juletræsdyrkere, at almindelig ædelgran (*Abies alba*) og nordmannsgran (*Abies nordmanniana*) kan krydse og derved skabe artshybrider. Hybriderne mellem de to arter er normalt uønskede i juletræskulturer, idet de giver for åbne juletræer samt andre skavanker. Her beskrives et eksperiment hvor det blev undersøgt hvor villigt almindelig ædelgran rent faktisk bestøver nordmannsgran.

Hybridproblematikken

Baseret på erfaringer fra morfologiske observationer har det længe været anerkendt, at nordmannsgran og alm. ædelgran krydsbestøver (eks. Jacobsen 1988). Eksperimenter med kontrollerede krydsninger mellem de to arter har underbygget dette (Kormutak 1997).

Hybrider mellem nordmannsgran og alm. ædelgran udviser ofte en krydsningsfro-

dighed (heterosis), hvor hybridene vokser hurtigere end begge de rene arter – noget man også kender fra krydsningen mellem europæisk og japansk lærk. Dette kan meget vel føre til for åbne træer med for stor afstand mellem grenkransene. Hybriderne udviser også andre uønskede karakteristika, for eksempel større modtagelighed mod lus (Jacobsen 1988), dårligere efter-høst kvalitet samt tidligere udspring (Nielsen & Chastagner 2005).

Man har dog aldrig undersøgt i hvor høj grad de to arter rent faktisk krydser. Man kunne jo forestille sig at nordmannsgran 'foretrak' pollen fra nordmannsgran i stedet for fra alm. ædelgran, hvis pollen fra begge arter er til stede. Denne selektive bestøvning og/eller befrugtning kunne forekomme pga. artsspecifikke barrierer. Eksempelvis kunne det tænkes, at pollen fra alm. ædelgran ikke passer så godt ind i hunblomstanlæggenes på nordmannsgran. Eller at frøanlæg der bliver bestøvet med pollen fra en anden art ikke

udvikler sig lige så godt eller lige så ofte som hvis pollen kommer fra samme art.

Almindelig ædelgran og nordmannsgran findes ikke naturligt i samme geografiske område. Ædelgranens naturlige udbredelsesområde er således i Centraleuropa, mens nordmannsgran findes naturligt i bjergegne på den østlige side af Sortehavet. Problemet med hybrider i frøhøsten er altså udelukkende aktuelt for danske frøavlsbevoksninger eller klonfrøplantager. Hvor stort et problem er aldrig forsøgt kvantificeret.

Som en præventiv foranstaltning kræver man fra officiel side, dvs. kåringsudvalget, at danske frøkilder af nordmannsgran i skov skal være mindst 50 meter fra bevoksninger af alm. ædelgran, og det anbefales at der er mindst 500 meters afstand ved anlæg af klonfrøplantager. Denne afstand er dog helt arbitrær, og bygger ikke på videnskabelige undersøgelser af hvor langt pollen rent faktisk kan flyttes.

Figur 1. Forskellige facetter af arbejdet med at udføre kontrollerede krydsninger.

- Nordmannsgran kogleanlæg i april – knoppen er så småt ved at svulme og det er nu der skal isoleres.
- Isoleringspose med kogler set gennem "vinduet", lige før bestøvning i starten af maj.
- Modne hanblomster hvorfra der høstes pollen.
- Pollensprøjte monteret med pollenglas og ballon.
- Udførelse af kontrollerede krydsninger kræver en vis behændighed. Fotos: Ulrik Bräuner Nielsen.



Eksperimentet

Hovedsigtet med undersøgelsen var at studere hvor villigt pollen fra alm. ædelgran bestøver nordmannsgran under forhold der efterligner dem som findes ude i de danske frøkilder. Overordnet vil det sige en situation, hvor der er pollen tilstede fra begge arter, og hvor de derfor skal konkurrere om at bestøve de hunlige kogleanlæg og derfra udvikle spiredygtige frø.

Kontrollerede krydsninger

Måden dette blev gjort på var via kontrollerede krydsninger med et pollenmik. Kontrollerede krydsninger laves ved at isolere kogleanlæggene med specielle poser inden de bliver modtagelige for pollen. Når så blomsterne bliver modtagelige inde i poserne, i Danmark som regel i starten af maj, bestøves de kunstigt med pollensprøjte (figur 1).

Pollenmik

Man må normalt forvente at der vil være en relativ stor overvægt af nordmannsgranpollen i en dansk frøkilde. Rent forsøgsteknisk ville dette dog være svært at efterligne, da det ville kræve en meget stor stikprøve, hvis andelen af ædelgranpollen var relativt lille. Eksperimentet blev derfor sat op således, at der var lige meget pollen tilstede fra de to arter. Rent praktisk skete det ved, at de isolerede kogleanlæg blev bestøvet med et pollenmik, der bestod af halvt pollen fra alm. ædelgran og halvt nordmannsgranpollen. Førstnævnte halvdel havde kun pollen fra et enkelt ædelgranindivid mens sidstnævnte halvdel bestod af pollen fra tre forskellige nordmannsgranindivider. Der blev benyttet tre forskellige nordmannsgranindivider som mødre (C26, C91 og C94), mens det var tre andre nordmannsgranindivider der indgik i pollenmikset (C19, C46 og C81 – tabel 1 og figur 3). Alle disse individer findes i frøavlsbevoksningerne F.526 og F.527 i Tversted. De kontrollerede krydsninger blev foretaget i klonfrøplantagen FP.259 i Silkeborg Nordskov, hvor disse individer er podet op. Ædelgranen der indgik i pollenmikset står i Arboretet i Hørsholm.

Pollenmikset blev fremstillet på basis af vægt efter at pollenet var blevet tørret, hvorved varierende fugtighed i pollenet ikke havde indflydelse. Størrelsen på pollenkornene fra de 4 potentielle fædre blev også målt under mikroskop for at teste for forskelle. Hvis en pollendonator (= potentiel far) har mindre pollenkorn end de øvrige vil et gram pollen indeholde forholdsvis flere pollenkorn, og dermed give den far relativt flere bestøvningsschancer i vores eksperiment.

Genetiske fingeraftryk af frøene

Nogle uger efter bestøvningen blev poserne fjernet, og koglerne fik lov at udvikle sig normalt til de var høstmodne i slutningen af september. Herefter blev koglerne klænget og frøet blev lagt til spiring efter passende forbehandling. Der blev taget DNA fra de fremspirende kimplanter, og ved hjælp af genetiske fingeraftryk fra DNA-markører (mikrosatellitter, se også Nåledrys 56/06) blev det bestemt hvilken af de fire potentielle fædre, der var ophav til frøene. Hele eksperimentet er skematisk illustreret i figur 2.

Resultater

Fra hver af de tre mødre blev der høstet og analyseret henholdsvis 67, 80 og 78 frø – i alt 225 frø. Det skal bemærkes, at der var problemer med koglehalvmøl (*Dioryctria abietella*; Ravn & Harding 2007) samt frøhvepse (*Megastigmus sp.*; Ochsner 2002) i koglerne, hvilket betød at der ikke kunne opnås samme antal frø fra hvert modertræ. På basis af de genetiske fingeraftryk fra mødre og potentielle fædre blev faderskabet til hvert enkelt frø bestemt. Det samlede antal afkom for hver far blev samtidig sammenholdt med det forventede antal afkom, baseret på sammensætningen af pollenmikset. For hvert modertræ ville man således forvente at halvdelen af frøene havde alm. ædelgran som far (altså en hybrid), under forudsætning af at de to arter er lige gode til at bestøve nordmannsgran. Afvigelser fra denne hypotese ville betyde afvigelser

fra den forventede andel af afkom. Resultaterne fra eksperimentet er vist i tabel 1 og figur 3.

I tabel 1 og på figur 3 ses at alle tre mødretræer havde flere afkom af alm. ædelgran (hybrider) end man kunne forvente, dvs. mere end 50%. Dog, hvis man summer antallet af nordmannsgran-afkom og sammenligner det med antallet af hybrider (eks. 58% hybrider mod 42% ngr-afkom fra modertræ C26), så er denne overvægt af hybrider kun statistisk sikker i afkommet fra C91 modertræet (67% hybrider). Lægger man tallene fra alle tre mødretræer sammen får man 62% hybrider mod 38% ngr-afkom – hvilket med denne større stikprøvestørrelse er forskelligt fra de forventede 50% hybrider med særdeles stor statistisk sikkerhed. Udover overvægten af hybrider er der yderligere en ting, der springer i øjnene, nemlig den ret forskellige bestøvningssucces for de tre nordmannsgranfædre, alt afhængig af hvem modertræet var. For eksempel havde C81 kun et afkom på modertræ C94 (hvor man ville forvente 16,7% af 80 ~ 13 afkom), mens C81 omvendt havde 18 afkom på modertræ C26, hvor forventningen var 11 afkom. Denne vekselvirkning er meget svær at forklare med andet end selektiv bestøvning, idet det var den samme beholder med pollenmik der blev brugt på alle tre mødretræer. Det kunne være interessant at lave yderligere bestøvningssøg på et bredere materiale.

Pollenkornenes størrelse blev målt for at se om forskelle mellem fædrenes pollenstørrelse ville have indflydelse på det antal afkom man kunne forvente. Det viste sig, at nordmannsgranindividet C81 med statistisk sikkerhed havde større pollenkorn end de øvrige fædre. På den baggrund kunne det forventede antal af afkom fra de 4 fædre justeres – dette ses i nederste linje (d) i tabel 1. Eksempelvis ses at C81 som følge af sin større pollenstørrelse må forventes at have færre afkom, da pollenmikset er fremstillet på baggrund af vægt. Det samlede billede



Tabel 1. Antallet af frø fra hver af 4 potentielle fædre (1 alm. ædelgran og de 3 nordmannsgranindivider C19, C46 og C81) testet på 3 forskellige nordmannsgranindivider (mødretræerne C26, C91 og C94). (a) Forventet andel af frø fra hver far (pollendonor) baseret på sammensætningen af pollenmikset. (b) Observeret antal og andel af frø for hver far høstet på hver af de tre mødretræer. (c) Observeret og forventet antal af frø – summet over alle tre mødretræer. Forventet antal også givet i procent. (d) Forventet antal af frø for hver far justeret for forskelle i pollenstørrelse.

		Fædre					
		Alm. ædelgran	Ngr C19	Ngr C46	Ngr C81	Total	
Modertræ	Andel i pollenmikset	½=50%	1/6=16,7%	1/6=16,7%	1/6=16,7%	1=100%	(a)
NGR C26	Antal frø / frø i %	39 (58%)	4 (6%)	6 (9%)	18 (27%)	67	(b)
NGR C91	Antal frø / frø i %	54 (67%)	8 (10%)	11 (14%)	7 (9%)	80	(b)
NGR C94	Antal frø / frø i %	46 (59%)	14 (18%)	17 (22%)	1 (1%)	78	(b)
Total	Antal frø/ frø i %	139 (62%)	26 (12%)	34 (15%)	26 (11%)	225	(c)
Forventet antal (pollenvægt)		112,5	37,5	37,5	37,5	225	(c)
Forventet antal/ procentdel (antal pollenkorn)		118,3 (53%)	38,6 (17%)	37,4 (17%)	30,6 (13%)	225	(d)

ændres dog ikke væsentligt af denne justering for pollenstørrelse.

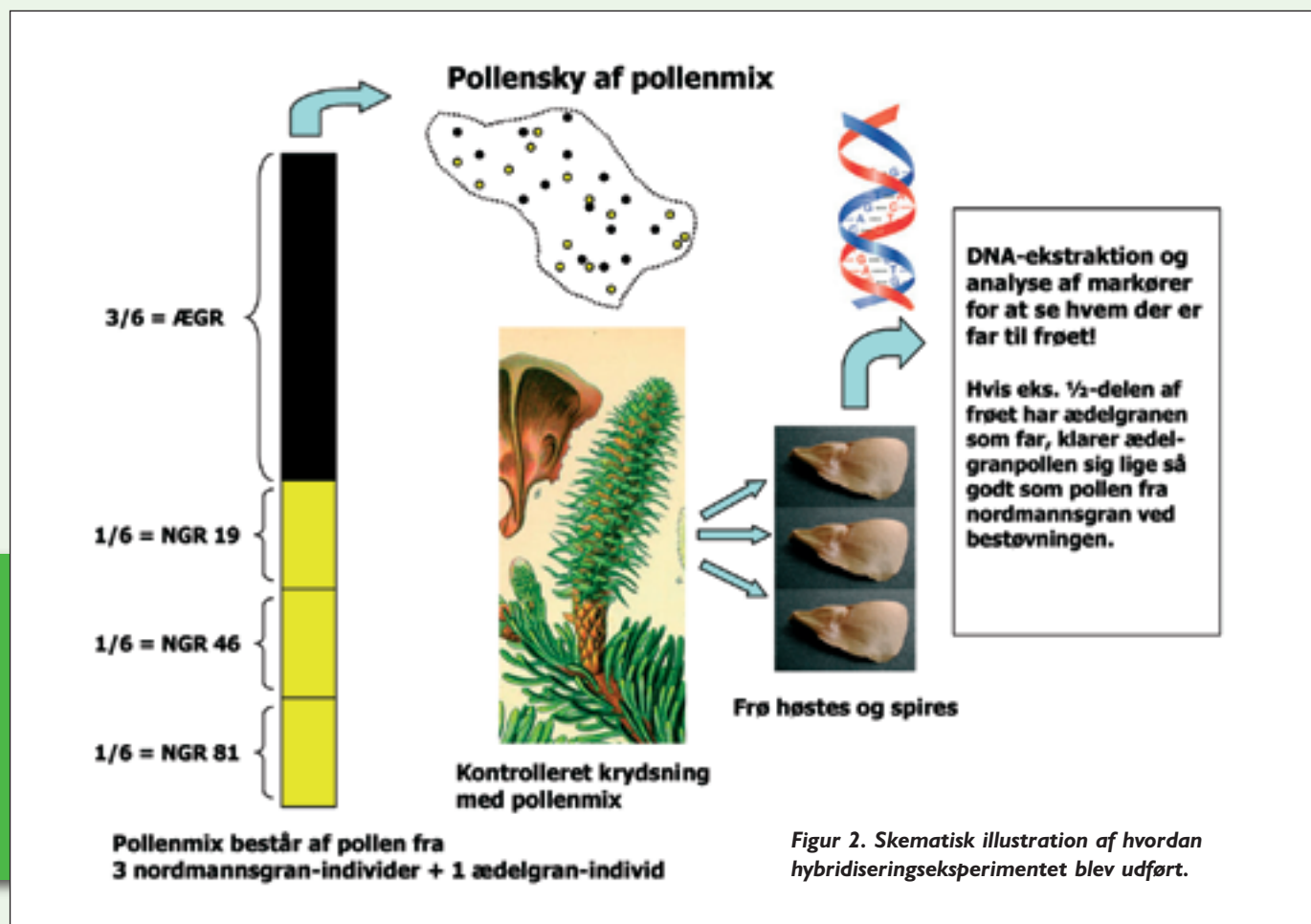
Foreløbige konklusioner og diskussion

Hvilke konklusioner kan man så drage af nærværende studie? Det er her værd at bemærke,

at undersøgelsen kun er lavet på et meget begrænset udvalg af plantemateriale, og specielt er der jo for alm. ædelgran kun testet ét enkelt individ. Med det i baghovedet tillader jeg mig alligevel at drage 2 foreløbige slutninger:

1. Der synes ikke at være nogen som helst reproduktive barrierer mellem alm. ædel-

gran og nordmannsgran; faktisk viste studiet en mindre overhyppighed af hybrider. Det vil sige, at når der er alm. ædelgranpollen til stede, så lader nordmannsgran sig lige så let bestøve af dette som af nordmannsgranpollen. Vi testede pollen fra de 4 potentielle fædre ved en såkaldt pollenvitalitets-test og fandt



Figur 2. Skematisk illustration af hvordan hybridiseringseksperimentet blev udført.

ingen umiddelbare forskelle, så eksperimentets resultater kan ikke forklares ved at pollenet fra alm. ædelgran var mere spiredygtigt end pollenet fra nordmannsgranerne. Den store vekselvirkning mellem bestøvningssuccesen for de forskellige nordmannsgranfædre, afhængig af hvem modertræet var, udelukker også at det skulle være simple forskelle i pollenkvaliteten der er afgørende.

2. Ovennævnte vekselvirkning mellem de 3 nordmannsgranfædres bestøvningssucces tyder på, at individer af nordmannsgran simpelthen bedre kan bestøve nogle mødretræer end andre. Dette er relevant viden hvis man skal anlægge nye klonfrøplantager med nordmannsgran, specielt hvis man ønsker at anvende et lille antal kloner. Med et lille antal kloner i en frøplantage er det jo ekstra vigtigt at de rent faktisk kan bestøve hinanden.

For yderligere undersøgelser af hybridiseringen mellem alm. ædelgran og nordmannsgran ville det være ideelt at udvikle artsspecifikke DNA-markører, dvs. DNA-markører der har helt specifikke karakterer når de befinder i hver af de to arter. På den måde kunne man studere den indkrydsning (introgression) af alm. ædelgran i det danske nordmannsgranmateriale, der potentielt set kan være sket gennem tiden.

Tak

Der skal lyde en stor tak til Foreningen Plan-Danmark som har støttet studiet økonomisk. Også tak til gartner Kristian Stougaard Jacobsen for hjælp med håndtering og spiring af frø og til Statsskovenes Planteavlstation for at give os adgang til deres plantemateriale.

Litteratur

Jacobsen F (1988) Juletræer og Klippegrønt, i H.A.Henriksen, Skoven og dens dyrkning, Dansk Skovforening, Nyt Nordisk forlag Arnold Busck, Copenhagen, pp. 607-636.

Kormutak A (1997) Cytological aspects of interspecific hybridization in true firs (*Abies* species), i: Borzan Z., Schlarbaum S. E. (eds.), Cytogenetic studies of forest trees and shrub species Brijuni, Croatia, 8-11 September 1993. pp. 303-310.

Nielsen UB Chastagner GA (2005) Variation in postharvest quality among Nordmann fir provenances, Hortscience 40: 553-557.

Ochsner P (2002) Frøhævelse i frøavlsbevoksninger. Videnblade Pyntegrønt nr. 5.5-15, Forskningscentret for Skov & Landskab, Hørsholm, 2 pp.

Ravn HP Harding S (2007) Koglehalvmøllet - et frygtet, men måske overvurderet

Vi importerer nordmannsgranfrø direkte fra Ambrolauri Tlugi afd. 10

BOLS

FORST PLANTESKOLE

LØVETVEJ 30

8740 BRÆDSTRUP

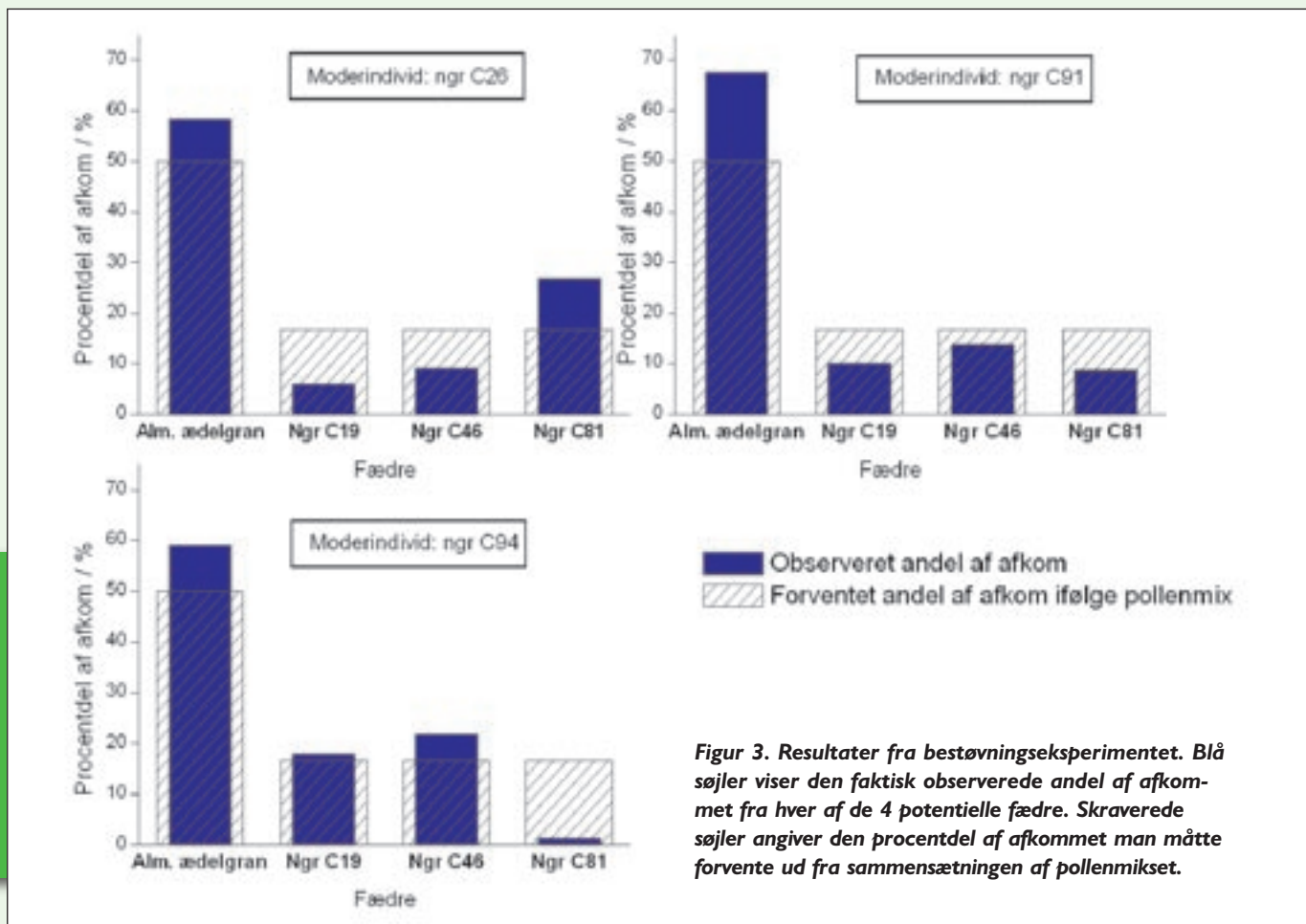
TLF: 75 76 00 43

FAX: 75 76 02 04

E-MAIL: POST@BOLSFORST.DK

www.bolsforst.dk

skadedyr i frøproduktionen. Nåledrys nr. 59: 50-54.



Figur 3. Resultater fra bestøvningseksperimentet. Blå søjler viser den faktisk observerede andel af afkommet fra hver af de 4 potentielle fædre. Skraverede søjler angiver den procentdel af afkommet man måtte forvente ud fra sammensætningen af pollenmikset.