

Genetiske markører muliggør certificering af forskellige provenienser af Nordmannsgran fra herkomstområder i Kaukasus og Tyrkiet

Af BERGMANN, F. og J. MATSCHKE
Oversættelse af Helle O. Thomsen og Jens Søgaard Jacobsen

Nedenstående artikel beskriver, hvorledes det er lykkedes at udvikle et system, der kan skelne mellem de forskellige provenienser af nordmannsgran, som har været hyppigst anvendt gennem de seneste år. Der er hermed udviklet et redskab, som vil kunne bruges i bestræbelserne på at give større proveniingssikkerhed for juletræsproducenterne.

Den ene af forfatterne, J. Matschke vil være læserne bekendt, idet han tidligere har offentliggjort artikler her i bladet bl.a. om de skadelige virkninger af herbicider på kulturtræarterne.

Jens Søgaard Jacobsen

1. Indledning

Nordmannsgranen (*Abies nordmanniana*) har i de senere år vundet stadig større betydning for dyrkning af juletræer. For tiden udviser juletræskulturer i forskellige europæiske lande imidlertid betydelige variationer i deres fænotype, deres udspringsforhold og i deres modstandsdygtighed overfor belastninger. Disse kvalitative forskelle skyldes ikke kun utilstrækkelig pleje af kulturerne, men er

Herkomstområde Kaukasus	NN (m.o.h.)	Materiale
Ambrolauri-Lemaneori-1	1.300	enkeltræer
Ambrolauri-Lemaneori-2	1.340	bevoksningsprøve
Ambrolauri-Lemaneori-3	1.440	enkeltræer
Ambrolauri-Schartali	1.100	bevoksningsprøve + enkeltræer
Ambrolauri-Zazalike	1.620	bevoksningsprøve + enkeltræer
Ambrolauri-Zazalike	1.585	enkeltræer
Ambrolauri-Zazalike	1.445	bevoksningsprøve
Ambrolauri-Agara	1.400	bevoksningsprøve
Ambrolauri-Skardisi	1.200	bevoksningsprøve
Adigeni-Zarsma	1.500	enkeltræer
Beshumi	1.760	enkeltræer
Bordjomi-Zagire	1.200	enkeltræer
Bordjomi-Bakuriani-Z.	1.100	enkeltræer
Bordjomi-Bakuriani-Zib.	1.280	bevoksningsprøve + enkeltræer
Herkomstområder i Tyrkiet		
Artvin		bevoksningsprøve
Gümüşhane		bevoksningsprøve
Savsat		bevoksningsprøve

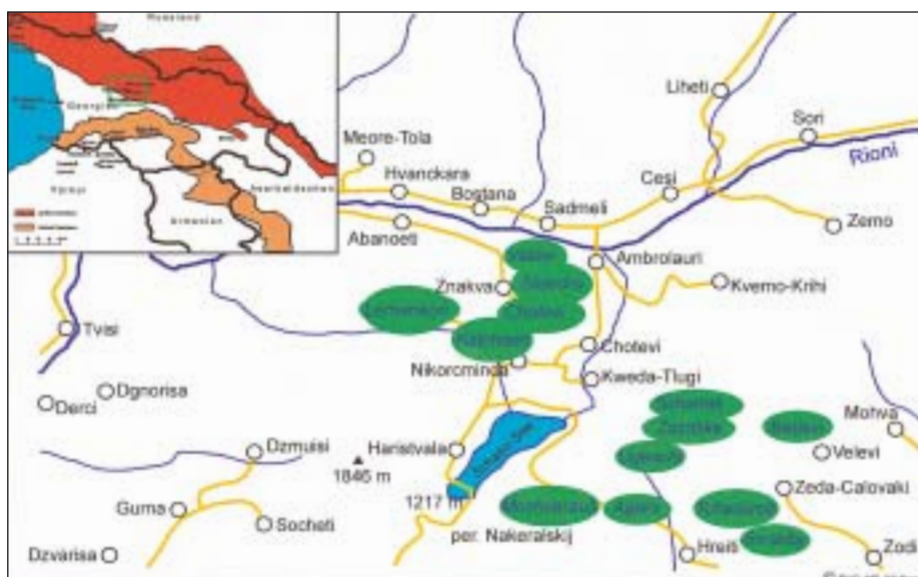
Tabel 1: Herkomster af Nordmannsgran fra det Store og Lille Kaukasus og udløbere i Tyrkiet.

frem for alt betinget af forskellige valg af herkomst og blandinger. Sammenligninger af kulturer har vist, at

en del af herkomster fra Store og Lille Kaukasus giver juletræer af god kvalitet. Hidtil er det fortrinsvist frøpartier fra regionerne omkring Ambrolauri-Tlugi, sjældnere omkring Bordjomi (=Borshomi) og nogle områder i Tyrkiet, der er blevet inddraget i undersøgelserne.

For frostudsatte lokaliteter med gode boniteter og store nedbørsmængder er de tidligt udspringende herkomster med længere internodier fra Tyrkiet mindre egnede. Dette gælder også herkomster fra de østlige udløbere af Ponto- og Lazistanbjergene omkring Artvin og Savsat i modsætning til dem fra mindre og begrænsede oplandsområder og højder < 1.400 m.o.h. omkring Ambrolauri, Bordjomi, Bakuriani og Adigeni.

Da de forskellige provenienser ikke kan skelnes ud fra selve frøene eller frøplanterne, og da juletræedykere på den anden side må have en vis sikkerhed med hensyn til det erhvervede plantemateriale - ombytning eller opblanding af frøene kan ikke udelukkes - blev det testet, om de forskellige provenienser lader sig



Figur 1: Nordmannsgranens herkomstområder i det Store og Lille Kaukasus, Tyrkiet og i oplandet til Ambrolauri.

adskille fra hinanden på baggrund af Isoenzym-genmarkører.

Da kvantitative forskelle i form af hyp-pighedsforskudninger af enkelte Isoenzym-mønstre ikke er så sikre som kvalitative på grund af afhængigheden af stikprøvens størrelse, blev det undersøgt, om der optræder forskelle mellem typerne for de forskellige provenienser af Nordmannsgran.

2. Materiale og metoder

Til den følgende undersøgelse blev der dyrket frø, som forfatterne selv havde høstet, fra enkelttræer og fra bevoksninger fra det Store og det Lille Kaukasus og fra tilgrænsende udløbere (MATSCHKE og MOSER 1996).

I tillæg til tidligere undersøgelser (HUSSENDORFER et al. 1995; AMENDA et al. 1996) blev de sikre herkomster som vist i tabel 1 taget med i sammenligningerne.

Analysen af isoenzym-genmarkører til Nordmannsgran skete på basis af metoder, som blev udarbejdet af HUSSENDORFER et al. (1995) til Alm. ædelgran (*Abies alba*). Syv enzym-systemer i Nordmannsgranens frø blev testet detaljeret.

Til bestemmelse af de enkelte træers genotype (ved frø fra enkelte træer), blev der analyseret seks frøhvider (haploidt væv af makrogametofyten) for hver. Til bevis for de genetiske strukturer i prøver fra bevoksninger blev der undersøgt 30-70 frøhvider. De syv ovennævnte enzym-systemers isoenzymmønstre blev analyseret ved hjælp af stivelsesgel-zoneelektrophorese (12%-gel), hvorved del-buffersystemerne Ashton- (pH 8.1) og TRIS-Citrat-buffer (pH 7.4) blev anvendt.

3. Resultater

a) Anvendte isoenzym-genmarkører

Efter forundersøgelser af forskellige frøprøver fra Nordmannsgran blev det konstateret, at nogle enzym-systemer (f.eks. AAP/LAP, Zone A ved IDH, ligesom zone B og C ved MDH, se tabel 2), ikke udviser nogen variation og besidder de samme isoenzymvarianter i provenienserne. Derfor blev de i første omgang ikke taget i betragtning til nærmere undersøgelse.

I modsætning til tidligere undersøgelser (AMENDA et al. 1996) og under hensyntagen til det mulige tab af isoenzymaktivitet hos ældre frø, kunne der ved friske frø af nogle af provenienserne, som vi selv havde samlet, findes forskellige variationer i isoenzymzonerne GOT-A, -B, -C, PGI-A, -B, GDH-A, IDH-B og MDH-A, som blev ligestillet med tilsvarende genloci hos Alm. ædelgran (Tabel 2). Analogien i den genetiske kontrol af

Enzymsystemer	Forkortelse	Genloci for Alm. ædelgran
Aminopeptidaser	AAP/LAP	AAP-A, AAP-B
Glutamatoxalacetat-Transaminaser	GOT	GOT-A, -B, -C
Phosphoglucose-Isomeraser	PGI	PGI-A, -B
Phosphogluco-Mutaser	PGM	PGM-A, -B
Glutamat-Dehydrogenaser	GDH	GDH-A
Isocitrat-Dehydrogenaser	IDH	IDH-A, -B
Malat-Dehydrogenaser	MDH	MDH-A, MDH-B, -C

Tabel 2: Enzymsystemer og isoenzym-genloci

disse isoenzym-polymorfismer er for så vidt retfærdiggjort, som de elektrophoretiske isoenzym-zoner på den ene side stemmer helt overens og alloenzymtyperne stemmer delvist overens og på den anden side alle mellem-, syd- og sydøst-europæiske ædelgranarter skal være opstået fra en oprindelig ædelgranpopulation i Middelhavsområdet.

b) Genetiske strukturer i de polymorfe isoenzym-genloci

De forhåndenværende Nordmannsgran enkelttræers genotyper blev bestemt ved de ovennævnte otte isoenzym-genloci.

Ud fra genotyperne blev allel-hyppighederne beregnet, da parametrene synes egnede til sammenligning af de to provenienser, der er ekstremt fjernt fra hinanden. Genotype-hyppighederne er frem for alt afhængig af de pågældende bestøvningsforhold og kan ændre sig fra sted til sted og fra generation til generation.

Ved siden af allellerne og deres hyppighed i enkelttræ-kollektiver blev allel-hyppighederne bestemt i bevoksningsprøverne fra de forskellige arealer (Tabel 2).

Mens der blev analyseret op til 30 frø fra hver bevoksningsprøve fra Kaukasus, - da der for de fleste også blev anvendt data fra enkelttræ-kollektiver, - blev der

fra de tyrkiske herkomster undersøgt 60-70 frø.

Hermed er det sikret, at også sjældnere allel-typer kan eftervises, hvilket er af betydning for den pålidelige skelnen mellem provenienser, der er meget fjernt fra hinanden.

Ved sammenligningen af alle data viste det sig, at allel-typerne og deres hyppigheder ved isoenzym-genlociene GOT-A, PGI-A, -B, IDH-B og MDH-A ikke adskiller sig væsentligt mellem provenienserne, hvorfor disse værdier ikke blev taget videre i betragtning.

I modsætning hertil kunne konstateres herkomstspecifikke forskelle ved Genloci GOT-B, GOT-C og GDH-A.

c) Kvantitative og kvalitative forskelle mellem provenienserne

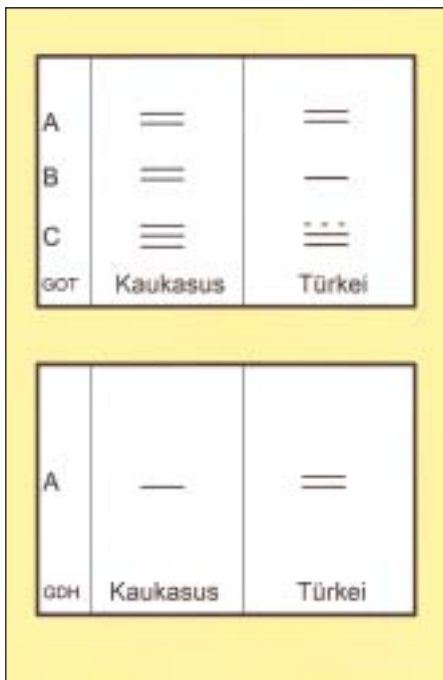
Mens der ved genlocus GOT-C kun kan eftervises kvantitative forskelle mellem de kaukasiske og de tyrkiske provenienser, kan der sågar identificeres kvalitative forskelle i genlociene GOT-B og GDH-A.

Ved GOT-C viser allel-type C1 sig med hyppigheder mellem 10% og 35% i prøverne fra Kaukasus, mens den kun optræder med 6 til 9% i de tyrkiske herkomstprøver (Tabel 3).

Ved genlociene GOT-B og GDH-A kunne der - i det mindste ved det forhånden-

Herkunft	GOT-B		GOT-C			GDH-A	
	B1	B2	C1	C2	C3	A1	A2
Kaukasus							
A-Leman 1	0.20	0.80	0.35	0.40	0.25	-	1.0
A-Leman 2	0.08	0.92	0.25	0.60	0.15	-	1.0
A-Leman 3	0.05	0.95	0.25	0.55	0.20	-	1.0
A-Schartali	0.15	0.85	0.15	0.50	0.35	-	1.0
A-Zazalike 2	0.05	0.95	0.10	0.50	0.40	-	1.0
A-Zazalike 4	0.15	0.85	0.20	0.45	0.35	-	1.0
A-Agara	0.09	0.91	0.14	0.58	0.18	-	1.0
A-Skardisi	0.09	0.91	0.27	0.41	0.32	-	1.0
Bordjomi-Bakuriani-Zb	-	1.0	0.10	0.70	0.20	-	1.0
Tyrkiet							
Artvin	-	1.0	0.05	0.66	0.28	0.03	0.97
Seriset	-	1.0	0.07	0.64	0.29	0.07	0.93
Gümüşhane	-	1.0	0.09	0.71	0.20	0.04	0.96

Tabel 3: Eksempler på allel-hyppigheder for tre diskriminerende isoenzym-genloci GOT-B, GOT-C og GDH-A i frøprøver fra bevoksninger i Kaukasus og Tyrkiet.



Figur 2: Forskelle i isoenzym-mønstre for frøprøver af *Abies nordmanniana* fra Kaukasus og Tyrkiet.

værende materiale - eftervises kvalitative forskelle mellem provenienserne (Figur 2).

Derved adskiller disse to isoenzym-genloci sig, for så vidt som GOT-B er fikseret for B2 i de tyrkiske prøver, mens allelet B1 endnu forekommer i prøverne fra Kaukasus (undtagelse proveniens: Bordjomi-Bukuriane-Zib.), mens GDH-A er fikseret for A2 i prøverne fra Kaukasus, mens A1 endnu viser sig i de tyrkiske prøver, om end sjældent (3 til 7%), (Tabel 3).

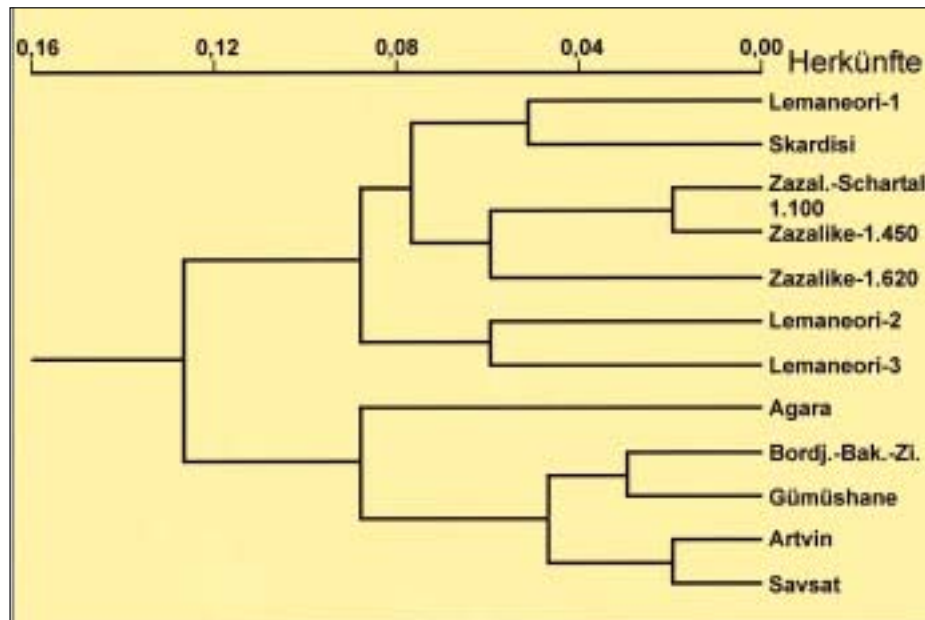
d) Eksempel på mulig certificering af frøprøver fra Kaukasus

Antages det, at de undersøgte prøver fra området Ambrolauri har en vis repræsentativitet for Nordmannsgranerne dér, og at herkomsterne fra det nordøstlige Tyrkiet er repræsentative for dette udbredelsesområde, skulle der uden tvivl kunne skelnes mellem provenienserne.

Sammenholder man de tre markør-loci GOT-B, GOT-C og GDH-A, så skulle det være muligt, også at certificere Nordmannsgran-prøverne fra forskellige områder. Disse prøver skulle udvise begge alleler ved genlocus GOT-B, være fikseret for A2 ved genlocus GDH-A ligesom de skulle besidde C1 med relativ stor hyppighed ved GOT-C. Sidstnævnte kriterium skal dog tillægges den ringeste betydning.

De genetiske forskelle mellem provenienserne mht. disse tre genloci lader sig fremstille grafisk i form af et dendrogram (figur 3).

Forbindelseslinierne tydeliggør, hvilke



Figur 3: Eksempel på et UPGMA-dendrogram, der er baseret på genpool-afstande (gennemsnitsværdier over markør-lociene) mellem 12 analyserede prøver af Nordmannsgran.

herkomster der står hinanden nærmest og hvilke der nærmere indtager en mellemposition.

For eksempel viser prøverne fra bevoksningen Tlugi-Lemaneori, Tlugi-Zazalike og Tlugi-Skardasi et fælles mønster, mens herkomsten fra bevoksningen Tlugi-Agara danner en overgang.

Overraskende stemmer mønstrene i prøven fra Bordjomi-Bakuriani næsten mere overens med prøverne fra oplandet

omkring Artvin, Savsat og Gümüşhane (Figur 3).

Når en ukendt eller tvivlsom frøprøve skal bedømmes, så kunne man bestemme allelerne og deres hyppigheder ved de tre markør-loci og udarbejde et sådant dendrogram med de andre foreliggende data.

På grundlag af forbindelseslinierne kan man aflæse, hvor en sådan prøve skal placeres. På samme måde kan "falske"



Figur 4: Artiklens undersøgelsesresultater viser, at det er muligt at teste nordmannsgran frøs oprindelse. Der er fundet markører, som gør det muligt at skelne en række forskellige provenienser fra Georgien og Tyrkiet. Dette åbner mange muligheder for såvel en mere sikker certificering som for genveje i proveniensforskningen. (Arkivfoto)

herkomstangivelser for Alm. ædelgran også tilbagevises (HOSIUS et al. 1996).

Sammenfatning

For at dyrke kvalitetsjuletræer er det en forudsætning at have genetisk værdifulde frø fra egnede og begrænsede herkomstområder en forudsætning såvel som en belastningsfri og optimal dyrkning af frøplanterne.

Da certificering af frøpartier af Nordmannsgran hidtil ikke har været mulig (I Tyskland og kun med visse begrænsninger muligt i Danmark, oversætt.), og eftersom genetiske markører til eftervisning af proveniensforskelle for denne art manglede, udarbejdede forfatterne en metode, som sikrer dette.

Dertil blev frø fra enkelttræer og bevoksninger høstet direkte på stedet og ved hjælp af de fundne genetiske isoenzymmarkører blev de eksisterende proveniensforskelle tydelige.

Ved hjælp af markør-loci GOT-B, GOT-C og GDJ-A er det muligt at certificere prøver fra forskellige Nordmannsgranherkomstområder og at skelne herkomster fra Kaukasus fra tyrkiske herkomster. Således skal prøver fra Kaukasus udvise begge alleler (B1, B2) ved genlocus GOT-B, være fikseret for A2 ved genlocus GDH-A og besidde allel C1 med relativ stor hyppighed ved genlocus GOT-C.

De genetiske forskelle mellem proveni-

enserne mht. de tre genloci lader sig fremstille i et dendrogram. Derved kan man ved hjælp af allellernes mønstre og deres hyppighed sammenligne afstandene for herkomsterne.

Litteratur

AMENDA, R., MATSCHKE, J., LEUER, M. und F. BERGMANN
Enzymtests geben Auskunft über die Herkunft von Koniferensaatgut
TASPO Gartenbaumagazin 11 (1996) 37-40
HOSIUS, B., HENKEL, W., BERGMANN, F. und H. HATTEMER
Erhebung von Verstößen gegen das Gesetz über forstliches Saat- und Pflanzengut
AFZ/ Der Wald 26 (1996) 1450-1451
HUSSENDÖRFER, E., KONNERT, M. und F. BERGMANN

PS PETER SCHJØTTS Planteskole

Hedegårdvej 5, 7361 Ejstrupholm, tlf. 75 77 25 52, fax 75 77 31 34

Planter til: Pyntegrønt & juletræer, skov, læ & vildt

*Vi har Nordmannsgran, 2/2 og 2/1S,
Ambrolauri og Borshomi og
fine Nobilis 2/1S i gode danske provenienser*

Inheritance and linkage of isozyme variants of silver fir (*Abies alba* MILL.)

Forest Genetics 2 (1995) 29-40

MATSCHKE, J. und K. MOSER

Weitere Erkenntnisse über Herkünfte der Nordmannstanne des Großen und Kleinen Kaukasus für den Anbau von Weihnachtsbäumen.

WLG 12 (1996) 20-22

Forfattere:

F. Bergmann

Abt. Forstgenetik und

Forstpflanzenzüchtung

Büsgenweg 2

37077 Göttingen-Weende

J. Matschke

Bildungs- und Versuchszentrum

des Gartenbaus

Münsterstraße 62-68

48167 Münster-Wolbeck

Skal du af med de ekstra 20% ??

CompacT 1500 - 98 pakke- og læsemaskinen er løsningen på optimering af transport for juletræer fra 60 cm til 3 m og alle pyntegrønt bundttyper;

- fra fældning i skoven og frem til aflæsning hos kunden;
- for CT paller, Euro paller & CC containere.



CompacTree

CompacTree Aps, Skovfoged Claus Thomsen, Højvang 4 - 5560 Aarup
Tel. / Fax: +45 64 43 12 89. Mobil: +45 40 42 71 89, +45 21 22 57 42

Fra rød til fod