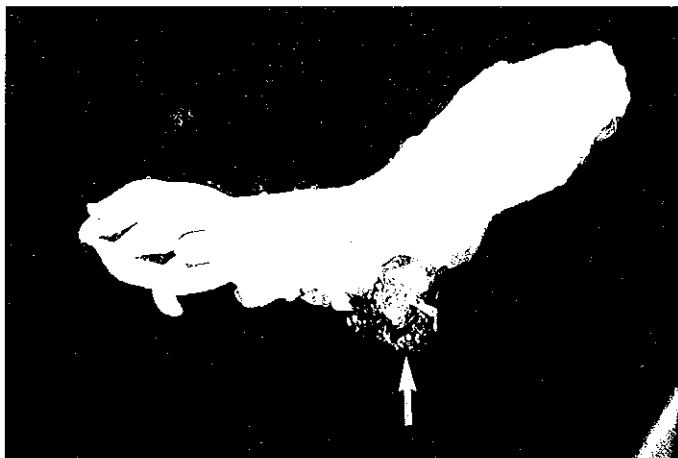
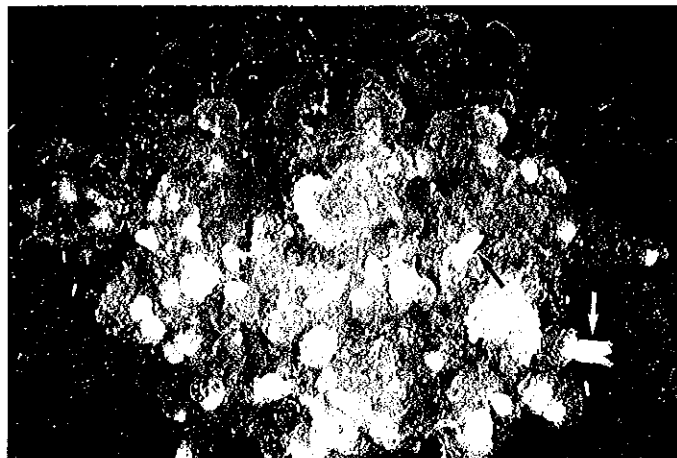


# Mikroformering af juletræer – facts eller fantasi

Af Jens Viktor Nørgaard, Botanisk Have



**Figur 1: Etablering af kulturer.**  
Efter en måned på substratet har en frøkim af Nordmannsgran dannet en glasklar og slimet cellemasse (pll) som består af umodne kim - kloningen er startet.



**Figur 2: Modning af kim.**  
Enkelte af de utallige umodne kim i cellemassen er modnet (pile) og har dannet spiringsdygtige, kunstige kimer.

## Introduktion

Nordmannsgran dyrkes i kort og intensiv rotation, og derfor er ønsket om et godt og ensartet plantemateriale stort. Det er også en stor fordel hurtigt at kunne opformere forædlet materiale og gøre det tilgængeligt for dyrkerne, så det kan komme på markedet. Moden skifter, så nye og anderledes typer efterspørges af forbrugerne. For at efterkomme dette kræves det også, at nye juletræstyper hurtigt kan opformeres og komme på markedet.

Derfor er ingen vel i tvivl om, at kloner af Nordmannsgran ville blive anvendt i stor stil, hvis det var muligt at fremstille dem i tilstrækkeligt højt antal, i en god plantekvalitet og til en passende pris. Perspektiverne i hektar efter hektar af perfekte og fuldstændig ens Nordmannsgraner kan nok få dollartegnene frem i de flestes øjne.

En måde at fremstille kloner på er ved mikroformering, og for at gøre læsernes forestillinger om forskningens stadie inden for mikroformering så realistiske som muligt, har Pyntegrøntsektionen bedt mig redegøre for den forskning, der foregår med mikroformering af nåletræer, specielt Nordmannsgran, i Botanisk Have ved Københavns Universitet. Forskningen, der har stået på siden 1988, har ikke nogen fast plads på finansloven, men støttes af Forskningsrådene, Nordisk Ministerråd, diverse fonde og erhvervet.

## Mikroformering

Mikroformering er formering af planter på et kunstigt sammensat næringssubstrat under sterile forhold. Mikroformering kaldes også vævskulturformering, medens meristemformering er en speciel teknik indenfor vævskultur, hvor virus-sygdomme fjernes fra planterne. Mikroformering kan foregå ad flere forskellige veje, dels via mikrostiklinger og dels via kloning af kim. Kim er den del af et frø, som ved spiring danner kimplanten. Essensen af metoderne er dog, at der sker en vegetativ, dvs. ukønnet formering af den plante, som man starter kulturen med. Perspektiverne ved at anvende mikroformerede planter er således stort set de samme som ved anvendelsen af anden vegetativ formering, f.eks. stiklingeformering. I Botanisk Have arbejder vi med mikroformering via kloning af kim i Nordmannsgran, Rødgran og Sitkagran.

Mikroformering af skovtræer - specielt nåletræer - har længe haltet noget bagefter mikroformering af urteagtige vækster, på trods af at nåletræer faktisk var nogle af de første plantearter, som man etablerede vævskulturer af. I midten af firserne opnåedes der et gennembrud, da det for første gang lykkedes at lave såkaldt "somatiske embryogenese". Ved denne proces får man vegetative (somatiske) celler - altså ikke pollen og ægceller - til at danne embryoer (kim), som kan

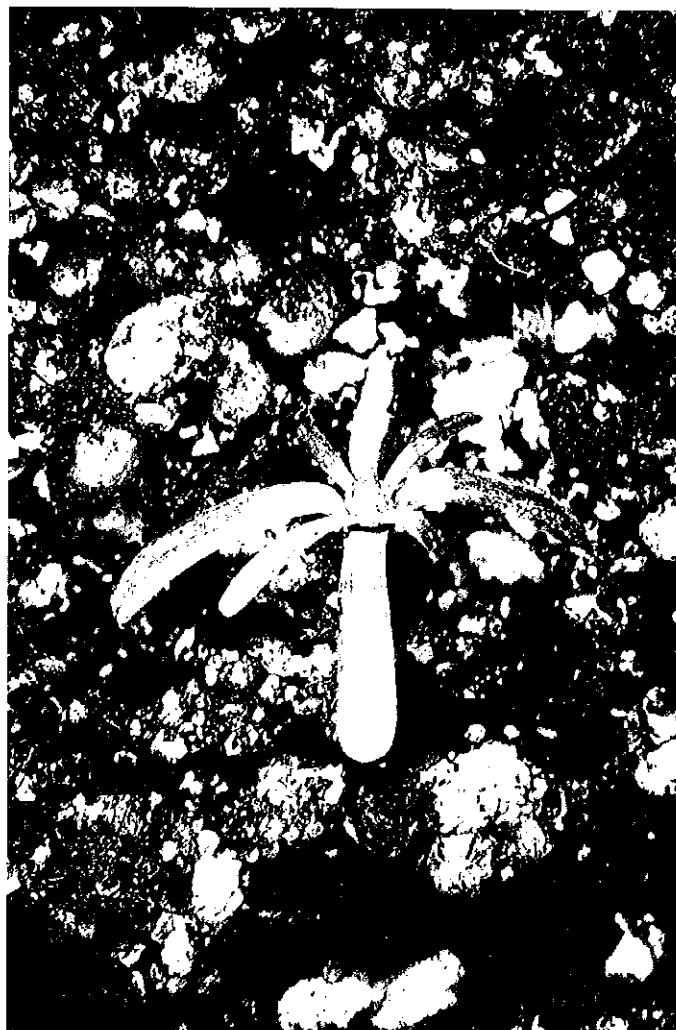
udvikle sig på samme måde som kim, der er opstået efter befrugtning i frøanlægget. Siden da har udviklingen været hurtig, og listen over nåletræer, der er mikroformeret på denne måde, er vokset hastigt. Kunstig kimdannelse, som processen kan kaldes, forløber gennem en række trin med forskellige krav til dyrkningsforholdene og substrater.

Kulturene startes ved at overfladesterilisere det væv, som ønskes formeret, og placere det på et substrat, hvor det efter nogle uger vil danne en vævsmasse, som indeholder umodne kim (figur 1). Denne masse kan isoleres fra modervævet og formeres. Opformeringen er den egentlige kloningsproces, hvorved der kontinuerligt dannes nye umodne kim. Med regelmæssige mellemrum overføres det nydannede væv til et frisk substrat for at holde væksten i gang. I princippet kan dette foregå uendeligt længe, idet kulturene ikke ældes.

For at danne planter fra de umodne kim, skal de overføres til et modningssubstrat, hvor kloningsprocessen stopper, og de enkelte kim stimuleres til at modne (figur 2) - som det foregår i frøet. Efter modningen kræver nogle kim en hvile- eller udtørningsperiode, inden de kan spire. Spiringen adskiller sig stort set kun fra frøspiring ved, at frøhviden og frøskallen mangler, og kimene dermed får al deres næring fra substratet (figur 3). Efter spiring skal de små planter akkli-



**Figur 3: Spiring af kunstige kim.**  
Efter en udtørring spirer kimen, og kimmåle og stængelen strækker sig.



**Figur 4: Etablering i jord.**  
En kunstig kim er etableret i jord - komplet med kimmåle og kimknop.

matiseres inden de kan overføres til fri-land eller væksthuis. Dels skal planterne vænne sig til en lavere luftfugtighed, og dels skal de i gang med at lave fotosyntese. Akklimatiseringen foregår ved at sænke luftfugtigheden samtidig med, at planterne dyrkes under optimale forhold, så de kommer hurtigt i gang. Efter akklimatisering er planterne klar til udprækling i planteskolen (figur 4).

#### Mikroformering af nordmannsgran

Og hvad er så status for vores forskning i dag? Vi kan hos Nordmannsgran etablere kulturer fra umodne og modne frø (figur 1) med en frekvens på ca. 40%. Det vil sige, at for hver 100 frø, vi dyrker, kan vi formere de 40.

Det er også forholdsvis let at dyrke disse kulturer videre, når de er startet, og vi kan i Nordmannsgran vedligeholde stort set alle kulturer, der er startet. Formeringsraten er betragtelig. De fleste cellelinier (hver cellelinie er en klon og kommer fra ét frø) 2-3-dobler friskvægten og dermed antallet af umodne kim på en 2 ugers periode. Andre arter vokser også

hurtigt, og i sitkagran kan der således i en 100 ml kolbe i løbet af et år produceres flere end  $\frac{1}{2}$  million umodne kim!

For at mindske arbejdet med at vedligeholde klonerne f.eks. i forbindelse med feltafprøvning af dem, er det ønskeligt at kunne opbevare klonerne i en genbank. Til dette kan man anvende kryopræservering, som er opbevaring af levende materiale ved meget lave temperaturer. Denne teknik bruges rutinemæssigt til nedfrysning af sæd og ægceller fra både mennesker og dyr. Hos nåletræerne kan kulturerne forbehandles og fryses ned i en programmerbar fryser, inden de overføres til flydende kvælstof (+ 196° C). Ved denne temperatur kan de opbevares stort set uendeligt længe. Vi har i Botanisk Have frosset 81 Rødgrankloner ned, og de 77 har overlevet. Nordmannsgran-kulturer kan også overleve nedfrysning, men vi har endnu kun testet en lille håndfuld kloner, som alle overlevede. Dette giver helt nye muligheder i forædlingen, da der ikke findes andre metoder til at langtidsopbevare nåletræskloner uden, at de ældes.

Ved overgangen til modning af kimene er der dog store problemer hos Nordmannsgran. Vi opnår stort set uanset metoden kun et meget lille antal modne, spiringsdygtige kim. Hos granarterne går det betydeligt bedre, og vi kan fra de bedste Rødgrankloner fra en lille celleklump på størrelse med en 50-øre få dannet over 200 modne kim. Fra en tilsvarende Nordmannsgranklon er det 1 eller 2 (figur 2). Denne forskel skyldes formentlig, at væksten i Nordmannsgran styres af helt andre hormoner.

Det siger sig selv, at det er vanskeligt at optimere spiringsfasen med det lave antal spiringsdygtige kim, vi har at arbejde med i Nordmannsgran. Hovedparten af de kim, som vi anser for spiringsdygtige, gennemgår dog noget, der ligner spiring, danner en rod og strækker stængelen (figur 3). Det springende punkt i denne proces har været at give de modne kim en udtørningsperiode inden de spirer. Udtørringen er en efterligning af den proces, som foregår naturligt sidst i frøets modning i koglerne. Hos Rødgran ser vi en virkelig god spiring efter

udtørring af de modne kim, og det er ikke usædvanligt at opnå spiringsprocenter på op til 90.

### Aspekter ved mikroformering

Ved en formeringsproces som denne sker der i hvert eneste trin et tab af kloner. Dermed risikerer man at lave en kraftig udvælgning alene ved formeringsprocessen. Dette er naturligvis uønsket i en forædlingsmæssig sammenhæng, specielt hvis det viser sig, at det er de dårligste planter, der kan formeres. Man er meget opmærksom på dette problem indenfor forædling af landbrugsafgrøder, hvor man ligefrem forædler for evnen til at kunne mikroformeres. Efterhånden som det er blevet muligt at producere planter i større antal fra mange forskellige kloner, er man også begyndt at analysere problemet hos nåletræerne. Der er indtil videre intet, der tyder på, at der foregår nogen udvælgelse af specielle planter ved mikroformering ved kunstig kimdannelse. Endvidere sker der en klar forbedring af metoderne, således at de kommer til at fungere bedre og bedre på flere og flere kloner. Herved mindskes problemets størrelse betydeligt.

Et andet aspekt, som skal undersøges, er, om der under mikroformeringen sker nogle genetiske eller fysiologiske

ændringer i plantematerialet, så de planter, man får ud i den sidste ende, er uensartede. Dette er et problem ved andre former for mikroformering, og det er naturligvis uønsket, når man kloner for at få et ensartet produkt. Kunstig kimdannelse er endnu så ny inden for nåletræerne, at der kun er meget unge planter i feltforsøg. Foreløbige resultater fra andre lande tyder dog på, at der ikke ses nogen særlig variation indenfor klonen. De forholdsvis sparsomme resultater fra feltforsøg, som foreligger i dag, tyder ligeledes på, at mikroformerede planter klarer sig fuldt ud lige så godt som almindelige frøformerede planter.

### Konklusion

En storstilet anvendelse af denne form for mikroformering af nåletræer er således ikke lige inden for rækkevidde. Endnu er produktionsomkostningerne for høje til at betale for den gevinst, der kan opnås ved kloningen. Allerede nu er man dog begyndt at anvende mikroformerede planter til forsøgsformål, idet man opnår et meget ensartet plantemateriale, og man vil kunne få nye planter af de samme kloner år efter år. Dette er en stor fordel ved forskellige dyrkningsforsøg og ved mere grundvidenskabelig forskning.

Som det er i dag, hvor man kun kan formere kloner med ukendte egenskaber (frø, frøplanter), er man nødt til at lægge en feltafprøvning af klonerne ind i formeringen. Selvom det er muligt at opbevare klonerne i flydende kvælstof samtidig og formere dem, når feltforsøget har vist, hvilke kloner der er bedst, betyder det, at der går lang tid, førend en god klon kan komme på markedet. Det ideelle er naturligvis at kunne formere de bedste planter direkte. Dertil når man formentlig også en dag, for grænsen for, hvor gammelt materiale, man kan formere, flyttes hele tiden. For bare 8 år siden var det kun umodne frø, der kunne klones. Så blev det modne frø og meget unge frøplanter. Frøplanterne er blevet ældre, og sidste år viste en fransk gruppe, at man kan klone 1 år gamle Rødgranplanter via kunstig kimdannelse.

Desværre er ædelgranarterne - sammen med fyrrearterne - nogle af de vanskeligste at arbejde med. Set fra et dansk synspunkt er det naturligvis ærgerligt, da Nordmannsgran til juletræsproduktion er den ideelle kandidat til klonskovbrug. Internationalt set er interessen i de øvrige nåletræsslægter - gran, fyr, lærk - dog betydeligt større end i ædelgranslægten, og derfor er vi i Danmark henvist til at lave vores forskning stort set alene.

## Nye perspektiver for kemisk ukrudtsbekæmpelse

Af Paul Christensen, Forskningscentret for Skov & Landskab

Forskningscentret  
for Skov & Landskab



### Baggrund

Ved Miljøstyrelsens revurdering af alle bekæmpelsesmidler på det danske marked i løbet af de sidste par år har skovbruget og især juletræsdyrkerne oplevet en ændring i udbuddet af herbicider. En række af de gammelkendte jordherbicider er fundet for risikable ud fra en miljømæssig vurdering. De kommende år vil sandsynligvis bringe yderligere en række ændringer i udvalget af herbicider. Nogle af de midler, der slap igennem nåleøjet i første omgang, har fået pålagt

at stille med en ny dokumentation inden for de næste par år. Det er nok usikkert, om alle midlerne med denne nye dokumentation kan opfylde myndighedernes krav om miljøforhold.

### Nye midler

På denne baggrund var det naturligt at søge efter nye herbicider, der kunne erstatte de gamle, der glider ud. Der synes dog ikke at være mulighed for et hurtigt gennembrud ad denne vej. Grundene hertil er enten, at interessante midler er et godt stykke vej fra en registrering i Miljøstyrelsen, eller at kemikaliefirmaernes udenlandske moderselskaber af forskellige grunde ikke ønsker at markedsføre midlerne til skov og juletræer.

### Gamle midler i nye sammenhænge

Der synes derfor at være en hurtigere mulighed for at løse problemerne ved at efterligne landbruget og anvende Roundup i små doseringer på meget små ukrudt tidligt om foråret.

Forskningscentret for Skov & Landskab anlagde i foråret 1992 to serier Roundup-forsøg på nordmannsgran, finansieret af Dansk Skovforening og Pyntegrøntsektionen. I den ene serie blev afprøvet "normale" Roundup-doseringer på forskellige tidspunkter fra midt i april og frem til midten af maj, hvor træerne begyndte at springe ud. I den anden serie blev udbragt små doseringer (mellem 0,1 og 1,0 liter Roundup pr. ha) på forskellige tidspunkter fra 1. maj og frem til 1. juli -