

SLUTTRAPPORT TILVEKSTEFFEKTER HOS FOREDLET FURU

Prosjektperiode:
15.08.2020 – 31.12.2022

Prosjekteier:
Glommen
Mjøsen Skog
SA v/Sverre
Holm

Prosjektleder: Hanne K.
Sjølie, Høgskolen i
Innlandet

Forfattere

- Hanne K. Sjølie, Høgskolen i Innlandet
- Rob Wilson, Høgskolen i Innlandet

Samarbeidspartnere

- Marie Kalstad, Bachelor-student HINN
- NMBU
- Nibio
- Skogfrøverket
- Skogforsk Sverige

Kostnader og finansiering

PÅLØPTE KOSTNADER		
Kostnadspost	Beløp	Andel (%)
Genotyping og sekvensering	533 410	58.0
Interne timer Glommen Mjøsen Skog SA	78 915	8.6
Tid Høgskolen i Innlandet	307 000	33.4
SUM kostnader	919 325	100.0
FINANSIERING		
Aktør	Beløp	Andel (%)
NMBU	152 853	16.6
Skogtiltaksfondet	450 000	48.9
Glommen Mjøsen Skog SA	9 472	1.0
Høgskolen i Innlandet	307 000	33.4
SUM finansiering	919 325	100.0

Prosjektets mål

Hovedmål

Beregne forskjeller i tilvekst mellom foredlet og stedegen foryngelse av furu.

Delmål

1. Identifisere såkalte (epi)genetiske markører ved å trekke ut og sekvensere DNA fra barnålprøvene for å avdekke forskjeller i DNA-metylering mellom trær. På denne måten kan vi fastslå hvilke trær som er naturlig forynget og hvilke som er fra foredlet materiale.
2. Utføre statistiske analyser av forskjeller i tilvekst (total tilvekst og årlig tilvekst) mellom naturlig foryngete trær og trær fra foredlete frø.
3. Utføre økonomiske analyser av lønnsomhet av foredlet plantemateriale
4. Formidle funnene i vitenskapelige og skogfaglige fora

Sammendrag

Vi har sammenlignet tilvekst hos naturlig foryngete furu og foredlet furu med samme vekstvilkår, totalt 296 trær. Ved hjelp av epigenetiske metoder har vi kartlagt opphavet til hvert tre. Vi fant ingen statistisk signifikante forskjeller i total tilvekst og årlig tilvekst, og diskuterer mulige årsaker til funnene. Vi har laget en løype for genetiske og epigenetiske analyser av furu som vil komme foredlings- og foryngelsesarbeid i skogbruket til gode.

Bakgrunn

I Norge plantes det årlig mer enn 40 millioner skogsplanter¹. Det aller meste av dette er gran, men planting av furu har hatt et lite oppsving de siste femten årene og nå plantes det ut nesten 2 millioner furuplanter årlig^{1,2}. Siden det er begrenset tilgang på foredlet furumateriale i Norge, importeres planter og såfrø fra Sverige.

Selv om vi vet at plantene fra svenske frøplantasjer vokser bedre enn de naturlig foryngete svenske plantene, har vi lite kunnskap om hvordan det svenske materialet vokser når det sås i Norge. Hvorfor skulle det være forskjellig? Årsaken finner vi i det vi kaller for epigenetikk. Genene til frøet er arvematerialet som koder for ulike egenskaper, som tilvekst. Men ikke alle genene er 'skrudd på' alltid. Når et frø flyttes fra sitt opprinnelsessted og sås i et annet miljø, kan denne miljøendringen gjøre at andre gener skrur av og på. Derfor kan man ikke være sikker på at tilveksteffekten observert et sted vil være den samme hvis man flytter plantematerialet til et område med et annet klima.

Prosjektets mål var å undersøke forskjeller i tilvekst mellom foredlet og stedegen furu i etablerte bestand (hogstklasse II) som ble sådd med foredlet plantemateriale fra Sverige og som også har et innslag av naturlig foryngelse. Prosjektet ble initiert av Glommen Mjøsen Skog, som hadde tilgang til bestand med sådde trær og informasjon om bestandshistorikk.

Beskrivelse av arbeidet



Figur 1: Markerte rektangulære prøveflater.
Bilde: Marie Kalstad.

Det ble hentet inn data fra fire bestand i Solør i Innlandet. For å fastslå hvilke trær som er stedegne og fra foredlet materiale, identifiserte vi epigenetiske markører i DNA, som analyseres fra barnålene av de målte trærne. De sådde individene var av Sollerön-opprinnelse fra svenske frøplantasjer. Det ble utviklet en feltinstruks for innhenting av data fra prøvetrærne. Alle bestandene var markberedte og sådd i striper (Figur 1) og prøveflatene ble derfor anlagt i rektangler slik at de fulgte stripene. To av bestandene var frøtrestillinger og i de to øvrige bestandene (brannflater) var det enkelte store trær som kunne fungere som frøtrær. Bestandene var sådd i perioden 2011-2013. Prøveflatene ble tilfeldig lagt ut, men ikke innenfor påvirkningssonen av frøtrær. Innenfor prøveflatene inngikk alle trær som ikke var merkbart skadet, undertrykt, beitet eller yngre enn fem år som prøvetrær. Årlig høydetilvekst og alder basert på kvistkranser ble målt i tillegg til flere andre variabler.

Det ble dessuten innhentet et sett barnåler fra hvert prøvetre som ble lagt på flytende nitrogen. Totalt ble det innhentet data fra 320 prøvetrær. Trærne ble nummerert

¹ Skogfrøverket (s.a.) Leverte skogsplanter fra norske skogplanteskoler 1994-2001.

<https://www.skogfroverket.no/bibliotek/?file=2022/09/Planteskolestatistikk-2021.pdf>

² Øvergård, T og Hansen, KH (2021) Planting og såing av furu – Skogkurs veileder. Skogkurs. 19 s.

<http://www.skogtiltakfondet.no/userfiles/files/Prosjektrapporter/2021/2019-15%20Veileder%20planting%20og%20s%C3%A5ing%20av%20furu.pdf>

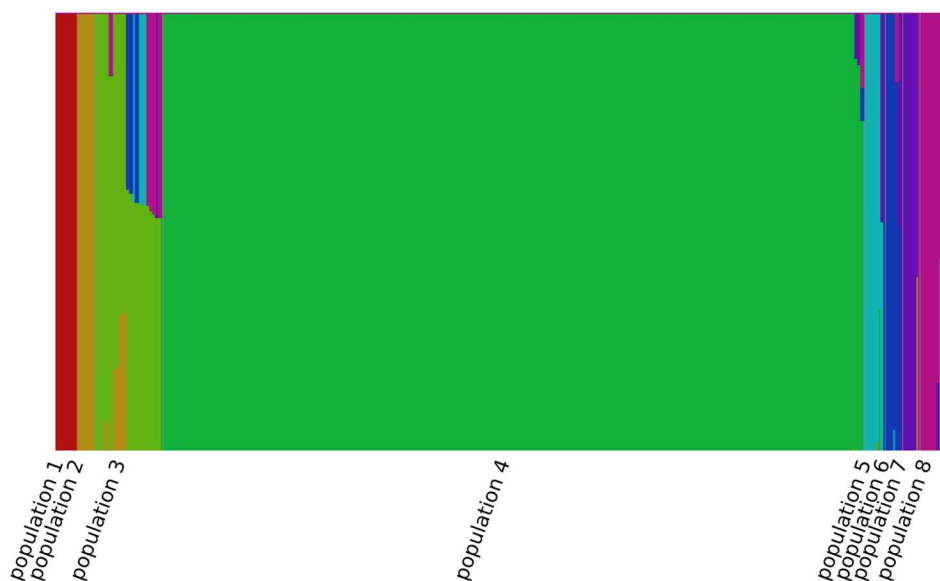
slik at de kan følges opp senere. Dette arbeidet ble gjort av Marie Kalstad, som del av hennes bacheloroppgave.

Resultater

Opprinnelse

For å kunne gjøre en objektiv sammenligning av tilveksten hos foredlete versus naturlige foryngete planter, måtte vi først bestemme hvilke planter som var naturlige foryngete og hvilke som var fra frøplantasjen. For å få til det, kartla vi genene på bestemte steder i deler av DNA-sekvensen i prøver fra hver av de 300 trærne som vi hadde nok materiale til, såkalte SNPer (for "single nucleotide polymorphisms", eller enkeltnukleotide polymorfismer på norsk). Til dette arbeidet ble det brukt en ny matrise laget i laboratoriet til Tanja Pyhäjärvi ved universitetene i Oulu og Helsinki (i samarbeid med NIBIO på Ås)^{3,4} som muliggjør deteksjon av 43 000 slike SNPer, de fleste lokalisert i uttrykte gener hos furu.

De genetiske resultatene viste at vi tydelig har åtte grupper/populasjoner, hvorav én veldig stor gruppe med 240 individer (Figur 2) som har spirt fra Sollerön-frø (Populasjon 4, som vises med lysgrønn farge). Siden en liten andel av Sollerön-plantene kommer fra kongler som ble sanket på den norske siden av grensen, valgte vi å utelukke fire individer som skilte seg ut fra de 236 andre. Dermed kunne vi slå fast at av de 296 trærne var 60 (20 %) norske og 236 (80 %) svenske. De to brannflatene og bestandet Storvelta hadde størst andel rene svenske individer, mens Grætvikskogen hadde færrest, sannsynligvis fordi der var det flere gjenstående norske frøtrær.



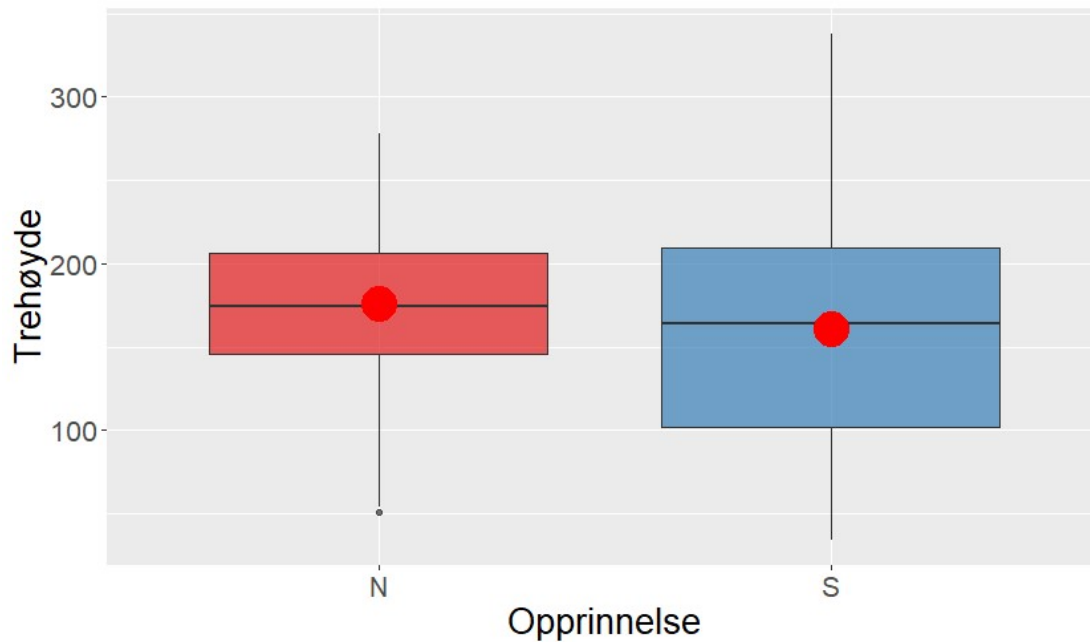
Figur 2: En Structure plott som grupperer de 300 furu trærne inn i 8 populasjoner basert på 43 000 analyserte polymorfe DNA-posisjoner kalt SNPer. Gruppe 4 er størst med 236 trær som har spirt fra Sollerön-frø.

³ Ojeda DI et al. (2019) Utilization of Tissue Ploidy Level Variation in de Novo Transcriptome Assembly of Pinus sylvestris. G3 (Bethesda) 9 (10): 3409-3421. doi.10.1534/g3.119.400357

⁴ Kastally C et al. (2022) Taming the massive genome of Scots pine with PiSy50k, a new genotyping array for conifer research. The Plant Journal 109: 1337–1350 doi.org/10.1111/tpj.15628

Tilvekst

Som Figur 3 viser, er gjennomsnittlig totalhøyde for de to populasjonene omtrent lik. Gjennomsnittlig totalhøyde for naturlig foryngete planter er 175,7 cm og 160,6 cm for Sollerön. Variasjonen er stor i begge populasjoner.



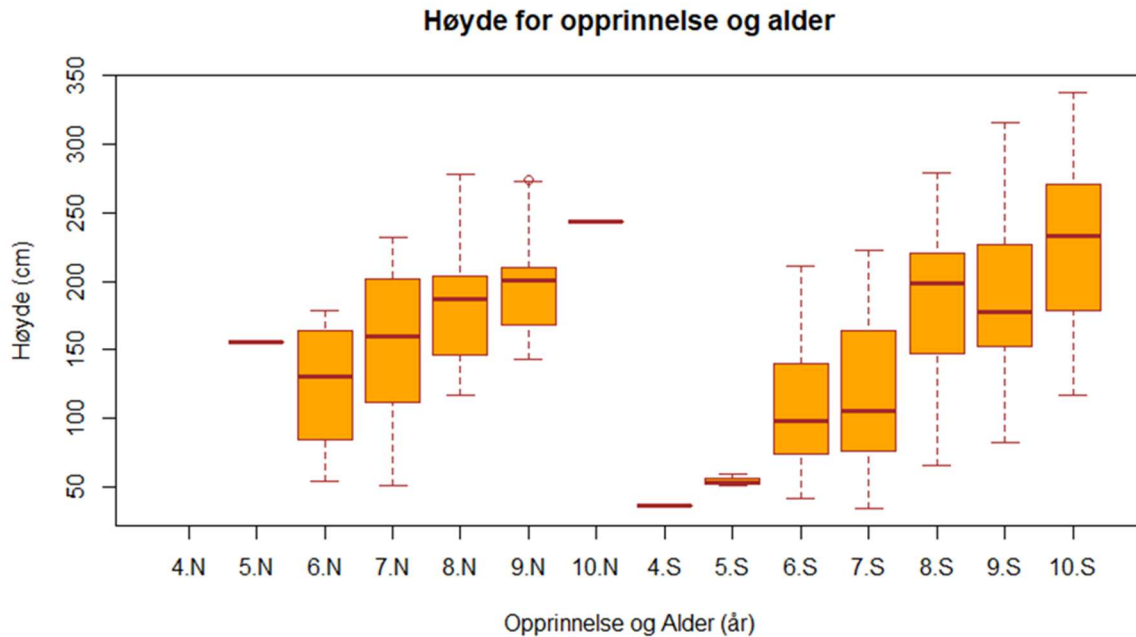
Figur 3: Boxplot av naturlig (N) vs. Sollerön (S). De tre strekene i 'boksen' viser første, andre (median) og tredje kvartil og prikk viser gjennomsnitt. De vertikale strekene viser minimums- og maksimumsverdier i dataene.

Vi vurderte trærnes alder basert på kvistkranser. Tabell 1 viser at de fleste naturlige foryngete trærne var åtte år gamle, mens de fleste Sollerön-frøene spirte over en femårsperiode for 6 til 10 år siden (Tabell 1).

Tabell 1: Fordeling av alder mellom de to opprinnelsene. Prosent.

Alder (år)	Naturlig	Sollerön
4	0.0	0.4
5	1.7	1.3
6	10.0	19.5
7	21.7	20.3
8	43.3	20.3
9	21.7	20.8
10	1.7	17.4
SUM	100.0	100.0

Vi sammenlignet også høyde for alder, siden spiretidspunktene varierte. Figur 4 viser sammenligning av totalhøyde for opprinnelse og alder, hvor N = naturlig og S = Sollerön og tallene viser alder i år. Det er ingen merkbar forskjell mellom de to opprinnelsene. Det er heller ingen trender som kan avdekkes i variasjonen i individers høyde mellom de to populasjonene.



Figur 4: Boxplot av naturlig (N) vs. Sollerön (S) og alder i år. De tre strekene i 'boksene' viser fordelingen av trær i første, andre (median) og tredje kvartil. De vertikale strekene viser minimums- og maksimumsverdier i dataene.

Inntil 142 SNPer i uttrykte gener, i recessive, dominante eller genotypiske modeller, viste meget sterk statistisk assosiasjon ($p \leq 0.01$) med avlstrekket tilvekst. Arbeidet er underveis for å avgjøre om vi kan skille mellom markører som er assosiert med tilvekst under ulike klimaforhold som temperatur og nedbørsmengde i sommermånedene. En såkalt geneontologi-analyse skal utføres for SNP-markører som ligger i uttrykte gener som er assosiert til tilvekst generelt, men også under kontrasterende klimaforhold i vekstsesongen. Denne type analyser vil bidra til å gruppere gener i henhold til deres biologiske og molekylære funksjon, noe som vil gi innblikk i mulige mekanistiske forklaringer om deres assosiasjon med tilvekst. For å undersøke om det kan også være epigenetiske markører tilknyttet evne til tilvekst hos furu, herunder også om det er forskjell mellom svenske og naturlig norske individer, har vi sendt DNA-prøver fra 15 trær (8 svenske og 7 norske) med høy tilvekst og 15 trær (samme opprinnelsesfordeling) med lav tilvekst inn til DNA-metyleringsanalyse. Vi jobber videre med disse epigenetiske analysene sammen med de genetiske markørene assosiert med tilvekst og klima.

Diskusjon og videre arbeid

Basert på denne studien kan vi ikke slå fast at det er en foredlingsgevinst i dette Sollerön-frømateriallet når det blir sådd i Solør. Såing har vært viktig for sikring av foryngelsen, ikke minst på grunn av beitetrykk av elg, men vi kan ikke si at å så med foredlet materiale gir annen effekt enn å så med bestandsfrø. Frøplantasjene som har levert Sollerön-frøene viser at foredling gir bedre tilvekst, og det er et åpent spørsmål hvorfor vi ikke finner den samme effekten her. Det kan være forårsaket av epigenetikken, altså hvilke gener som 'slås' av og på ved flytting av materialet. Forsøkene og oppfølgingen i frøplantasjene gir antagelig andre vekstvilkår enn i bestandene, og det kan være en medvirkende årsak. Det var veldig mye beiteskader fra elg i området. Vi målte ikke skadde trær, men vi vet ikke om dette har gjort at tallmaterialet er blitt skjevt på en måte.

Det satses på furuforedling og foryngelse av foredlet materiale. Da er det viktig at skogbruket har god dokumentasjon av de faktiske effektene under 'vanlige' forhold. Flere slike analyser bør derfor gjøres for ulike voksesteder for å gi et bedre beslutningsgrunnlag for investeringer i foryngelse.

Vi har i prosjektet laget en 'løype' slik at det blir lettere i framtiden å gjøre denne typen analyser. De fire prøveflatene er merket for å kunne følges opp av Skogfrøverket i mange år framover. De epigenetiske effektene må ikke undervurderes når plantemateriale flyttes og mer kartlegging av tilvekst og andre viktige egenskaper, vil gi økt treffsikkerhet på bruk av foredlet materiale.

Arbeidet med å bruke 43 000 SNP-markører for å skille svensk fra naturlig norske individer gir også merverdi i form av påviste genetiske varianter av uttrykte gener som assosieres sterkt med avlstrekket tilvekst, slik at man vil da ha en tofoldig verktøykasse for foredling av furu i Norge fremover, basert både på genetikk og epigenetikk.

Formidling

Prosjektets resultater har blitt formidlet gjennom ett foredrag og en populærvitenskapelig artikkel:

Kalstad, M. 2022. Høydetilvekst hos furu (*Pinus sylvestris*). Bachelor-oppgave, Fakultet for Anvendt økologi, landbruksfag og bioteknologi, Høgskolen i Innlandet

Sjølie, HK, Wilson, R, 2023. Vokser like godt. Manuskript. Avventer trykking i Norsk Skogbruk

Wilson, R. 2023. Tilveksteffekter hos foredlet furu – med fokus på genetikk og epigenetikk. Fellessamling Skogkulturavdelingen i Glommen Mjøsen Skog. 8. feb. 2023, Biohuset, Campus Hamar