



SKOGSMÄSTARPROGRAMMET
Examensarbete 2018:14

Jämförelse av tillväxtrytm mellan somatiska plantor och fröplantor av gran – en studie av tre fältförsök

*A comparison of growth rhythm between somatic plants and
zygotic plants of Norway spruce
A study of three field trials*



Alfred Smedberg

Examensarbete i skogshushållning, 15 hp
Serienamn: Examensarbete /SLU, Skogsmästarprogrammet 2018:14
SLU-Skogsmästarskolan
Box 43
739 21 SKINNSKATTEBERG
Tel: 0222-349 50

Jämförelse av tillväxtrytm mellan somatiska plantor och fröplantor av gran – en studie av tre fältförsök

A comparison of growth rhythm between somatic plants and zygotic plants of Norway spruce –
A study of three field trials

Alfred Smedberg

Handledare: Daniel Gräns, SLU Skogsmästarskolan

Examinator: Eric Sundstedt, SLU Skogsmästarskolan

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Självständigt arbete (examensarbete) med nivå och fördjupning G2E med möjlighet att erhålla kandidat- och yrkesexamen

Kurstitel: Kandidatarbete i Skogshushållning

Kurskod: EX0624

Program/utbildning: Skogsmästarprogrammet

Utgivningsort: Skinnskatteberg

Utgivningsår: 2018

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Serienamn: Examensarbete/SLU, Skogsmästarprogrammet

Serienummer: 2018:14

Omslagsbild: Försök S21E1521457 Remningtorp. Foto: Alfred Smedberg.

Nyckelord: Somatisk embryogenes, Picea abies, skottskjutning, prolepsis



Sveriges lantbruksuniversitet
Skogsvetenskapliga fakulteten
Skogsmästarskolan

FÖRORD

Denna rapport har skrivits som en kandidatuppsats på Skogsmästarskolan och studien har gjorts i samarbete med Skogforsk, Ekebo.

Syftet med arbetet var att utreda om granplantor, som förökats via somatisk embryogenes, avvek gällande skottskjutning jämfört med plantor som producerats med traditionell förökningsmetod.

Under utbildningen har jag fått en bred inblick i skogsbruk. Att få genomföra en studie i samarbete med Skogforsk såg jag som en bra lärdom i akademiskt arbete.

Jag vill tacka min uppdragsgivare Karl-Anders Högberg på Skogforsk för bra vägledning under arbetet. Ett stort tack också till min handledare Daniel Gräns för goda synpunkter. Tack dessutom till prefekt Staffan Stenhag på Skogsmästarskolan för vägledning i statistiken.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

FÖRORD	iii
INNEHÅLLSFÖRTECKNING	v
ABSTRACT	1
1. INLEDNING	3
1.1 <i>Varför förädla träd för skogsbruk?</i>	3
1.2 <i>Somatisk embryogenes</i>	4
1.3 <i>Fenotypisk variation</i>	5
1.3.1 <i>Skottfenologi</i>	5
1.3.2 <i>Proleptis/sylleptis</i>	5
1.3.3 <i>Fenologiska studier av somatisk embryogenes</i>	6
1.5 <i>Avgränsningar</i>	7
2. MATERIAL OCH METODER	9
2.1 <i>Fältförsök</i>	9
2.2 <i>Krutzsch skottskjutningsindex</i>	11
2.3 <i>Förekomst av proleptis</i>	11
2.4 <i>Statistiska beräkningar</i>	12
2.4.1 <i>Skottskjutningsindex</i>	12
2.4.2 <i>Förekomst av proleptis</i>	13
3. RESULTAT	15
3.1 <i>Skottskjutningsindex</i>	15
3.2 <i>Proleptis</i>	16
4. DISKUSSION	19
4.1 <i>Skottskjutningsindex</i>	19
4.2 <i>Proleptis</i>	19
4.3 <i>Felkällor</i>	21
4.4 <i>Vidare forskning</i>	21
5. SAMMANFATTNING	23
6. REFERENSLISTA	25
6.1 <i>Publikationer</i>	25
6.2 <i>Internetdokument</i>	26
7. BILAGOR	27

ABSTRACT

Somatic embryogenesis (SE) has the potential to become a useful vegetative propagation method within the Swedish forest tree breeding programme. During the process of propagation, a loss of genotypes results in an uneven production of plants per clone. The purpose of this study was to investigate the possible effects of such variation on the phenology of somatic and zygotic plants.

In the measured field trials, SE-propagated plants and seedlings from 49 half-sibling families of Norway spruce, *Picea abies*, were compared. Shoot flushing was assessed in spring 2017 and the frequency of proleptic shoots was investigated in autumn 2017. Shoot flushing was analysed using a t-test and the frequency of prolepsis was analysed using a χ^2 – test.

The results showed that somatic plants and zygotic plants did not differ in shoot flushing. The frequency of prolepsis differed among the field trials. One out of three field trials showed significantly higher frequency of prolepsis. The appearance of prolepsis was higher amongst zygotic plants than somatic plants in all the field trials.

1. INLEDNING

Kapitlet inleds med en kort genomgång av grunderna i skogsträdsförädling för att sedan mer ingående beskriva metoden somatisk embryogenes (SE). Därefter beskrivs granplantornas fenologi som kommer att vara central i fältförsöken. Sedan skildras resultat från tidigare studier och avslutningsvis redogörs för vilka frågeställningar som ska avhandlas.

1.1 Varför förädla träd för skogsbruk?

Trakthyggesbruk med föryngringsavverkning är för närvarande det helt dominerande skogsbrukssättet i Sverige. Innebörden är att skogsskötsel bedrivs för att få så likåldriga bestånd som möjligt för att underlätta avverkning och föryngring. Plantering är den dominerande föryngringsmetoden (Andersson m.fl., 2013). I dagens skogsbruk i Sverige är efterfrågan högre än tillgången på plantagefrön av rödgran, *Picea abies*. År 2014 täckte plantagefrö omkring 75 procent av fröbehovet för gran (Rosvall m.fl., 2016).

Syftet med skogsträdsförädling är att framställa plantor med bättre tillväxt, högre motståndskraft och förbättrad stamkvalitet. År 2004 visade Rosvall m.fl. att de bästa tillgängliga förädlade plantorna genererade 15 till 20 procent bättre tillväxt jämfört med oförädlad material. Enligt Rosvall och Lundström (2011) skulle tillväxtökningen genom förädlade plantor kunna öka ytterligare om nuvarande brist på granplantagefrö kunde avhjälpas och om hela den areal som är tillåten för vegetativt förökade granplantor utnyttjades.

Förädlade träd har visat sig ha högre överlevnad och bättre kvalitetsegenskaper. Förbättrad stamkvalitet på förädlade plantor kan urskiljas, till exempel rakare stam och större grenvinkel (Rosvall m.fl., 2016). Samtidigt har kritik riktats mot förädlade plantor då det finns risk för försämrade virkeskvalitet, minskad genetisk variation och minskad motståndskraft mot sjukdomar och klimatförändringar (Hannerz & Cedergren, 2010).

Förädling möjliggörs genom att trädindivider med fördelaktiga egenskaper selektivt väljs ut. Inledningsvis sker ett urval av så kallade plusträd, vilket är utvalda träd med fördelaktiga egenskaper. Under det första skogsträdsförädlingsprogrammet i Sverige på 1950-talet valdes plusträd ut i naturskogarna. Dessa plusträd planterades i form av ympar i fröplantager för att producera frö för plantframställning. På 1960-talet korsades dessa plusträd och genetiska avkommeförsök anlades. Den första plantageomgångens frö resulterade i träd med upp till cirka 10 procent högre tillväxt jämfört med lokalt oförädlad material (Rosvall m.fl., 2016).

Under 1980-talet påbörjades den andra plantageomgången. För att öka den genetiska basen valdes ytterligare plusträd ut för ympning till fröplantager.

Dessutom togs ett urval av de bästa plusträden från den första plantageomgången. Medeltillväxten är för plantor från den andra plantageomgången 10 till 20 procent högre jämfört med lokalt oförädlad beståndsfrö (Rosvall m.fl., 2016).

Under 2000-talet har man börjat anlägga den tredje plantageomgången i Sverige. Dessa kallas för TreO-plantager. De bästa träden från första och andra plantageomgången ympas eller sticklingsförökas till TreO-plantager. Den förväntade medeltillväxten uppskattas att bli omkring 25 procent högre jämfört med lokalt oförädlad beståndsfrö (Rosvall m.fl., 2016).

För att ett förädlingsmaterial med förbättrade egenskaper ska komma skogsbruket till godo behöver det massförökas. Det kan ske generativt genom en sexuell förökning där zygotiska frön produceras i fröplantager. Alternativt kan förökning ske vegetativt där grenar ympas för att sedan planteras och på så vis skapa en ny identisk planta. Metoden kallas för sticklingsförökning (Rosvall m.fl., 2016).

De senaste metoderna inom vegetativ förökning kallas för mikroförökning. Metoden innebär att vävnadskulturer initieras och stimuleras att bilda skott eller fortsätta att växa genom behandling med växthormoner. En typ av mikroförökning är organogenes vilket är metoder där skott och rot bildas under skilda tidsperioder under förökningen. Den metod som har tillämpats för skogsbruk är främst meristemförökning (Rosvall m.fl., 2016).

En annan typ av mikroförökning är somatisk embryogenes i vilken det sker produktion av somatiska embryon från ett fröembryo. Det huvudsakliga syftet med denna studie är att genom inventering av ett antal fältförsök undersöka om plantor framställda genom somatisk embryogenes avviker från fröplantor avseende skottskjutning.

1.2 Somatisk embryogenes

Somatisk embryogenes ger möjligheten att effektivt massföröka ett plantmaterial. Istället för att låta fröet växa upp till enstaka plantor plockas dess fröembryo ut för att växa till på ett odlingssubstrat med hjälp av tillväxthormon. De somatiska embryona utvecklas till en koloni bestående av tusentals embryon. Därefter tillsätts abskisinsyra på de somatiska embryona vilket får dessa att utvecklas till mogna fröembryon som är förstadiet till en groddplanta. På så vis kan ett enstaka frö skapa ett stort antal plantor (Mo m.fl., 1995).

En koloni eller vävnadskultur kan kryolagras, dvs. vävnadskulturen fryses ned och lagras i flytande kväve vilket ger möjlighet att behålla förnyingsförmågan under lång tid. Det är en stor fördel jämfört med sticklingsförökning som kräver att materialet hålls juvenilt. En ytterligare fördel är att förökningen vid SE är en

snabb process. En del kloner kan fördubbla mängden vävnad på två veckor (Rosvall m.fl., 2016).

Eftersom SE kräver många manuella moment för dess hantering av embryon och plantor blir kostnaden hög. Detta är den stora nackdelen för flera av mikroförökningsmetoderna. Forskning pågår för att ta fram en automatiserad metod vid hantering av embryon (Rosvall m.fl., 2016).

Vid massförökning genom SE sker ett bortfall av genotyper och fördelningen av antalet plantor per klon är ojämn. Förökningsmetoden innefattar ett antal steg i laboration vilket succesivt reducerar andelen somatiska embryon som bildar plantor. Enligt Högberg m.fl. (1998) visar en studie på att omkring 10–20 procent av det ursprungliga antalet embryon bildar mogna embryon. Frågan är om denna selektion påverkar viktiga skogliga egenskaper och om därmed SE-plantor avviker från andra förökningsmetoder.

1.3 Fenotypisk variation

Fenologi handlar om återkommande faser i naturen. Fenologiska studier innebär att urskilja trädens reaktioner på årstider. Den skillnad vi ser eller kan mäta mellan trädindivider kallas för fenotypisk variation. Dessa uppstår genom en kombination av genetik och miljö. I ett förädlingsprogram är skottfenologin avgörande för förädlingsmaterialets långsiktiga tillväxt, överlevnad och anpassning. Skottfenologin avgörs av framför allt skottskjutningstidpunkt, invintring och utveckling av sensommarskott (så kallade proleptiska skott). Skillnader i skottfenologi kan få allvarliga konsekvenser som t.ex. hög frekvens av frostsador (Skogforsk, 2015, Länk A).

1.3.1 Skottfenologi

Tillväxt för gran sker genom en process där knoppvila övergår till skottsträckning för att sedan återgå till knoppvila. Tillväxten sker i form av celldelning och cellsträckning. Skottets synbara yttre utveckling inleds med knoppsprickning och följs av skottskjutning. Växtsäsongens tillväxtavslutning sker genom en övergående process från skottsträckning till knoppbildning (Skogforsk, 2015, Länk A).

1.3.2 Prolepsis/syllepsis

I huvudsak sker endast en skottskjutning för gran under tillväxtsäsongen. Däremot kan ytterligare en skottskjutning ske bland unga träd. Fenomenet kallas för prolepsis eller syllepsis och innebär att knoppanslag bryter ut på nytt under växtsäsongens slutskede. Dessa skott tillväxer under sensommar och höst vilket försenar invintringen och ökar risken för frostsador (Søgaard m.fl., 2011). Enligt Wühlisch och Muhs (1985) är prolepsis en ungdomsföreteelse som avtar med

ökad ålder. I deras studie jämfördes ett- till fyraåriga granplantor och resultatet visade på att prolepsis avtar med ökad ålder.

Förädlade plantor tenderar att utveckla proleptiska skott i högre utsträckning än oförädlade. Anledningen kan vara att förädlade plantor är ofta framtagna för att uppnå en hög tillväxt. Cannell och Johnstone (1978) visade att det fanns en korrelation mellan förekomst av prolepsis och ökad höjdtillväxt hos förädlad sitkagran i Storbritannien under de första 6 åren efter plantering på gynnsam mark. Dessutom har högre bonitet visat sig ge upphov till fler proleptiska skott (Søgaard m.fl., 2010).

I Gusthalins (2017) examensarbete jämfördes förädlade granplantor med oförädlade på två områden i södra Sverige. Resultatet visade att förädlade plantor på området med högst bonitet hade högst andel proleptiska skott. Ökad trädhöjd var en möjlig förklaring till högre andel proleptiska skott.

Enligt Wu och Hinckley (2001) skiljer sig prolepsis från sylleptis genom att det förstnämnda är skott som utvecklas från axillärknoppar efter vila medan sylleptis är skott som utvecklas från axillärknoppar utan vila. I denna rapport benämns dessa sensommarskott som prolepsis för enkelhetens skull.

1.3.3 Fenologiska studier av somatisk embryogenes

Eftersom det sker en selektion i förökningsmetoden vid SE är det väsentligt att utreda ifall detta får några konsekvenser för plantorna.

Before SE can be introduced into forest regeneration programs, we need to determine the physiological and morphological attributes of somatic plants and to assess how these attributes compare with those of normal zygotic seedlings of the same families.

(Lamhamedi m.fl., 2000, s. 869)

Tidigare forskning visar på att kloner från somatiska embryon inom samma familj tenderar att ha en större fenologisk spridning än motsvarande zygotiska frön inom samma familj. Lamhamedi m.fl. (2000) visade i en studie på vitgran (*Picea glauca*) att skillnaderna hos plantor inom en familj var större mellan dem som härstammade från somatiska frön, än de som härstammade från zygotiska frön. Skillnaderna gällde för parametrarna höjd, rothals, torrsbstanshalt i barren och grentjocklek. Studien gjordes på fyra familjer representerade av vardera tre kloner och motsvarande zygotiska plantor.

En ytterligare studie av O'Neill m.fl. (2005) på 11 helsyskonfamiljer av vitgran (*Picea glauca*), engelsmannsgran (*P. Engelmannii*) samt dess hybrid, indikerade att skillnaden i tillväxt mellan fröplantor och SE-plantor var relativt liten. Efter de första två åren var fröplantor signifikant högre än SE-plantor men därefter minskade skillnaden. Tillväxtbanorna ansågs vara parallella efter de första två åren.

Högberg (2017) visade att SE-plantor och fröplantor generellt inte skiljde sig åt vad gäller skottskjutningstidpunkt. Dock uppstod signifikanta skillnader mellan oklippta fröplantor (d v s fröplantor som inte blivit klippta för vidare sticklingsförsök) och klippta fröplantor samt SE-plantor. De oklippta fröplantorna hade en senare skottskjutningstidpunkt. Inventeringen av skottskjutning gjordes tidigt vilket resulterade i låga medelvärden för skottskjutningsindex.

Vidare visade Högberg (2017) att fröplantor hade en högre andel proleptiska skott jämfört med SE-plantor. Frekvensen var 30 procent för fröplantor och 15 procent för SE-plantor. Skillnaden var signifikant på 95-procentsnivå. Högbergs studie baseras på en inventering år 2016 av Remningstorps fältförsök som också utgjorde underlag för denna studie.

1.5 Avgränsningar

I denna studie undersöks utifrån fältförsök anlagda av Skogforsk, inventerade under fältsäsongen 2017, om det går att urskilja någon fenotypisk variation bland fröplantor och SE-plantor från samma familjer. Fältundersökningen fokuserar på skottskjutning och förekomst av proleptiska.

Frågeställningar som rapporten avhandlar är:

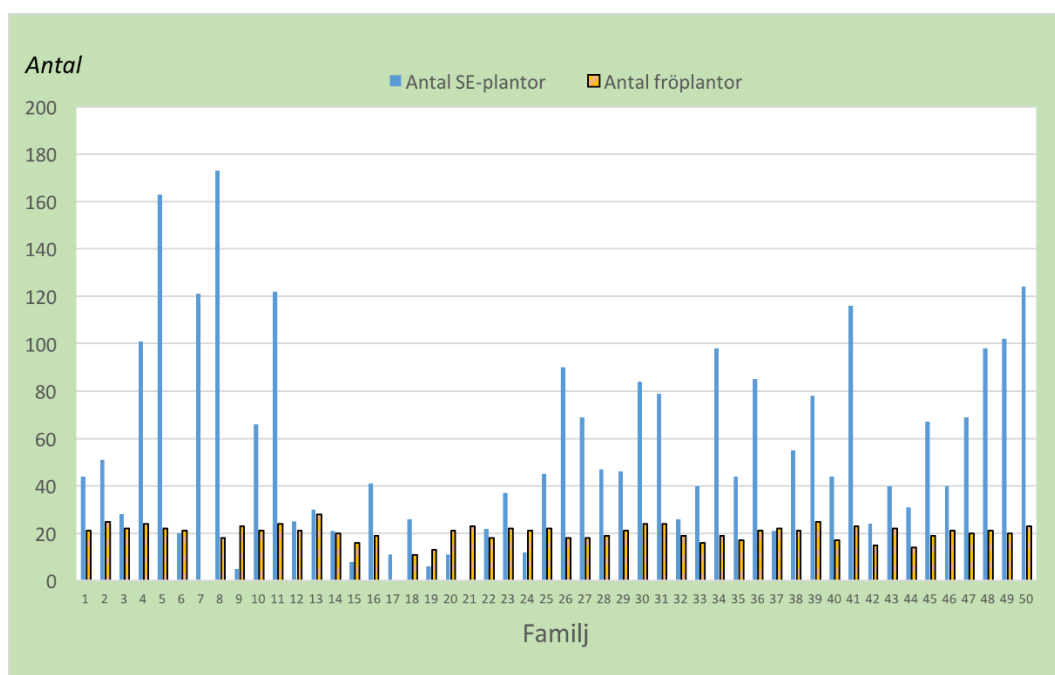
- *Går det att urskilja någon signifikant skillnad i skottskjutning mellan fröplantor och SE-plantor från samma familjer bland gran?*
- *Går det att urskilja någon signifikant skillnad i frekvens av proleptiska mellan fröplantor och SE-plantor från samma familjer bland gran?*

2. MATERIAL OCH METODER

I detta kapitel redogörs kring materialet för rapportens studie. Därefter förklaras vilka metoder och statistiska beräkningar som ligger till grund för resultatdelen.

2.1 Fältförsök

För att utreda frågan om eventuell selektion sker i samband med förökning genom somatisk embryogenes påbörjade Skogforsk ett projekt hösten 2011 där fröplantor och SE-plantor av gran från samma familjer jämfördes. Friavblommade kottar samlades in från 50 halvsyskonfamiljer i Skogforsks arkivplanteringar vid Ekebo forskningsstation. Familjernas moderkloner utgjordes av plusträd valda 1979-1983 eller kloner från klonskogsbruksprojekten under 1980-talet. I processen från initiering till insättning av plantor i fryslager uppgick bortfallet av cellinjer till 74 procent. En familj föll bort vilket innebar att 49 familjer med totalt 541 kloner återstod. Antalet kloner per familj varierade kraftigt (se figur 2.1). Det blev en ojämn fördelning med flertalet kloner med få plantor samt ett fåtal kloner med många plantor (Högberg, 2015).



Figur 2.1 Totalt antal SE-plantor och fröplantor från respektive familj för samtliga fältförsök år 2017.

Groning och tidig plantutveckling vid SE-förökningen skiljde sig både mellan olika kloner och för individer inom en klon. Det medförde att acklimatiseringen sträckte sig över en lång period och följden blev att plantorna var olika stora när samtliga var acklimatiserade. Trots att intentionen i ett försök är att undvika att manipulera materialet i största möjliga mån, toppbeskars de högsta SE-plantorna för att uppnå jämnhet i plantstorlek (Högberg, 2015).

Våren 2015 anlades tre fältförsök vid Remningstorp i Västergötland samt Toresbo och Åsmundsryd i Småland (se figur 2.2). Boniteten är G31 för Remningstorp, G33 för Toresbo och G31 för Åsmundsryd. Totalt planterades 3867 plantor från 49 halvsyskonfamiljer av gran. Av dessa utgjordes 2872 av SE-plantor fördelade på 541 kloner. De resterande 995 plantorna utgjordes av fröplantor. För vidare sticklingsförsök klipptes samtliga SE-plantor och 60 procent av fröplantorna. Därav bestod fältförsöket av planttyperna: SE-plantor, klippta fröplantor och oklippta fröplantor.



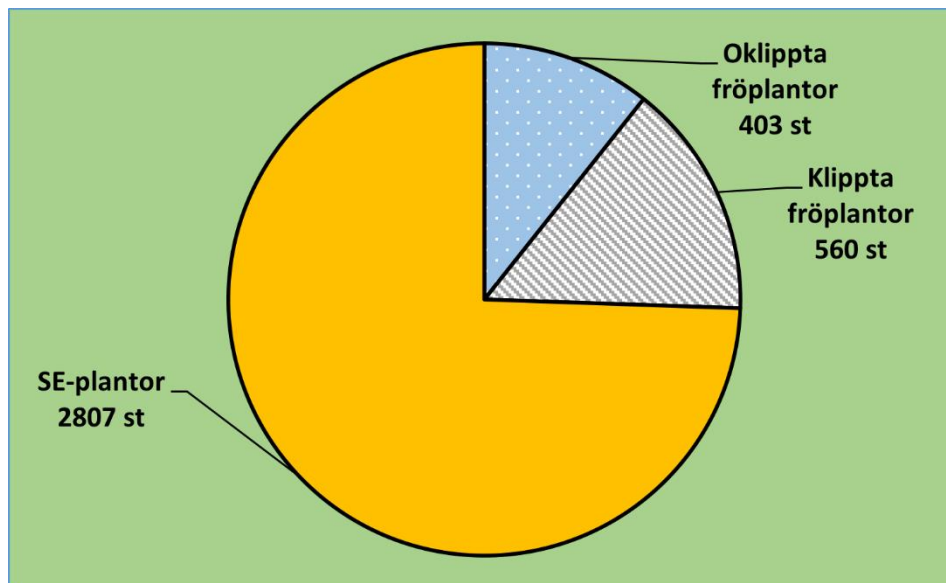
Figur 2.2 Fältförsöken med dess bonitet och plantantal år 2017. För detaljerat kartmaterial se bilaga 2.

År 2017 bestod fältförsöken i Remningstorp, Toresbo och Åsmundsryd av sammanlagt 3770 plantor. Av dessa utgjordes 2807 av SE-plantor och 963 av fröplantor (se tabell 2.1).

Tabell 2.1 Totala antalet plantor på de tre fältförsöken.

Planttyp	Antal	Överlevnad (Sedan 2015)
SE-plantor	2807	98 %
Fröplantor	963	97 %

Samtliga SE-plantor och 60 procent av fröplantorna var klippta för vidare sticklingsförsök. Resterande plantor var oklippta. Dessa tre planttyper jämfördes i studien med varandra (se figur 2.3).



Figur 2.3 Totala antalet plantor (3770 st) uppdelade i SE-plantar, oklippta fröplantor och klippta fröplantor på de tre fältförsöken.

2.2 Krutzsch skottskjutningsindex

Krutzsch skottskjutningsindex (Krutzsch, 1975) är en skala där knoppsprickning indelas i 9 olika klasser från invintrade knoppar (0) till fullt utvecklade skott (8) (se bilaga 1). Skalan används vid inventering för att mäta plantors skottskjutningstidpunkt. För ett optimalt resultat är det av vikt att utföra fältinventeringen i mitten av skottskjutningsperioden. På så vis hamnar observationerna i en spridning mellan nivåerna 3 till 6. Därmed kan resultatet visa ifall planttyper skiljer sig vad gäller skottskjutningstidpunkt. För optimalt resultat bör datainsamling göras i mitten av skottskjutningsperioden.

I juni 2017 gjordes en totalinventering avseende skottskjutningsindex på Remningstorp, Toresbo och Åsmundsryd. Plantorna kategoriserades som SE-plantar, klippta fröplantor och oklippta fröplantor.

2.3 Förekomst av prolepsis

Mätning av prolepsis gjordes under oktober 2017. Plantorna delades upp i tre klasser:

- Klass 0 = Ingen förekomst av prolepsis
- Klass 1 = Förekomst av prolepsis med korta skott ($3 > \text{cm}$)
- Klass 2 = Förekomst av prolepsis med långa skott ($3 < \text{cm}$)

Klasserna 1 till 2 användes för att ge indikation på ungefär när skottskjutning av prolepsis skedde.

Vid inventering av proleptiska användes kategorierna SE-planter och fröplanter. Därmed delades inte fröplantorna upp i två planttyper (klippta och oklippta) som vid inventeringen av skottskjutningsindex.

2.4 Statistiska beräkningar

Insamlade data från fältförsöken analyserades för att klargöra huruvida SE-planter och fröplanter skiljde sig ifrån varandra gällande skottskjutning och proleptiska skott.

Hypotes:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

Hypotesen var att det inte fanns någon signifikant skillnad mellan plantornas skottskjutningsindex och förekomst av proleptiska oavsett förökningsmetod. H_0 innebär att ingen skillnad föreligger mellan planttyperna. En förkastad nollhypotes innebär att det råder en signifikant skillnad mellan plantmaterialen.

2.4.1 Skottskjutningsindex

Formeln som användes för att jämföra medelvärden för skottskjutningsindex var följande:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2 - D_0}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

(Hogg & Tanis, 2001)

där X anger medelvärde i skottskjutningsindex för plantmaterial, S anger dess standardavvikelse och n anger antal observationer.

Nämnaren i formeln är det gemensamma medelfelet för två populationer. Formeln ger ett t-värde men eftersom undersökningen gav ett stort sampel ($n > 30$) antas att medelvärden är normalfördelade vilket innebär ett z-värde.

Detta z-värde anger sannolikheten för att differensen mellan de två stickproven inte är lika med noll. Z-värdet jämförs med det kritiska värdet $\pm 1,96$ ($p=0,05$) vilket måste överskridas eller underskridas för att kunna förkasta nollhypotesen om att två medelvärden i jämförelse med varandra är lika.

Syftet med formeln är att testa ifall medelvärdena mellan de olika planttyperna skiljer sig åt. En för stor differens mellan stickprovs medelvärde innebär en förkastad nollhypotes och därmed en signifikant skillnad mellan planttyperna.

2.4.2 Förekomst av proleptis

Skillnader i förekomst av proleptis för de olika planttyperna testades med ett Chi2-test (χ^2) på signifikansnivån 5 procent. Det är ett sambandsmått för att testa ifall det råder ett statistiskt oberoende mellan de variabler som testas. I ett Chi2-test jämförs den förväntade frekvensen med den observerade frekvensen. Chi2-test ansågs vara ett lämpligt test att använda då materialet är indelat i kategoriska frekvenser som inte kräver normalfördelning men anses ändå effektivt för att fastställa signifikanta skillnader.

Formeln som användes för att jämföra samband bland förekomst av proleptis var följande:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(\text{förväntad frekvens} - \text{observerad frekvens})^2}{\text{förväntad frekvens}}$$

(Esaiasson m.fl., 2010)

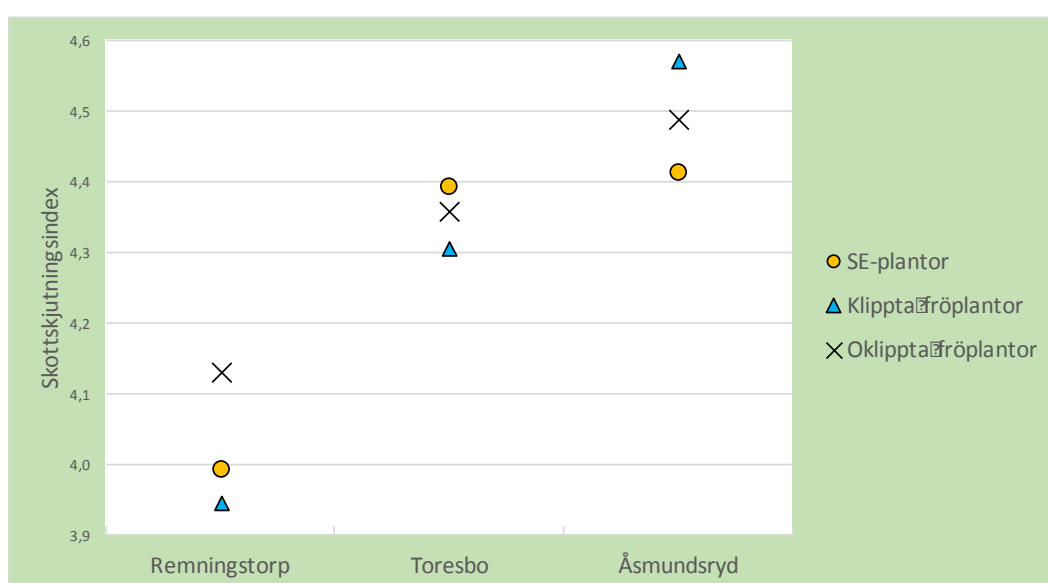
Då två variabler jämförs i formeln ges ett χ^2 – värde vilket prövas på signifikansnivån 5 procent. Antal frihetsgrader (*degrees of freedom, df*) var 2.

3. RESULTAT

I följande del presenteras resultaten från inventeringen av fältförsöken. Eftersom den geografiska fördelningen har stor betydelse för plantornas utveckling jämförs fältförsöken separat.

3.1 Skottskjutningsindex

Inventeringen av fältförsöken visade att skottskjutningen hade påbörjats tidigare i de två småländska försöken jämfört med fältförsöket i Remningstorp eftersom planttypernas skottskjutningsindex hade ett högre medelvärde (se figur 3.1).



Figur 3.1. Medelvärden för skottskjutningsindex för SE-plantor, klippta fröplantor och oklippta fröplantor på respektive fältförsök.

Vid analys av datamaterialet kunde det inte påvisas någon signifikant skillnad mellan planttypernas skottskjutningsindex. Vid jämförelse av planttyper innebar resultatet ett z-värde som understeg gränsvärdet $\pm 1,96$ på 5-procentsnivån (se tabell 3.1). Det betyder att studiens data inte kan bevisa någon signifikant skillnad mellan planttypernas medelvärden. Resultatet gällde vid jämförelse mellan alla planttyper på samtliga fältförsök.

Tabell 3.1. Jämförelse av skottskjutningsindex mellan de olika planttyperna på fältförsöken. Värdet vid jämförelse av två planttyper jämförs med det p-värde som är gränsvärde för signifikans på 5-procentsnivå.

Planttyp	Remningstorp <i>z-värde</i>	Toresbo <i>z-värde</i>	Åsmundsryd <i>z-värde</i>	p-värde: 0,05 <i>z-värde</i>
SE vs fröplantor	-0,435	0,895	-1,755	±1,96
SE vs fröplantor (k)	0,478	0,950	-1,808	±1,96
SE vs fröplantor (o)	-1,226	0,332	-0,757	±1,96
Fröplantor (k) vs fröplantor (o)	-1,359	-0,422	0,698	±1,96

Samtliga planttypers konfidensintervall (95 procent) vid respektive fältförsök överlappar varandra vilket illustreras i bilaga 3. Studien kan därmed inte bevisa att det var någon skillnad i skottskjutningsindex.

3.2 Proleptis

Andelen proleptis på Remningstorp var 21 procent för SE-plantor och 25 procent för fröplantor. Skillnaden i frekvens mellan SE-plantor och fröplantor var inte signifikant på 5-procentsnivå (se tabell 3.2).

Tabell 3.2 Förekomst av proleptis i fältförsöket Remningstorp. Genom ett chi2-test jämförs ett observerat värde med ett förväntat värde för SE-plantor och fröplantor. Med två frihetsgrader erhöles ett χ^2 -värde som jämfördes med det p-värde som är gränsvärde för signifikans på 5-procentsnivån.

Klass	SE-plantor <i>observerad</i>	SE-plantor <i>förväntad</i>	Fröplantor <i>observerad</i>	Fröplantor <i>förväntad</i>	<i>df</i>	χ^2	p=0,05	$\chi^2 > p(0,05)$
0	749	738	233	244				
1	189	201	78	66	2	4,041	5,991	Nej
2	7	6	1	2				

På Toresbo uppgick förekomsten proleptis bland SE-plantor till 13 procent och bland fröplantor till 17 procent. Skillnaden i frekvens mellan SE-plantor och fröplantor var inte signifikant på 5-procentnivå (se tabell 3.3).

Tabell 3.3 Förekomst av proleptis i fältförsöket Toresbo. Genom ett chi2-test jämförs ett observerat värde med ett förväntat värde för SE-plantor och fröplantor. Med två frihetsgrader erhöles ett χ^2 -värde som jämfördes med det p-värde som är gränsvärde för signifikans på 5-procentsnivån.

Klass	SE-plantor <i>observerad</i>	SE-plantor <i>förväntad</i>	Fröplantor <i>observerad</i>	Fröplantor <i>förväntad</i>	<i>df</i>	χ^2	p=0,05	$\chi^2 > p(0,05)$
0	793	782	258	269				
1	46	50	21	17	2	4,403	5,991	Nej
2	68	75	33	26				

Andelen proleptis på Åsmundsryd blev 33 procent för SE-plantor och 52 procent för fröplantor. Skillnaden i frekvens var signifikant på 0,1-procentnivån (se tabell 3.4). Innebörden är att resultatet från Åsmundsryd indikerar att i 99,9 procent av fallen kommer frekvensen av proleptis bland SE-plantor och fröplantor att skilja sig från varandra.

Tabell 3.4 Förekomst av proleptis i fältförsöket Toresbo. Genom ett chi2-test jämförs ett observerat värde med ett förväntat värde för SE-plantor och fröplantor. Med två frihetsgrader erhöles ett χ^2 -värde som jämfördes med det p-värde som är gränsvärde för signifikans på 0,1-procentsnivån.

Klass	SE-plantor <i>observerad</i>	SE-plantor <i>förväntad</i>	Fröplantor <i>observerad</i>	Fröplantor <i>förväntad</i>	df	χ^2	p=0,01	$\chi^2 > p(0,01)$
0	627	582	159	204				
1	204	221	95	78	2	40,058	13,816	Ja
2	111	139	77	49				

Den observerade och förväntade proleptisfrekvensen för SE-plantor och fröplantor ligger väldigt nära varandra i fältförsöken Remningstorp och Toresbo. Skillnaderna var inte signifikanta på 5-procentsnivån. Däremot avviker den observerade proleptisfrekvensen från den förväntade på fältförsöket i Åsmundsryd. Där var skillnaden signifikant på 0,1-procentnivån. Proleptisfrekvensen för respektive fältförsök illustreras i bilaga 4.

4. DISKUSSION

Syftet med denna rapport var att utreda ifall plantor förökade via somatisk embryogenes skiljer sig från fröplantor med avseende på skottskjutning.

4.1 Skottskjutningsindex

Inventeringen av skottskjutningsindex gjordes i början av juni och resulterade i ett medelvärde kring 4 för de olika planttyperna. De lägre medelvärdena vid Remningstorps fältförsök var förväntade eftersom detta försök ligger i Västergötland, alltså betydligt längre norrut än de övriga fältförsöken. Toresbo och Åsmundsryd är belägna drygt 3 mil från varandra kring Nybro i Småland.

Skottskjutningstidpunkt skiljde sig inte åt mellan planttyperna på något av försöken utifrån inventeringen. Skillnaden var inte signifikant på 5-procentsnivå. Skillnaderna i skottskjutningsindex för de olika planttyperna var väldigt små och har i princip ingen större betydelse för plantornas skottskjutningstidpunkt.

Högberg (2017) visade i sin studie att oklippta fröplantor sköt senare än övriga planttyper. Skillnaden var signifikant. Anledningen till varför resultaten skiljde sig från min studie är svår att säkerställa. Tidpunkt för inventering har en stor inverkan. För bäst resultat bör inventeringen göras i mitten av skottskjutningsperioden. Inventeringen år 2016 gjordes tidigt på växtsäsongen. Det innebar att medelvärdena för skottskjutningsindex var lägre. Det skulle kunna vara en förklaring till varför resultatet skiljer sig åt från min studie där inventeringen gjordes i mitten av skottskjutningsperioden.

Resultaten från min studie tyder på att förökningsmetoden inte har någon betydelse för plantornas skottskjutningstidpunkt.

4.2 Prolepsis

Inventeringen av prolepsisfrekvens på Remningstorp visade inte på någon signifikant skillnad mellan SE-plantor och fröplantor. Resultaten visade på att 21 procent av SE-plantorna respektive 25 procent av fröplantorna utvecklade proleptiska skott.

Enligt Högberg (2017) visade inventeringen på Remningstorp från 2015 att det rådde en signifikant skillnad på 5-procentsnivå i frekvens av prolepsis mellan planttyperna. Frekvensen prolepsis var 15 procent för SE-plantor och 30 procent för fröplantor.

Anledningen till varför resultaten skiljer sig åt är svår att säkerställa. Tidpunkt för inventering kan spela roll samt att denna inventering baserades på en subjektiv mätmetod. En annan anledning kan härledas till att prolepsis är en ungdomsföreteelse. Förekomst av prolepsis avtar med ökad ålder (Wühlisch & Muhs, 1985). Samtidigt skedde det inte en minskning av prolepsis från 2016 till 2017 utan det var endast fördelningen bland planttyper som skiljde sig åt.

Förekomsten av prolepsis i Toresbo var 13 procent för SE-plantorna respektive 17 procent för fröplantorna. Skillnaden var inte signifikant på 5-procentnivån. Några tidigare studier på förekomst av prolepsis på fältförsöket i Toresbo har inte gjorts.

Frekvensen prolepsis på Åsmundsryd blev 33 procent för SE-plantor och 52 procent för fröplantor. Skillnaden var signifikant på 0,1-procentnivå. Innebörden är att med 99,9 procents sannolikhet kommer förekomsten av prolepsis att vara högre för fröplantor än SE-plantor. Några tidigare studier på förekomst av prolepsis på fältförsöket i Åsmundsryd har inte gjorts.

Inventeringen av prolepsisförekomst gav olika resultat. Fältförsöket i Remningstorp visade inga statistiskt signifikanta skillnader till skillnad från inventeringen ett år tidigare. Fältförsöket i Toresbo visade inte heller på några statistiskt signifikanta skillnader. Däremot var det tydliga skillnader i prolepsisfrekvens på Åsmundsryd.

Anledningen till varför Åsmundsryd visade hög förekomst av prolepsis skulle kunna härledas till bonitet. Högre bonitet har visat sig ge upphov till fler proleptiska skott (Søgaard m.fl., 2010). Gusthalin (2017) visade att högst andel proleptiska skott bland förädlade plantor kunde härledas till det område med högst bonitet. Samtidigt motbevisas detta av att det i fältförsöket i Toresbo inte kunde påvisas några signifikanta skillnader, trots att boniteten där är högre än i fältförsöket i Åsmundsryd.

Högre bonitet medför högre trädhöjd. Gusthalin (2017) spekulerade kring huruvida ökad trädhöjd kunde medföra högre andel prolepsis. Möjligen kan därmed den höga andelen prolepsis på Åsmundsryd härledas till en högre trädhöjd. För att utreda den möjliga förklarande faktorn bör nya försök göras som inkluderar trädhöjd. Andra faktorer som kan ha påverkat resultatet är exempelvis lokalklimat, temperatur och nederbörd.

Sammantaget tyder det på att orsaken till varför Åsmundsryd visade en hög förekomst av prolepsis kan vara en samvariation av flera faktorer.

Samtliga fältförsök visade att andelen prolepsis var högre bland fröplantor än för SE-plantor. Det pekar på att SE-plantor i mindre utsträckning utvecklar proleptiska skott. En spekulation till varför det blir så skulle kunna härledas till att prolepsis är en ungdomsföreteelse. Förekomst av prolepsis avtar med ökad ålder

(Wühlisch & Muhs, 1985). Kanske beter sig SE-plantor annorlunda än fröplantor eftersom de behandlas olika i tidig plantutveckling.

4.3 Felkällor

En felkälla att ta hänsyn till är att de högsta SE-plantorna under tidig plantutveckling toppbeskars för att uppnå jämnhet i plantstorlek. Det kan ha påverkat plantornas utveckling.

Att resultatet från Åsmundsryd fältförsök avseende proleptisfrekvens skiljde sig markant från de två övriga fältförsöken samt visade på en statistiskt signifikant skillnad på 0,1-procentsnivå var överraskande. Genom att upprepa inventeringen nästkommande år skulle det kunna ge en mer rättvisande bild av huruvida det var en slump att inventeringen 2017 av Åsmundsryds proleptisfrekvens skiljde sig så markant från övriga fältförsök.

Inventeringen byggde på en subjektiv bedömning vilket kan ha bidragit till de skiftande resultaten från inventeringen på Remningstorps fältförsök år 2016 jämfört med 2017.

4.4 Vidare forskning

En inventering har tidigare gjorts på Remningstorp avseende skottskjutningstidpunkt och förekomst av proleptis år 2016 (Högberg, 2017). Denna rapport innehåller ytterligare tre studier av skottskjutningstidpunkt och förekomst av proleptis på Remningstorp, Toresbo och Åsmundsryd.

Mina studier tyder inte på några signifikanta skillnader mellan fröplantor och SE-plantor avseende skottskjutningstidpunkt till skillnad från inventeringen på Remningstorp året tidigare. För att få mer jämförbara resultat bör kommande inventeringar göras i mitten av skottskjutningsperioden.

Angående förekomst av proleptis har resultaten skiljt sig åt. En möjlig anledning till detta kan vara skiftande bonitet även om det troligtvis är en kombination av flera faktorer. För att reda ut anledningen till skiftande proleptisfrekvens bör vidare studier inkludera fler variabler såsom trädhöjd och blockeffekt.

Eftersom fördelningen av SE-plantor är ojämn mellan familjer kan det vara intressant att jämföra familjer var för sig. Eftersom vissa familjer representeras av ett större plantmaterial än andra kan det vara intressant att reda ut hur specifika familjers SE-plantor beter sig.

5. SAMMANFATTNING

Den senaste plantageomgången bedöms kunna producera förädlad frö till plantor som har upp emot 25 procents högre tillväxt jämfört med lokalt oförädlad beståndsfrö. För att kunna möta skogsbrukets efterfrågan på förädlade plantor behöver plantorna massförökas. Somatisk embryogenes har potential att bli en användbar förökningsmetod.

Eftersom det sker ett bortfall av genotyper vid förökning via somatisk embryogenes är det viktigt att undersöka om denna selektionseffekt påverkar plantorna. Syftet med denna rapport var att utreda om plantor förökade via somatisk embryogenes skiljde sig från fröplantor med avseende på skottskjutning och proleptisk skottskjutning.

Underlaget för rapportens försök var 49 halvsyskonfamiljer av rödgran, *Picea abies*. Dessa hade tidigare förökats till totalt 541 kloner. Vissa genotyper producerade i samband med detta ett litet antal embryon jämfört med andra. Detta resulterade i många fall i få plantor per klon medan några kloner representerades av många plantor. Plantorna sattes år 2015 ut i tre fältförsök varav ett i Remningstorp (Västergötland) och de två andra i Toresbo respektive Åsmundsryd (Småland). År 2017 i samband med datainsamlingen bestod fältförsöken av totalt 3770 plantor fördelade på 2807 SE-plantor och 963 fröplantor.

Resultaten visade att plantorna inte skiljde sig åt i skottskjutningstidpunkt. Skillnaden var inte signifikant på 5-procentsnivå. En tidigare inventering av Remningstorp år 2016 visade däremot på signifikanta skillnader vad gäller skottskjutningstidpunkt. Anledningen till skillnaden kan troligen härledas till tidpunkten för inventeringarna.

Förekomsten av prolepsis var högre bland fröplantor än bland SE-plantor för samtliga fältförsök. Skillnaderna i förekomst av prolepsis var inte signifikanta för fältförsöken i Remningstorp och Toresbo. Däremot var skillnaderna i försöket i Åsmundsryd signifikanta på 0,1-procentnivå. En tidigare inventering av Remningstorp år 2016 visade på signifikanta skillnader för frekvensen prolepsis mellan planttyperna

Sammantaget skiljer sig resultaten avseende prolepsisförekomst åt mellan fältförsöken. I samtliga fältförsök var andelen prolepsis högre bland fröplantor än SE-plantor. Att prolepsis är en ungdomsföreteelse och därmed avtar med ålder kan vara en förklaring till att skillnaderna var mindre i denna studie jämfört med en liknande tidigare studie på samma försök. Bonitet och trädhöjd kan också bidra till att förklara skillnaderna i utfallet.

För att utreda vad som är orsaken till varför proleptisförekomen skiljer sig mellan planttyperna bör det göras nya inventeringar och anläggas ytterligare fältförsök.

6. REFERENSLISTA

6.1 Publikationer

Andersson, R. (red.) (2013) *Grundbok för skogsbrukare - Fakta om skog och skogsbruk*. Taberg: Tabergs Media Group.

Cannell, M.G.R. & Johnstone, R.C.B. (1978) Free or lammas growth and progeny performance in *Picea sitchensis*. *Silvae Genetica* 27(6) s. 248–254.

Esaisasson P., Giljam, M., Oscarsson, H. & Wängnerud, L. (2010) *Metodpraktikan - Konsten att studera samhälle, individ och marknad*. 3. uppl. Vällingby: Elanders Sveriges AB.

Gusthalin, M. (2017) *Förekomst av dubbeltopp i två odlingsmaterial av gran i södra Sverige*. Alnarp: Institutionen för sydsvensk skogsvetenskap. (Examensarbete / SLU nr 281).

Hannerz, M. & Cedergren, J. (2010) *Attityder och kunskapsbehov – förädlad skogsmaterial*. Skogforsk, Arbetsrapport nr. 700-2010.

Högberg, K.A. (2015) *Selektionseffekter vid förökning av gran med somatisk embryogenes*. Skogforsk, Arbetsrapport nr. 887-2015.

Högberg, K.A. (2017) *Effekter av förökningsmetod på plantors tidiga utveckling*. Skogforsk, Arbetsrapport nr. 938-2017.

Högberg, K.A., Ekberg, I., Norell, L. & von Arnold, S. (1998) Integration of somatic embryogenesis in a tree breeding programme: a case study with *Picea Abies*. *Canadian Journal of Forest Research* 28: 1536–1545.

Krutzsch, P. (1975) *Die Pflanzschulenergebnisse eines inventierenden Fichenherkunftsversuches*. Dept. Of Forest Genetics, Royal College of Forestry, Research Notes 14, 64 pp Stockholm.

Lamhamedi, M.S., Chamberland, H., Bernier, P.Y. & Tremblay, F.M. (2000) Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic plants. *Tree Physiology* 20, s. 869–880.

Mo, H., Hannerz, M., von Arnold, S. & Högberg, K.A. (1995) *Somatisk embryogenes – en ny metod att föröka barrträd*. Skogforsk, Resultat nr. 20-1995.

O’Neill, G.A., Russel, J.H., Hooge, B.D., Ott, P.K. & Hawkins C.B.D. (2005) Estimating gains from genetic tests of somatic emblings of interior spruce. *Arbora Publishers. Forest Genetics* 12(1): 57–66.

Hogg, R.V. & Tanis, E.A. (2001) *Probability and statistical inference*. 6. uppl. New Jersey: Prentice-Hall.

Rosvall, O., Bergström, R., Jacobson, S., Pettersson, F., Rosén, K., Thor, M., Weslien, J.O. (2004) *Ökad produktion i familjeskogsbruket - analys av tillväxthöjande och skadeförebyggande åtgärder*. Arbetsrapport 574, Skogforsk.

Rosvall, O. & Lundström, A. (2011) *Förädlingseffekter i Sveriges skogar - Kompletterande scenarier till SKA-VB 08*. Redogörelse nr. 1, Skogforsk.

Rosvall, O., Andersson Gull, B., Berlin, M., Högberg, K.A., Stener, L.G., Jansson, G., Almqvist, C. & Westin, J. (2016) *Skogsskötselserien nr 19 - Skogsträdsförädling*. Skogsstyrelsens förlag.

Søgaard, G., Kvaalen, H., Granhus, A., Fløistad, I.S., Hanssen, K.H., Steffenrem, A. & Skrøppa, T. (2010) *Høstskudd hos gran kan være et økende fenomen*. Nr. 10/10, Skog og Landskap.

Søgaard, G., Fløistad, I.S., Granhus, A., Hanssen, K.H., Kvaalen, H., Skrøppa, T., Steffenrem, A. (2011) *Lammas shoots in spruce - occurrence, genetics and climate effects*. Norwegian Forest and Landscape Institute. Tillgänglig: http://www.skogoglandskap.no/filearchive/lammas_shoots_in_spruce.pdf

Wu, R. & Hinckley, T.M. (2001) Phenotypic plasticity of sylleptic branching: genetic design of tree architecture. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 20(5): s. 467–485.

Wühlisch, G. v. & Muhs, H.J. (1985) Influence of age on sylleptic and proleptic free growth of Norway spruce seedlings. *Silvae Genetica* 35(1). s. 42–48.

6.2 Internetdokument

Länk A:

Skogforsk (2015). 237 - *Klimatsmart förädlingsmaterial*. [Online] Tillgänglig: <http://skogstradsforadling.se/projekt-221-240/> [2018-05-20]

7. BILAGOR

Bilaga 1	Krutzsch Knoppsprickningsskala
Bilaga 2	Kartmaterial
Bilaga 3	Medelvärde och konfidensintervall på skottskjutning
Bilaga 4	Observerad och förväntad proleptisfrekvens



Krutzsch knoppsprickningsskala, 1-8

0. Dormant buds (ej på bild)

På bilden ovan:

1. Buds slightly swollen, needled below bent backwards and outwards
2. Buds swollen, green to grey-green in colour, bud scales still closed
3. Burst of bud scales, tips of needles emerging
4. First elongation of needles to about double bud length
5. First spread of needles, buds have now the appearance of a painters brush
6. Elongation of shoot, basal needles not yet spread
7. Differentiation of shoot, basal needles spread
8. All needles more or less spread, new buds developing

Svensk översättning:

0. Invintrade knoppar (ej på bild)

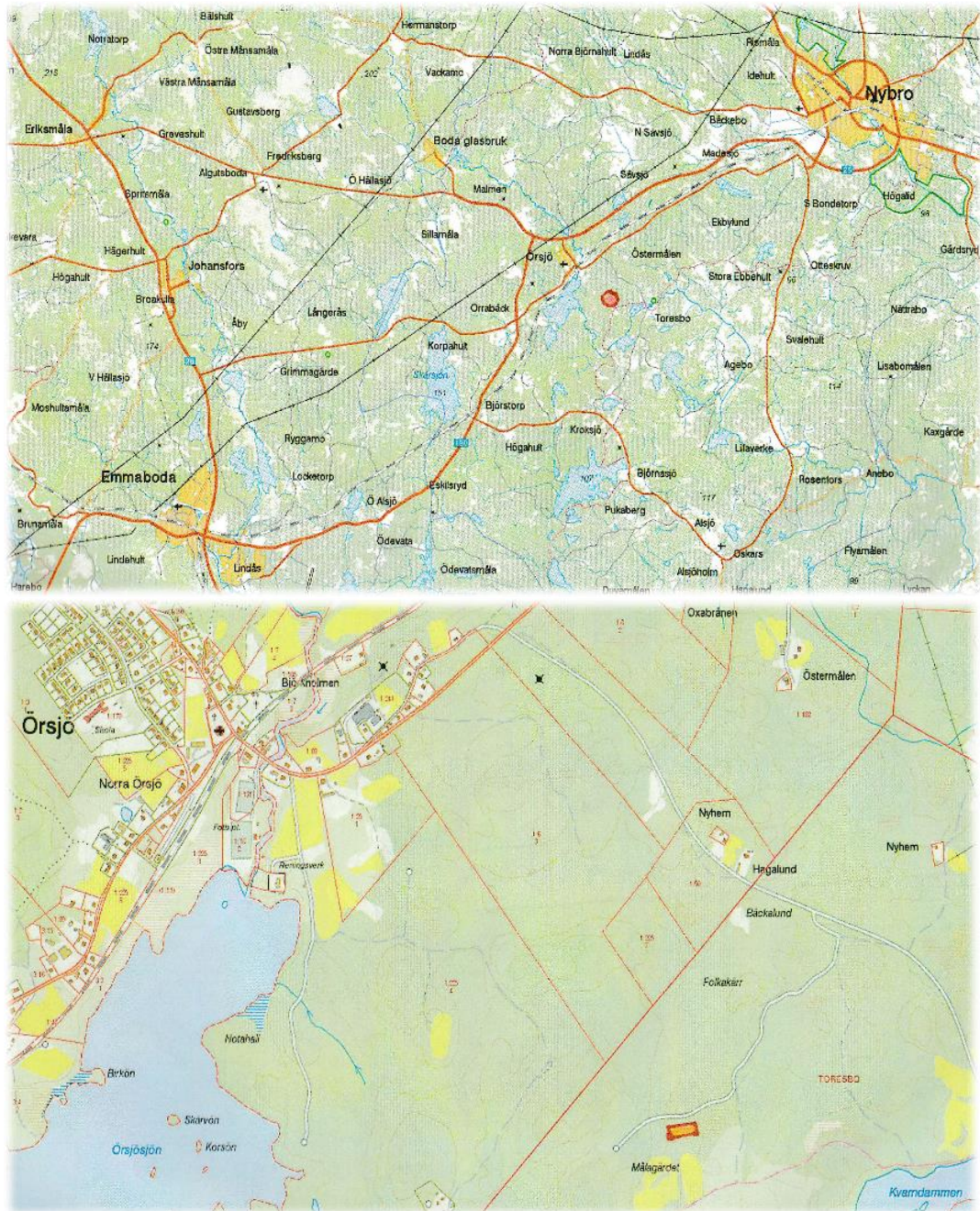
På bilden ovan:

1. Knoppar något svullna, barr runt knopp svagt böjda från stammen/knoppen
2. Knoppar svullna, grön- till grå-gröna i färg, knoppfjäll fortfarande stängda
3. Knoppfjällen bryts, barr börjar synas
4. Första sträckningen av barr till dubbla knoppens längd
5. Första spridningen av barren, knoppen ser nu ut som en målarpensel
6. Skottsträckning påbörjad, basala barr har ännu ej utvidgats
7. Skottsträckning klar
8. Alla barr mer eller mindre spridda/utvecklade, nya knoppar bildas

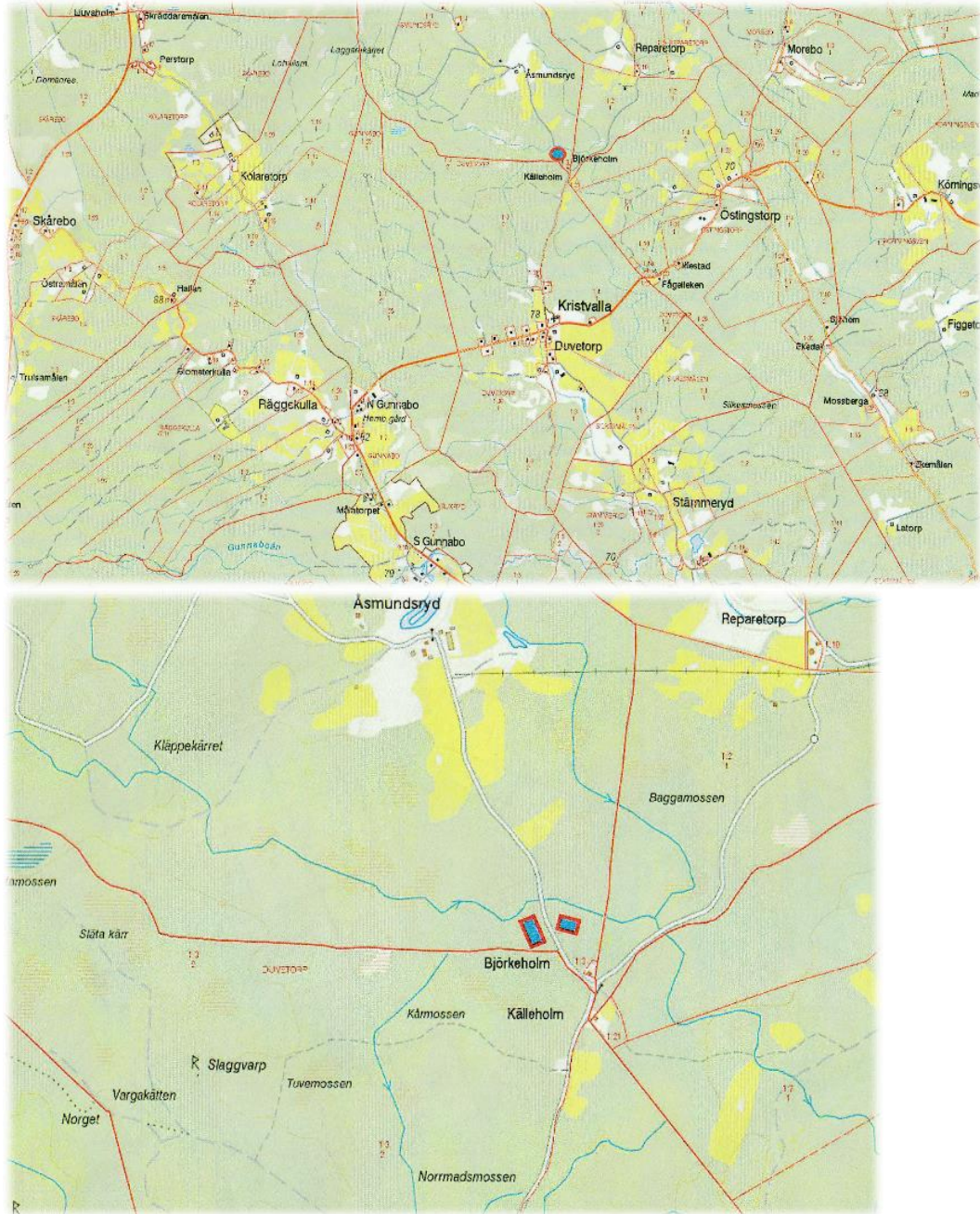
Figur 7.1. Krutzsch Knoppsprickningsskala, 0-8 (Krutzsch, 1975).



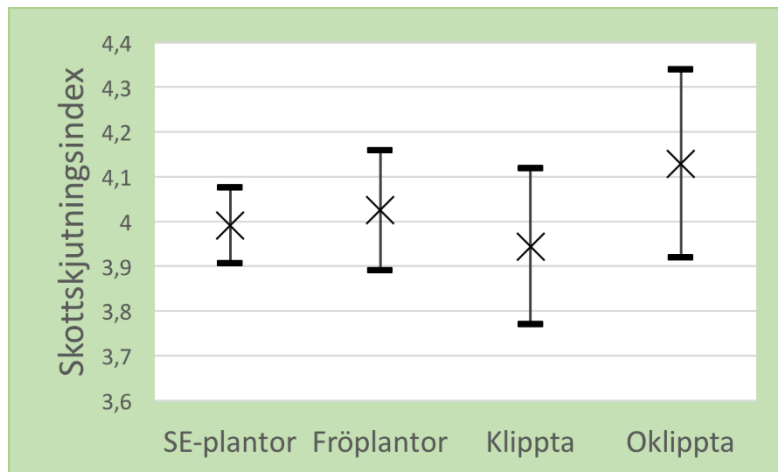
Figur 7.2. Remningstorp. S21E1521457. Överst: övergripande karta. Nederst: detaljerat karta för fältförsöket. Markering utgör fältförsöket. ©Lantmäteriet, I2014/00878



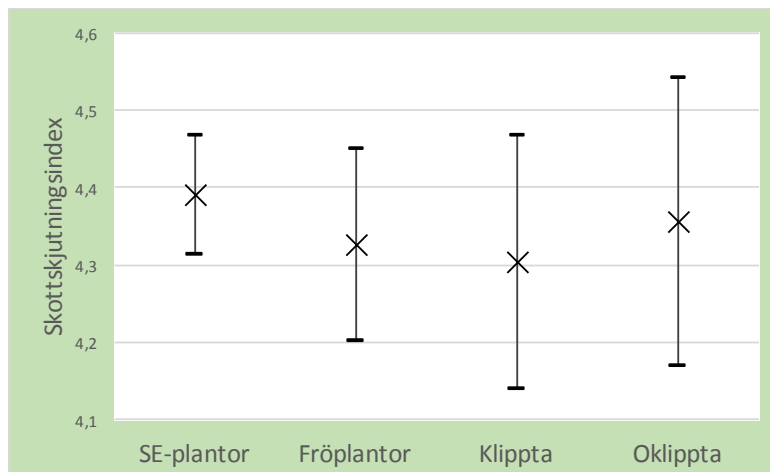
Figur 7.3. Toresbo. S21E1521458. Överst: övergripande karta. Nederst: detaljerat karta för fältförsöket. Markering utgör fältförsöket. ©Lantmäteriet, I2014/00878



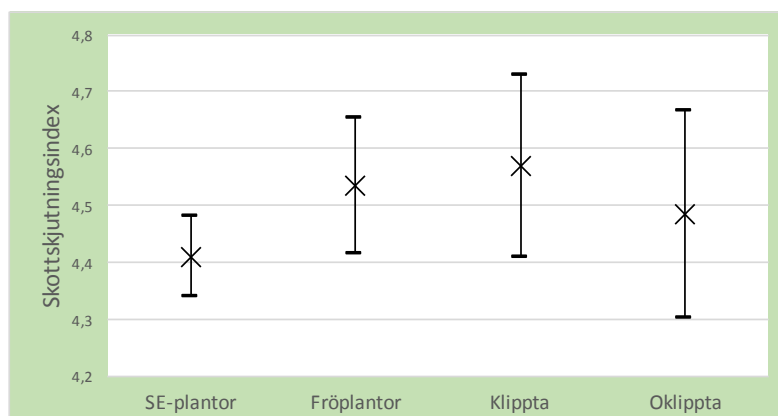
Figur 7.4. Åsmundsryd. S21E1521459. Överst: övergripande karta. Nederst: detaljerat karta för fältförsöket. Markering utgör fältförsöket. ©Lantmäteriet, I2014/00878



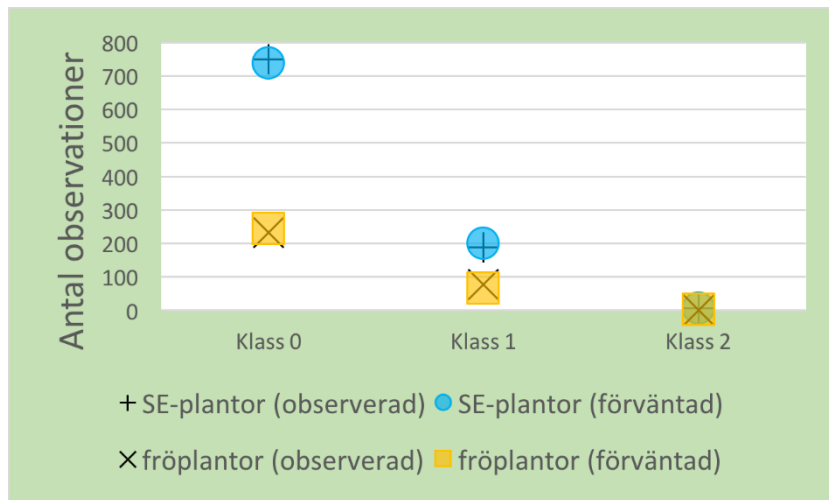
Figur 7.5. Konfidensintervall och medelvärde av skottskjutningsindex för respektive planttyp i fältförsöket Remningstorp.



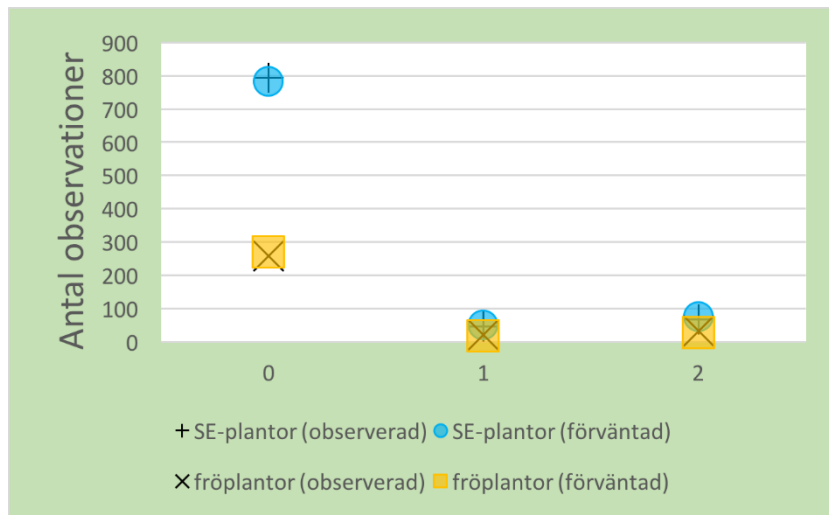
Figur 7.6. Konfidensintervall och medelvärde av skottskjutningsindex för respektive planttyp i fältförsöket Toresbo.



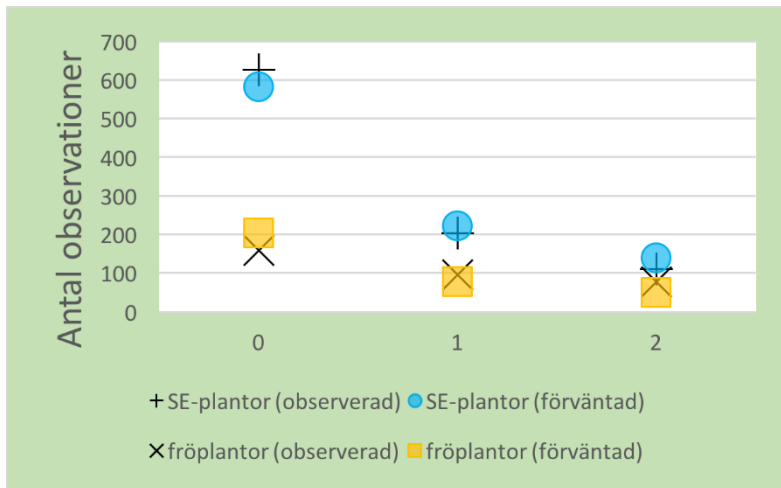
Figur 7.7. Konfidensintervall och medelvärde av skottskjutningsindex för respektive planttyp i fältförsöket Åsmundsryd.



Figur 7.8. Observerad och förväntad prolepsisfrekvens på fältförsöket i Remningstorp.



Figur 7.9. Observerad och förväntad prolepsisfrekvens på fältförsöket i Toresbo.



Figur 7.10. Observerad och förväntad prolepsisfrekvens på fältförsöket i Åsmundsryd.