

## Inngangur

Á undanförnum árum hefur skógrækt stóraukist hér á landi og er alaskaösp (*Populus trichocarpa* Torr & Gray) ein þeirra hraðvaxta trjategunda sem mestar vonir eru bundnar við og sem líkur benda til að muni aukast mjög í ræktun á komandi árum. Saga hennar í ræktun hér á landi er þó stutt, eða aðeins frá stríðslokum (Aðalsteinn Sigurgeirsson og Sigvaldi Ásgeirsson 1998).

Tré sem á að vaxa hratt, verða hávaxið, beinvaxið og langlíft á Íslandi verður jafnframt að vera vel aðlagð íslensku veðurfari. Vegna þess hvað líftími trjáa er langur, verður tréð ekki aðeins að mæta þeim kröfum sem „eðlilegt árferði“ og meðalhiti gerir til þess, heldur einnig þeim kröfum sem sjaldgæf veðrabrigði gera til sömu trjáa. Aðlögun að slíkum umhverfisþáttum verður að jafnaði með náttúruvali á lengri eða skemmri tíma, með líffræðilegri þróun. Mikill erfðabreytileiki dylst oft innan trjategunda eða kvæmum trjategunda, og slíkur breytileiki kemur gjarnan fram í mismikilli vaxtargetu og aðlögun að sömu skilyrðum og áreitum. Þegar unnið er markvisst að úrvali og kynbótum, með það t.d. að markmiði að bæta aðlögun trjategundar, er mikilvægt að gera sér grein fyrir því hversu mikinn hluta breytileika er að finna meðal og innan kvæma, meðal afkvæma einstakra trjáa og meðal einstaklinga (klóna) og eins því hvernig hann erfist. Bætt aðlögun með úrvali getur verið einkar árangursrík þegar um er að ræða innflutta trjategund, þar sem tími hefur verið of skammur til þess að þróa, með náttúruvali, sem besta aðlögun.

Ísland er jaðarsvæði m.t.t. skógræktar og er sumarhiti á Íslandi lágur miðað við kjörhita flestra trjáa (Aðalsteinn Sigurgeirsson og Ingileif S. Kristjánsdóttir 1995). Auk þess að vera svalt, er íslenskt veðurfar umhleypingasamt og duttlungafullt. Geta hörð frost komið í kjölfar langra hlýindakafla á flestum árstímum, þ.m.t. síðla vors og síðla sumars. Talið er sennilegt að hlýnun loftslags vegna gróðurhúsaáhrifa muni nema um 0,22-0,3°C á áratug hér á landi næstu áratugina (Trausti Jónsson og Tómas Jóhannesson 1994; Kristján Jónasson 2003). Þótt ætla megi að hlýnun muni leiða til ákjósanlegri skilyrða fyrir vöxt trjáa hérlendis hafa verið færð fyrir því rök að ein afleiðing loftslagshlýnunar við norðanvert Atlantshaf verði aukin hætta á skemmdum á trjágróðri vegna síðbúinna vorfrostna (Aðalsteinn Sigurgeirsson og Ólafur Eggertsson 2004; Brynjar Skúlason 2004; Cannell og Smith 1983; 1986; Murray o.fl. 1989).

Hægt er að sjá fyrir hættuna á að tiltekinn erfðahópur skemmist vegna frosta með frostþolsprófunum. Þannig er hægt að ákvarða hvort klónum sé hætt við

frostskemmdum að vori eða hausti. Hættan á slíkum frostum er hinsvegar mismikil eftir landshlutum. Klónar sem eru ekki í hættu á einum stað geta því verið í hættu þar sem önnur veðurskilyrði eru. Markmið frostþolsprófana vor og haust er að ákvarða frostþol mismunandi klóna þannig að ræktendur geti valið ræktunarefnivið með tilliti til aðstæðna á hverjum stað. Niðurstöður þessa verkefnis ætti því að vera hægt að nýta til að stórbæta árangur í ræktun alaskaaspar hér á landi.

## Framkvæmd og niðurstöður

### *Frostþol*

#### **Vor 2004**

Efniviðurinn sem prófaður var vorið 2004 kom úr Sandlækjarmýri í landi Þrándarholts í Gnúpverjahreppi. Prófaðir voru allir þeir 37 klónar sem þar vaxa auk 71 afkvæmis sem var valið m.t.t. skemmda, þ.e. fjögur alsystkini voru valin þannig að eitt hafði vaxið áfallalaust í þau sex ár sem liðin voru frá gróðursetningu, annað skemmdist í haustfrosti sem gerði 1997, hið þriðja skemmdist í vorfrosti 2003 og síðasta tréð hafði orðið fyrir skemmdum bæði í haustfrostinu 1997 og vorfrostinu 2003. Alls voru 18 systkinahópar valdir en í einn þeirra vantaði tré sem hafði orðið fyrir báðum áföllunum.

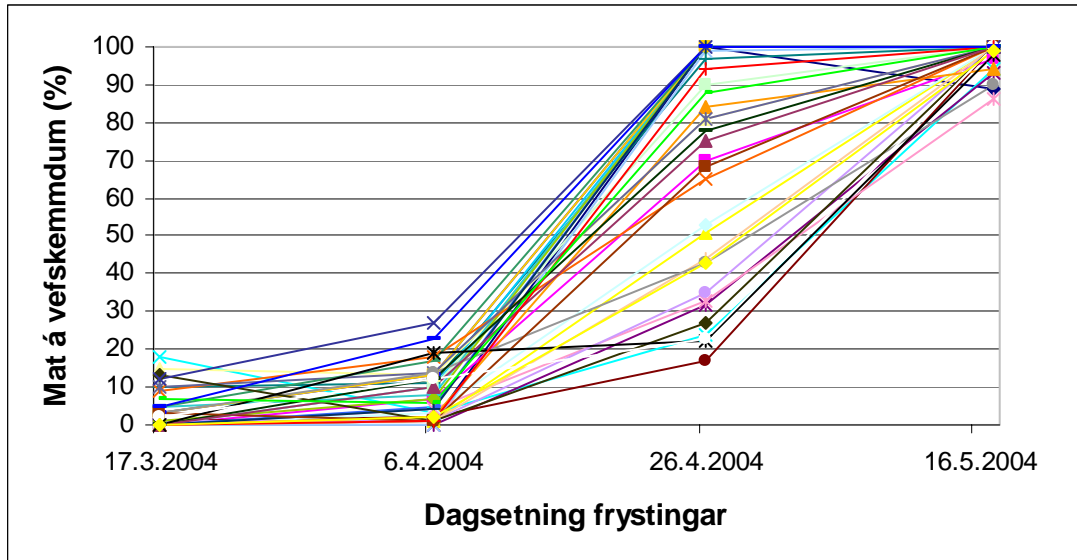
Fyrsta söfnun efniviðar fór fram 17. mars 2004, þá voru sprotar klipptir af klónunum og þeir frystir daginn eftir. Eftir frystingu voru sprotarnir láttnir í gróðurhúsaaðstæður með vökvun og skemmdir metnar 7. apríl.

Önnur söfnunin fór fram 6. apríl, þá voru sprotar klipptir bæði af klónunum og afkvæmunum. Þessi efniviður var frystur 7. apríl og metinn 27. og 28. apríl.

Þriðja söfnunin var framkvæmd í tvennu lagi. 25. apríl var klippt úr víxlanatilrauninni en þann 26. var safnað af klónunum, þessi efniviður var frystur 27. apríl og metinn 19. maí.

Fjórða og síðasta frystingin fór fram 17. maí, þá var klippt af klónunum. Efniviðurinn var frystur 19. maí og metinn 3. og 4. júní.

Niðurstöður þessa hluta eru þær helstar að mikill breytileiki er í því hvenær og hversu hratt hinir mismunandi klónar alaskaaspar missa frostþolið (sjá mynd 1). Unnt

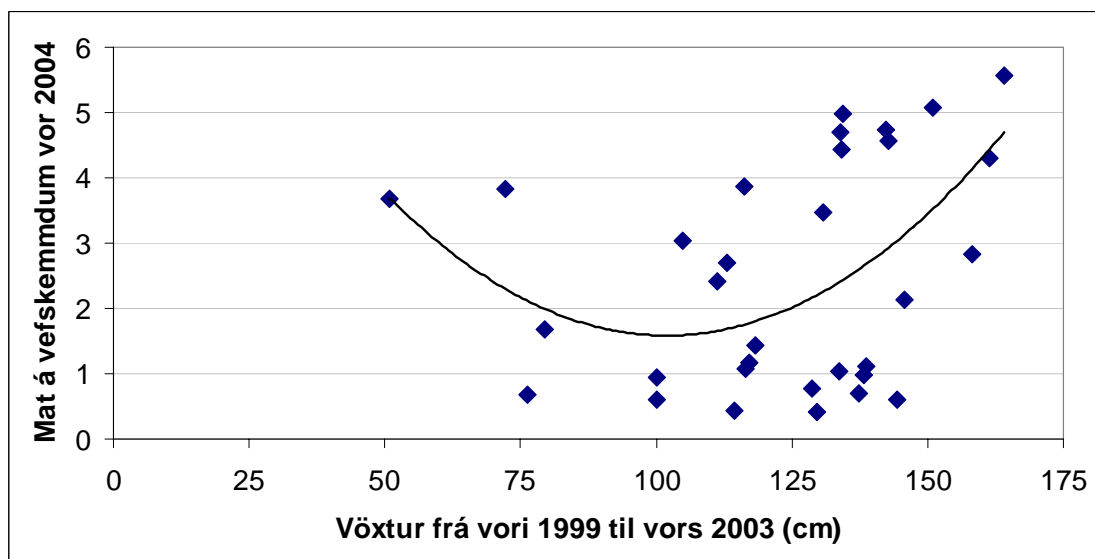


**Mynd 1:** Skemmdir eftir frystingar vorið 2004. Myndin sýnir skemmdir eftir frystingu við  $-12^{\circ}\text{C}$  í frystikistum tiltekna daga vorið 2004.

er að flokka klónana í þrennt; þá sem komu vel út, þeir sem komu illa út og miðlungsklóna.

Hæð trjáanna í Sandlækjarmýrinni hefur verið mæld nokkrum sinnum, m.a. vorin 1999 og 2003. Þegar hæðargögn og niðurstöður úr frostþolsprófunum eru borin saman kemur í ljós að mikið samræmi er í gögnunum, sjá mynd 2.

Eins og sést á mynd 2 vaxa flestir klónarnir sem verst koma útúr frostþolsprófununum betur en þeir sem koma vel út, á þessu tiltekna árabili. Þetta stafar af því að veðurfar var hliðhollt þessum klónum og þeir náðu að vaxa óáreittir. Hins vegar eru þeir í mikilli hættu á að verða fyrir áföllum í síðbúnum vorfrostum.



**Mynd 2:** Samband hæðargagna og niðurstæða úr frostþolsprófunum. Myndin sýnir samband milli fjögurra ára vaxtar og frostþols 32 af klónunum úr Sandlækjarmýri.

## **Haust 2004**

Sami efniviður og var frostþolsprófaður vorið 2004 var prófaður aftur um haustið. Þá voru dagsetningarnar eftirfarandi:

Fyrsta klipping fór fram 25. ágúst, sá efniviður var frystur 26. ágúst og metinn 20. september. Í þetta skipti var aðeins klippt af klónunum.

Önnur klippingin var framkvæmd í tvennu lagi; 4. september var klippt úr víxlanatilrauninni og 5. september voru klónarnir klipptir. Sprotarnir voru frystir 6. og 7. september og metnir 1. október.

Þriðja klippingin á klónunum var 16. september og efniviðurinn metinn 11. október.

Fjórdða og síðasta klippingin var gerð 26. (víxlanir) og 27. september (klónar) og efniviðurinn frystur 28. (víxlanir) og 29. september (klónar), skemmdir voru metnar 2. nóvember.

Niðurstöður þessa hluta voru ekki nothæfar. Efniviðurinn skemmdist mjög lítið og kom enginn marktækur munur fram á klónunum. Þessar litlu skemmdir stafa af því að sprotarnir voru mikið laufgaðir þegar þeir voru frystir og lafið virkaði sem n.k. einangrun þannig að frostið komst ekki að sprotunum sjálfum.

## **Haust 2005**

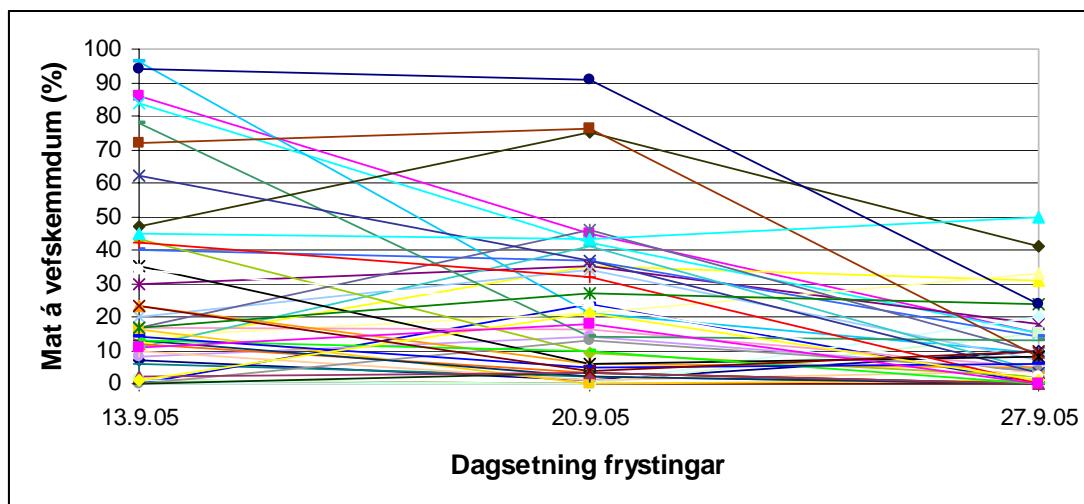
Haustið 2005 var komið að því að frysta efnivið sem safnað var víðsvegar um landið í febrúar og mars 2005. Alls var efnivið safnað af 42 klónum, sprotunum var stungið í bakka í apríl og þeir ræktaðir á Tumastöðum í Fljótshlíð um sumarið.

Fyrsta frystingin fór fram 13. september og voru þeir sprotar metnir 28. september.

Önnur frystingin var framkvæmd 20. september og efniviðurinn metinn 5. október.

Þriðja og síðasta frystingin var gerð 27. september og sprotarnir metnir 12. október.

Niðurstöður þessa hluta voru þær helstar að talsverður breytileiki er í því hvenær og hversu hratt frostþol byggist upp að haustinu (sjá mynd 3). Við samanburð á myndum 1 og 3 skal gæta að því að vorið 2004 liðu tveir mánuðir frá fyrstu frystingu til hinnar síðustu en haustið 2005 aðeins tvær vikur. Um miðjan september



**Mynd 3:** Skemmdir eftir frystingar haustið 2005. Myndin sýnir skemmdir eftir frystingu við  $-12^{\circ}\text{C}$  í frystikistum tiltekna daga haustið 2005.

er mikill breytileiki í því hversu langt klónar eru komnir í undirbúningi fyrir veturinn og því ekki hægt að segja til um hvenær fyrstu klónar byrja að byggja upp frostþol en fyrir vikið fæst betri mynd af frostþolinu þegar það er breytilegast.

### Vor 2006

Engin frysting fór fram vorið 2006 því að efniviðurinn sem átti að prófa drapst mest allur í frosti sem gerði í kjölfar hlýindakafla í febrúar. Ekki þótti ástæða til að gera nokkuð við þennan efnivið því að ekki var nægilega mikið lifandi til að nokkuð marktækt kæmi útúr athugunum á frostþoli sprotanna.

### Erfðagreining

#### DNA einangrun

Aðferðin sem notuð var við DNA einangrunina er í stórum dráttum hefðbundin (Anamthawat-Jónsson og Heslop-Harrison 1995), þó lítið eitt breytt, og hefur hún verið mikið notuð við einangrun á DNAi úr laufblöðum. Annars vegar voru notuð ung laufblöð sem safnað var og þurrkuð í silica-hlaupi, þannig geymast þau nokkuð lengi og hægt að nota þau síðar án þess að það hafi áhrif á niðurstöður. Hins vegar voru teknar greinar af ýmsum klónum þeir látnir lafgast í ræktunarherbergi og fersk lauf tekin og notuð strax í einangrun.

#### DNA greining

Ákveðið var að nota aðferð sem kölluð er ISSR (Inter-simple sequence repeats) en hún byggir á því að magna upp svæði á milli stuttra eins endurtekninga (sjá mynd 4). Byrjað var á að finna nothæfa þreifara úr 100 þreifara setti sem keypt var frá

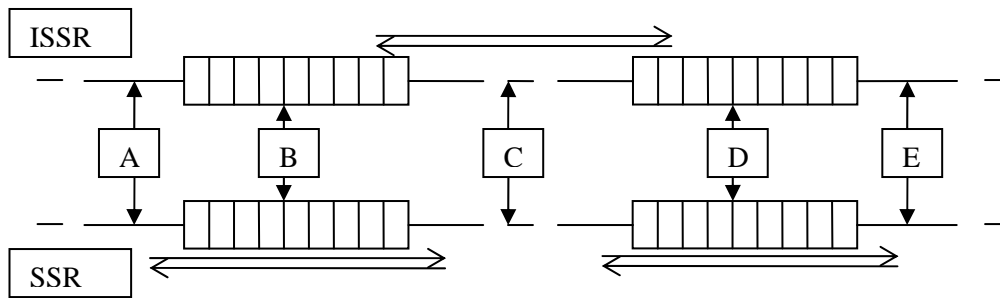
Háskólanum í Bresku Kólumbíu (UBC). Prófaðir voru alls 37 þreifarar, 14 voru prófaðir frekar og loks voru fimm (sjá 1. töflu) notaðir til að búa til skyldleikatré.

ISSR er mikið notuð aðferð sem hefur verið notuð til að bera saman skyldar trjátegundir (Joshi o.fl. 2000) og klóna innan sömu tegundar (Martins o.fl. 2003; Panda o.fl., 2003). Þá hafa asparklónar verið aðgreindir með skyldri aðferð (SSR) sem byggir á að greina fjölda endurtekninga í röðum eins og notaðar eru sem þreifarar í ISSR aðferðinni (sjá mynd 4; Frewen o.fl. 2000; Smulders o.fl. 2001; Fossati o.fl. 2005).

ISSR hefur ýmsa kosti s.s. að hún er ódýr, hraðvirk, og örugg auk þess sem unnt er að endurtaka keyrslur. ISSR hefur verið borin saman við RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA; Martins o.fl. 2003) sem hefur verið mikið notuð aðferð fram að þessu. Við þann samanburð kom í ljós að báðar aðferðir gáfu nánast sömu lokaniðurstöðu þ.e. svipað skyldleikatré og eru því jafn áreiðanlegar. Hins vegar voru sex af sextíu RAPD þreifurum taldir nógu góðir til að vera notaðir, eða 1 af hverjum 10 en fimm af átján ISSR þreifurum sem eru tæp 30%. RAPD þreifararnir gáfu 5-15 bönd hver, alls 63, en ISSR þreifararnir 6-19 bönd, alls 61 band. Í þessum samanburði þurfti því að prófa mun færri ISSR þreifara en RAPD þreifara til að fá jafn mörg góð bönd auk þess sem hægt var að nota færri ISSR þreifara en RAPD til að fá jafn áreiðanlegar niðurstöður.

**1. tafla:** Notaðir þreifarar. Kirnaröð þreifaranna og fjöldi banda sem hver þeirra gaf.

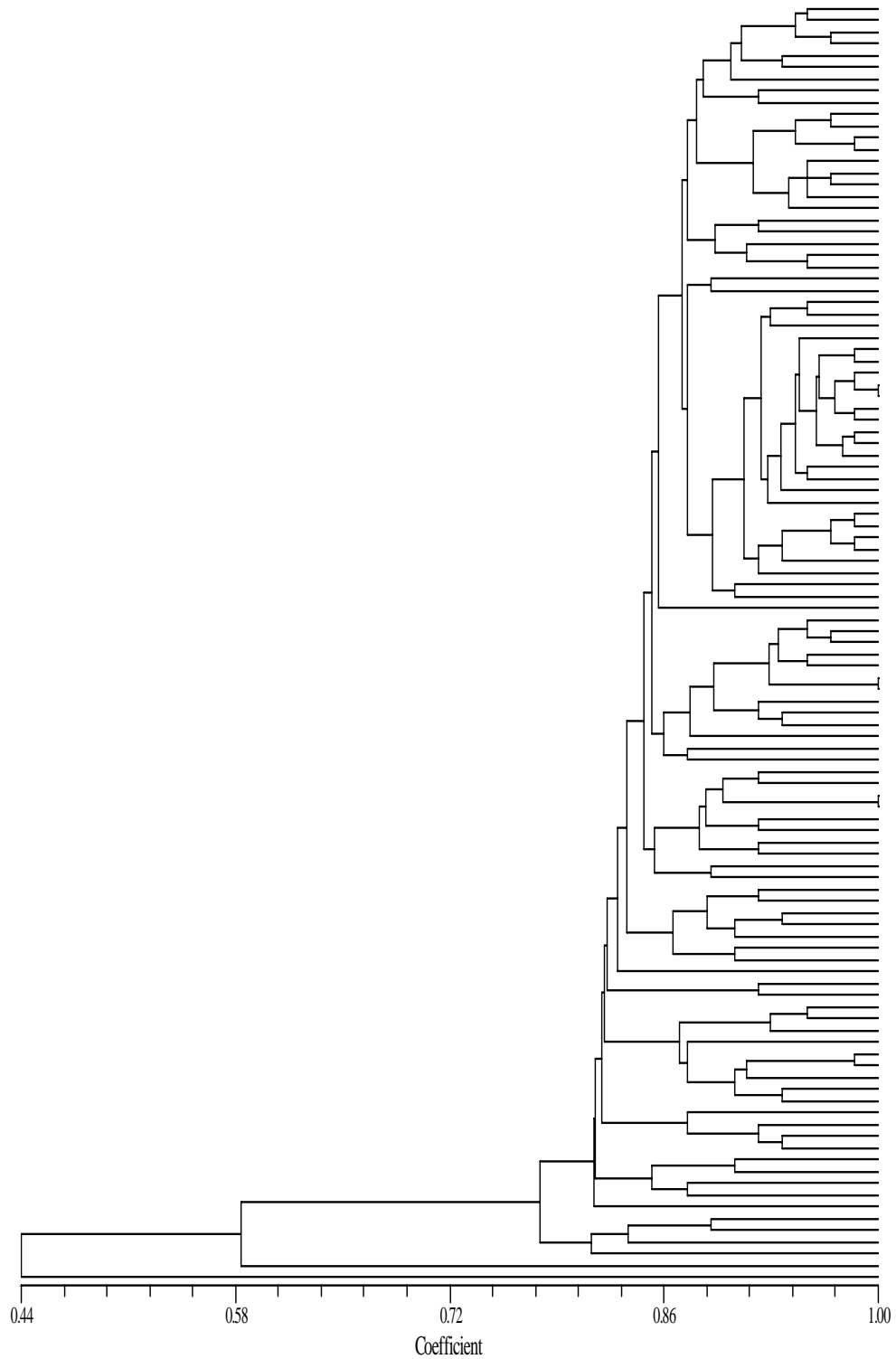
Númer	Kirni	Fjöldi banda
811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	12
825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	9
855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	12
868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA	12
888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	19



**Mynd 4:** ISSR og SSR. Svæði B og D eru sömu grunneiningarnar endurtekningar en endurtekningarnar eru ekki nauðsynlega jafn margar í báðum svæðum. Svæði A, C og E geta t.d. innihaldið gen eða hluta gena. Í ISSR eru þreifarnir svæði B og D eða hluti þeirra. Mögnuðu raðirnar eru því þær sem eru á milli endurtekninganna. Í SSR eru þreifarnir á svæðum A, C og/eða E, fast upp við svæði B og D. Raðirnar sem eru magnaðar eru því endurtekningarnar.

ISSR er mjög næm aðferð. T.d. voru bornir saman 120 einstaklingar með eins grænu korna erfðaeftni og var hægt að aðgreina kjarnaerfðaeftni þeirra með sjö ISSR þreifurum (Panda o.fl. 2003).

Niðurstöður aðgreiningarinnar í þessu verkefni má sjá á mynd 5. Þar sést að aðgreining asparklónanna tókst mjög vel og er talsverður erfðabreytileiki í þeim klónum alaskaaspar sem vaxa hér á landi. Frekari greining á trénu er í gangi, en fyrstu niðurstöður sýna að skyldleikinn fellur ágætlega að niðurstöðum úr frostþolsrannsóknnum þessa verkefnis (Freyr Ævarsson óbirt gögn). Annað atriði sem vel stenst það sem fram hefur komið annars staðar (Brunner o.fl. 2004), er að vegna tíðrar útæxlunar í vindfrævuðum tvíbýlis (e. dioecious) tegundum eins og í ættkvíslinni *Populus*, ræðst mestur erfðabreytileikinn af breytileika einstaklinga innan stofna en ekki af breytileikanum á milli stofna sem er raunin þegar sjálfsfrjóvgun eða innæxlun á sér stað.



**Mynd 5:** Skyldleikatré. Tréð sýnir innbyrðis skyldleika 109 klóna/einstaklinga. Sá neðsti í trénu er gulvíðir, sá næsti fyrir ofan hann er blæösp, þá kemur hópur balsamaspa (4) en afgangurinn af trénu eru alaskaaspir.



## Heimildir

- Aðalsteinn Sigurgeirsson og Ingileif Steinunn Kristjánsdóttir. (1995). Um aðlögun trjáa að lágu hitastigi á vaxtartíma I. Veðurfarsleg sérstaða Íslands og breytileg hæfni trjáa til að vaxa við lágan sumarhita. *Skógræktarritið 1995*, 103-111.
- Aðalsteinn Sigurgeirsson og Ólafur Eggertsson. (2004). Áhrif hitabreytinga á skógrækt. *Fræðaging landbúnaðarins 2004*: 39-45
- Aðalsteinn Sigurgeirsson og Sigvaldi Ásgeirsson. (1998). Aðferðir við ræktun alaskaaspar (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray). I. Áhrif þakningaraðferða og plöntugerðar á lífslíkur og vöxt á jökulaurum og framræstu mýrlendi. *Skógræktarritið 1998*: 2-17.
- Anamthawat-Jónsson, K. og Heslop-Harrison, JS. (1995). Molecular cytogenetics of Icelandic birch species: physical mapping by *in situ* hybridization and rDNA polymorphism. *Can. J. Forest Res.* 25: 101-108.
- Brunner, A.M., Busov, V.B. og Strauss S.H. (2004). Poplar genome sequence: functional genomics in an ecologically dominant plant species. *TRENDS in Plant Science*, 9, 49-56.
- Brynjjar Skúlason. (2004). Áhættugreining á hitafari gagnvart kali og vexti á trjágróðri. *Fræðaging landbúnaðarins 2004*: 26-32.
- Cannell, M.G.R. og Smith, R.I. (1983). Thermal time, chill days and prediction of budburst in *Picea sitchensis*. *J. Appl. Ecology* 20: 951-963.
- Cannell, M.G. R. og Smith, R.I. (1986). Climatic warming, spring bud burst and frost damage on trees. *J. Appl. Ecol.* 23: 177-191.
- Fossati, T., Zapelli, I., Bisoffi, S., Micheletti, A., Vietto, L., Sala, F. og Castiglione, S. (2005). Genetic relationships and clonal identity in a collection of commercially relevant poplar cultivars assessed by AFLP and SSR. *Tree genetics and genomes* 1: 11-19.
- Frewen, B.E., Chen, T.H.H., Howe, G.T., Davis, J., Rohde, A., Boerjan, W. og Bradshaw, H.D.Jr. (2000). Quantitative trait loci and candidate gene mapping of bud set and bud flush in populus. *Genetics* 154: 837-845.
- Kristján Jónasson. (2003). Spá um meðalhita í Reykjavík 2004-2035. (Greinargerð 03041). Reykjavík. Veðurstofa Íslands.
- Martins, M., Tenreiro, R. og Oliveira, M.M. (2003). Genetic relatedness of Portuguese almond cultivars assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Rep.* 22: 71-78.
- Murray, M.B., M.G.R. Cannell og R.I. Smith. (1989). Date of bud burst of fifteen tree species in Britain following climatic warming. *J. Appl. Ecol.* 26: 693-700.
- Panda, S., Martín, J.P. og Aguinalgalde, I. (2003). Chloroplast and nuclear DNA studies in a few members of the *Brassica oleracea* L. Group using PCR-RFLP and ISSR-PCR markers: a population genetic analysis. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1122-1128.
- Smulders, M.J.M., van der Schoot, J., Arens, P. og Vosman, B. (2001). Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). *Molecular Ecology Notes*, 1: 188-190.
- Trausti Jónsson og Tómas Jóhannesson. (1994). Veðurhorfur á næstu öld. *Náttúrufræðingurinn* 64: 13-29.