

# Vegetativ förökning av tall – en litteraturstudie

*Karl-Anders Högberg & Christine Devillard*



**Omslag:** Rotad tallstickling. **Foto:** Margaretha Edvardsson.  
**Ämnesord:** Mikroförökning, *Pinus*, sticklingar, somatisk embryogenes, tall.

---

**SkogForsk – Stiftelsen Skogsbrukets Forskningsinstitut**

SkogForsk arbetar för ett långsiktigt, lönsamt skogsbruk på ekologisk grund. Bakom SkogForsk står skogsbolag, skogsägareföreningar, stift, gods, allmänningar, plantskolor, SkogsMaskinFöretagarna m.fl., som betalar årliga intressentbidrag. Hela skogsbruket bidrar dessutom till finansieringen genom en avgift på virke som avverkas i Sverige. Verksamheten finansieras vidare av staten enligt särskilt avtal och av fonder som ger projektbundet stöd.

SkogForsk arbetar med forskning och utveckling med fokus på fyra centrala frågeställningar: Produktvärde och produktionseffektivitet, Miljöanpassat skogsbruk, Nya organisationsstrukturer samt Skogsodlingsmaterial. På de områden där SkogForsk har särskild kompetens utförs även i stor omfattning uppdrag åt skogsföretag, maskintillverkare och myndigheter.

---

Serien **Arbetsrapport** dokumenterar långliggande försök samt inventeringar, studier m.m. och distribueras enbart efter särskild beställning.

Forsknings- och försöksresultat från SkogForsk publiceras i följande serier:

**SkogForsk-Nytt:** Nyheter, sammanfattningar, översikter.

**Resultat:** Slutsatser och rekommendationer i lättillgänglig form.

**Redogörelse:** Utförlig redovisning av genomfört forskningsarbete.

**Report:** Vetenskapligt inriktad serie (på engelska).

**Handledningar:** Anvisningar för hur olika arbeten lämpligen utförs.

---

# Innehåll

Inledning.....	3
Sticklingförökning.....	3
Erfarenheter med tall ( <i>Pinus sylvestris</i> ).....	3
Moderplantan.....	4
Sticklingen.....	4
Rotningsmiljö.....	5
Erfarenheter med andra närstående arter.....	6
Praktiska exempel på storskalig förökning – I. Radiatall i Nya Zeeland.....	7
Praktiska exempel på storskalig förökning – II. Loblollytall och elliottall i USA.....	7
Praktiska exempel på storskalig förökning – III. Tallhybrider i Australien.....	9
Mikroförökning.....	9
Organogenes.....	9
Somatisk embryogenes.....	10
Slutsatser.....	11
Referenser.....	13
Erkännande.....	16



## Inledning

Tallsläktet rymmer många arter med ett undantag – naturligt förekommande endast på norra halvklotet. Flera arter är betydelsefulla skogsträd och skogsodling av tallarter förekommer på alla kontinenter.

Många tallarter är svåra att föröka vegetativt på ett kostnadseffektivt sätt. Den nordiska tallen, *Pinus sylvestris* L., inordnar sig bland de mest motsträviga. Vegetativ förökning medför stora fördelar i förädlingen och minskar tiden mellan förädlingsframsteg och realiserad vinst i skogsbruket. När dessutom stora framsteg gjorts vad gäller vegetativ förökning av andra tallarter är det av intresse att sammanställa den befintliga kunskapen och se om det är möjligt att också utveckla metoder för vår inhemska och ekonomiskt viktiga art.

Två huvudlinjer finns i utvecklingen av vegetativa förökningsmetoder:

- Sticklingförökning innebär att sticklingar, d.v.s. kvistar och skott, tas från en moderplanta och sticks i lämpligt substrat och miljö varvid rötter bildas och därmed nya kompletta plantor. Dessa nya plantor har då samma arvsanlag som moderplantan.
- Mikroförökning utförs på laboratorium där vävnad från en individ förökas på odlingsmedium i steril miljö. Plantor regenereras sedan från den förökade vävnaden. Även i detta fall är plantorna genetiska kopior av ursprungsindividerna.

Syftet med denna litteraturgenomgång är att uppdatera läget vad gäller vegetativ förökning av tall, samt att ge underlag för att bedöma hur metoder för den nordiska tallen kan utvecklas.

## Sticklingförökning

### ***Erfarenheter med tall (Pinus sylvestris)***

Sticklingförökning av tall har provats i Sverige sedan mitten av 1900-talet med i regel nedslående resultat (Rundquist & Stefansson, 1950). Det stod tidigt klart att moderplantans ålder spelar ännu större roll för tall än för gran. Under 1970-talet fanns åter ett intresse för tallsticklingar och problemet angreps mer systematiskt. På SLU studerades hur sticklingar från unga tallplantor rotar sig (Kellerstam, 1979). Bäst resultat erhöles med hypokotylsticklingar och hormonbehandling. En hypokotylstickling tas med ett snitt under kotyledonerna (de första barren som bildas) i ett mycket tidigt skede i plantans liv. Ett sådant förfarande är endast av teoretiskt intresse, eftersom förökningsfaktorn maximalt kan uppgå till 1. På något äldre plantor kan sticklingen tas ovanför kotyledonerna (epikotylsticklingar). Rotningen av dessa blev endast 50 % och sticklingar från tvååriga moderplantor rotade sig till 25 % (Kellerstam, 1979).

De faktorer som har betydelse för sticklingförökning av tall kan hänföras till tre huvudgrupper:

- de som rör moderplantan,
- de som rör sticklingen och
- de som rör rotningsmiljön.

### **Moderplantan**

Den mest omfattande studien av sticklingförökning av tall i Sverige gjordes av Strömquist (1979). De viktigaste slutsatserna från denna var att moderplantorna inte bör vara äldre än två år, vilket bekräftade resultaten från studier av Boeijink & van Broekhuizen (1974). En annan viktig faktor är i vilken fas moderplantan befinner sig. I undersökningarna av Strömquist (1979) erhöles bäst rotning strax före skottsträckning och då skottsträckningen avslutats men dormancy inte inträtt. Rotningsfrekvenser på 50–90 % erhöles om alla faktorer samverkade på ett optimalt sätt.

Förmågan att sticklingförökas påverkas av genetik (Strömquist, 1979), ett förhållande som är välkänt från många andra trädslag. De rotningsprocenter som redovisats bör i en praktisk förökningssituation reduceras ytterligare och tämligen kraftiga selektioner kan bli fallet. Å andra sidan minskar denna effekt ju bättre förökningsmetoder som utvecklas.

Åtgärder som motverkar svamp- och bakterieangrepp på moderplantorna är en viktig förebyggande åtgärd.

### **Sticklingen**

Två typer av sticklingar med potential att fungera som förökningsmetod har testats för tall (och för många andra arter tillhörande tallsläktet): ”vanliga” sticklingar, d.v.s. sticklingar från skott som bildats från normalt ansatta knoppar, och sticklingar från korta skott som bildats från adventiva knoppar som inducerats i barrknippen.

Det finns förvånansvärt lite information om hur en konventionell stickling skall se ut morfologiskt för att gynna rotningen. Däremot finns flera olika behandlingar beskrivna som har förbättrat rotningen. Den viktigaste är hormonbehandling, vanligen med det syntetiska auxinet indol-smörsyra (IBA). Rotningen förbättras oftast om sådan behandling skett genom att doppa den basala änden i auxinlösning (Boeijink & van Broekhuizen, 1974; Strömquist, 1979). Före doppning i auxin rekommenderas att ett nytt basalt snitt görs.

Många olika beteckningar finns för inducerade korta skott: kortskott, dvärgskott, brachyblaster, fascikulära skott, interfascikulära skott, barrknippeskott (Hillson & Dancik, 1978). Trots denna flora av beteckningar menar man oftast samma sak. För att inte skapa onödig förvirring kommer beteckningen kortskott att användas i denna översikt.

Kortskott induceras genom att terminalknopparna tas bort. Ofta förbättras effekten om plantan samtidigt sprayas med hormonlösning. Whitehill & Schwabe (1975) erhöll flest kortskott med endast cytokinin, medan en blandning av cytokinin och auxin gav färre men längre skott.

I rapporten av Whitehill & Schwabe (1975) fick sticklingarnas basala delar stå i auxinlösning i 48 timmar. Auxinbehandlingen förbättrade rotningresultatet väsentligt och upp till 90 % rotning erhöles.

Whitehill & Schwabe (1975) rapporterade också att lagring av sticklingarna i 0–5°C i två månader efter klippning förbättrade rotningresultatet.

Som regel rotar sig kortskott bättre än konventionella sticklingar, men är naturligtvis känsligare och besvärligare att hantera (Strömquist, 1979). Ekonomiskt sett är kortskottsticklingar attraktiva som alternativ för förökning i större skala, eftersom förökningsfaktorn potentiellt är mycket större.

### **Rotningsmiljö**

De klimatförhållanden som rekommenderas vid rotning skiljer sig inte nämnvärt från gängse rutiner som används för mer lättrotade trädslag. Hög luftfuktighet under rotning är ett självklart krav, eftersom sticklingen inte har något rotsystem som kan ta upp vatten. Boeijink & van Broekhuizen (1974) uppmätte 80 % relativ luftfuktighet under dagen och 90 % under natten i sina experiment, vilket var tillräckligt. Ett dimbevattningssystem ökar säkerheten väsentligt med avseende på luftfuktighet.

Ofta används undervärme, även om det inte är ett krav (Strömquist, 1979). Temperaturer i intervallet 20–30°C är det vanliga under rotning (Boeijink & van Broekhuizen, 1974; Strömquist, 1979). Intressant att notera är att rotningen gynnades av låga natterperaturer i studierna av Strömquist (1979). Detta kan vara en dubbel effekt, dels kan sticklingen återställa sin vattenbalans under nattens svala förhållanden, dels kan riskerna för svamp- eller bakterieangrepp minska eftersom luftfuktigheten kan sänkas om temperaturen sänks (Cameron & Rook, 1974).

När det gäller ljusförhållanden verkar toleransen vara ganska vid. Till exempel rotade Whitehill & Schwabe (1975) kortskottsticklingar i kontinuerligt ljus, bestående av dagsljus under 12–14 timmar och svag belysning under resterande del av dygnet, medan Boeijink & van Broekhuizen (1974) förlitade sig på det naturliga ljuset. Något avgörande skäl för rotning i kontinuerligt ljus verkar inte finnas. Det finns heller inga exempel där man testat rotning under kortdagsförhållanden.

Hygienen är viktig också under rotningen och fungicider har använts regelmässigt, såväl spray som i pulverform.

Rotningstiden för en tallstickling kan variera mycket, men 12 veckor kan tjäna som en tumregel. Ökande ålder hos moderplantan förlänger rotningstiden.

## **Erfarenheter med andra närstående arter**

### ***Pinus banksiana* Lamb.:**

Goda resultat har erhållits med konventionella sticklingar upp till 3 års ålder på moderplantan (80 % rotning). Hormonbehandling gjordes med naftalen-ättiksyra (NAA). Daglängden sattes till minst 16 timmar. En klar skillnad mellan dag- och nattemperatur eftersträvades och dimbevattningssystem användes. Det visade sig att sticklingar tagna på laterala skott rotade sig bättre än sticklingar tagna på toppskott (Browne m.fl., 1997a). Kortschnittsticklingar gav bättre rotningssvar vid äldre moderplantor (4 år, 85 %, 8 år, 49 %). Kortschnitt som bildats efter beskärning efter två års skotttillväxt gav bäst rotning. Konventionella sticklingar rotade sig betydligt sämre (4 år, 29 %, 8 år, 4 %). Kortschnittsticklingar klippta på våren året efter kortschnittsinducering var 8–12 cm långa, vilket är längre än i många andra undersökningar (Browne m.fl., 1997b).

### ***Pinus nigra* var. *maritima* (Ait.) Melville:**

Kortschnittsticklingar inducerade på 2-åriga plantor rotade sig till 50 %. Auxinbehandling var nödvändig. Konventionella sticklingar rotade sig till 35 % (Spanos m.fl., 1993).

### ***Pinus pinaster* Ait:**

Förökning med kortschnittsticklingar har provats i Frankrike. Toppknoppen tas bort under vintern, rotning startar i juni, sticklingarna behandlas med IBA och IAA (indol-ättiksyra). Förökningen görs för förädlingsändamål och rotningen är jämförbar med *Pinus sylvestris* (Alazard, 1988). Liknande metodik har testats i Sydafrika med samma resultat. Här noterades att kortschnitten bör vara välutvecklade. Om det basala snittet gjordes V-format utvecklades rötterna mer symmetriskt. Ett kraftigt klonberoende konstaterades och man rekommenderade att lägga stor vikt vid ett genetiskt urval för rotningssvårighet (Donald, 1993).

### ***Pinus contorta* var. *latifolia* Engelm.:**

Contortatall är genomgående lättare att sticklingföra än vanlig tall. Lindgren m.fl. (1992), beskriver en metod där moderplantorna odlas naturligt under första tillväxtperioden, invintrar naturligt och odlas sedan artificiellt under den andra tillväxtperioden, då också sticklingarna tas. Fries & Kaya (1997) erhöll mellan 44 och 77 % rotning i en studie där metoden tillämpades. Efter fortsatta studier av detta material, med användning av både kraftig beskärning och seriell förökning för att höja produktionen av sticklingar och bevara rotningssvårigheten, gör författarna bedömningen att sticklingförökning skulle kunna användas i förädling (Fries & Kaya, 1996). Såväl familj, klon som förökningsår hade signifikant påverkan på rotningssvårigheten. Metoden har testats för vanlig tall men detta fungerade dåligt (Lindgren m.fl., 1992).



## **Praktiska exempel på storskalig förökning – I. Radiatatall i Nya Zeeland**

Det första exemplet på en storskalig sticklingförökning av en tallart kom från Nya Zeeland, där Tasman Forestry Ltd. sedan 1980-talet driver ett program för förädling och förökning av radiatatall (*Pinus radiata* D. Don) (Arnold & Gleed, 1985; Menzies m.fl., 1985; Menzies m.fl., 1992).

Programmet bygger på bulkförökning av selekterat material. Detta kan ske på två sätt:

- med sticklingar från fröplantor av utvalda helsyskonfamiljer  
eller
- med sticklingar från unga träd i praktiska planteringar.

När helsyskonfamiljer används sker sådden tidigt på våren. Fyra–fem månader efter sådd toppas fröplantorna på en höjd av 10–30 cm varvid i genomsnitt 4 sidoskott utvecklas till sticklingar, vilka sedan kan sköras 9–10 månader efter sådd. Toppningen upprepas årligen och fröplantorna kan på detta sätt producera sticklingar i upp till 4 år. Rotningsprocenten överstiger vanligen 80 %. En variant som ökar multipliceringen avsevärt är att använda kortskottsticklingar. Dessa sätts i kruka och ställs utomhus i skugga under en månad, varefter rotningen sker i växthus. Ett år efter sådd finns ca 25 rotade sticklingplantor per ursprungsplanta som sedan kan användas som moderplantor för storskalig förökning.

I praktiska planteringar tas sticklingar vid 3–4 års ålder. Sticklingarna sköras på vintern, sticks utomhus och rotar sig sedan under våren. Sjuttiofem procents rotning är normalt.

Vid massförökning klipps sticklingarna under tidig vinter-midvinter (obs! maj-juni på södra halvklotet), vilka sedan sticks utan lagring i upphöjda bäddar på friland. Inga hormoner behövs. Optimal sticklinglängd är mellan 70 och 100 mm. Bevattning behövs om väderleken är varm och torr. Sticklingarna böjer sig efter stickning i vad som närmast kan betecknas som att vissna partiellt, men de återhämtar sig inom 4 veckor. På våren startar sticklingarna sin höjdtillväxt för att sedan rotas under försommaren. Ett år efter stickningen är plantorna färdiga för plantering i fält.

## **Praktiska exempel på storskalig förökning – II. Loblollytall och elliottall i USA.**

Under 1990-talet har också metoder för sticklingförökning av loblollytall (*Pinus taeda* L.) och elliottall (*Pinus elliottii* Engelm.) utvecklats i sydöstra USA (Anon., 1996; Anon., 1997). Dessa båda tallarter betraktades som svårrotade så sent som för ett decennium sedan, men visar i dag på sådana förbättrade rotningresultat att detta inte längre gäller. Hur har detta gått till? En bidragande orsak är att man har haft en mycket bred ansats i forskningsarbetet med experiment och analyser av de flesta faktorer som påverkar förökningresultatet.

En klar variation mellan familjer i rotning har konstaterats. De 10 bästa familjerna av 25 rotades till mer än 80 %. Korrelationerna på familjenivå mellan rotningens förmåga och avelsvärden för tillväxt låg nära noll. Detta öppnar möjligheterna att rangordna elitfamiljer med avseende på rotning och på så sätt kunna välja de som uppfyller både krav på rotning och hög tillväxt.

Trots att ett första rotningsexperiment visade att ökande häckålder gav sämre rotning, syntes inget av detta i nästa experiment. Här blev den seriellt förökade häcken med moderplantorna i krukor bäst. Resultaten indikerar att odlingsbetingelserna för moderplantorna kan betyda mer för rotningen än åldrande, i alla fall upp till 4 år efter sådd och att symptom på åldrande kan vara miljöbetingade och inte ontogenetiska.

Man letar också efter auxin-inducerade gener som uttrycks i den unga plantan men inte i den gamla. Syftet är att kunna aktivera genen också i den äldre plantan och därmed förlänga den rotningens villiga fasen. Det förefaller emellertid vara lång väg kvar innan en sådan metod nått tillämpning.

Tillväxtdynamiken verkar inte spela så stor roll för rotningen, även om tendensen är att rotningen fungerar bättre om inte någon vilande knopp anlagts. Bäst rotning erhålls således under skottsträckningen innan knoppsättning.

Häckarna hålls mycket korta, ca 20 cm. Inga morfologiska markörer för rotning har påträffats.

Gynnsamma effekter av höga kvävenivåer i moderplantorna har konstaterats. Borbrist har visat sig vara ogynnsamt för rotning och en borhalt på minst 15 ppm. rekommenderas. Säsongsmissiga variationer i kolhydratstatus har inte påverkat rotningens resultatet för sticklingar från loblollyhäckar.

Köldskador på frilandsodlade moderplantor gav en drastisk sänkning av rotningen.

Behandling av loblollysticklingar med NAA (naftalen-ättiksyra) i pulverform har fungerat bra i experiment med vinterstickning (vilande, förvedade sticklingar), medan effekten är marginell vid vår- och sommarstickning (aktiva örtartade eller halvförvedade sticklingar). Det har visat sig att sticklingen rotar sig bättre om ett nytt snitt gjorts vid basen omedelbart före stickning, en s.k. ”re-cut”. Rotningen försämrades om barken och de nedre barrparen avlägsnades före stickning. Den generella behandlingsmetoden är att sticklingen doppas i NAA-lösning i 3 sekunder efter ”re-cut”. I motsats till loblollytall rotar sig elliottallen sämre efter NAA.

Under rotningen strävar man efter att hålla vattenpotentialen i sticklingarnas xylem högre än  $-1,7$  MPa, ett gränsvärde som baseras på experiment där sticklingarna fick rota sig med begränsad dimbevattning, respektive dimma. Det är mycket viktigt att dimbevattningssystemet ger jämna förhållanden.

Varken gödning eller inokulering av mykorrhiza under rotningen har gett några effekter av betydelse på rotningens förmågan.

En blandning av torv/perlit i förhållandet 40:60 hade högst rotningens procent i ett experiment med loblollysticklingar. Dock måste alla substratvarianter bedömas tillsammans med den övriga rotningens miljö och den tekniska utrustningen.

### Praktiska exempel på storskalig förökning – III. Tallhybrider i Australien

Ytterligare ett exempel på sticklingförökning av tall i större skala finns i Queensland i Australien (Haines & Walker, 1993; Haines m.fl., 1992). Här producerar man sticklingplantor av hybriden mellan elliottall och karibisk tall (*Pinus caribaea* Morelet). Förhållandena är tropiska, men förökningen följer i stort sett samma mönster som för radiatall i Nya Zeeland, varför endast en kort beskrivning ges.

Moderplantorna planteras på friland och toppas 15–20 cm på höjden. Toppningen sker maskinellt efter skörd av sticklingar. Fyra sticklingskördar per år kan tas med gödsling och vattning för optimal tillväxt.

Sticklingarna tas halvförvedade och rotas direkt på friland, antingen direkt i bädden eller i container. Rotningen på frilandsbädd sker under skuggväv och med bevattning 8–10 gånger per dag och upp till 7 minuters varaktighet per gång. Efter 12–16 veckor har rötter bildats och bevattningen minskas då successivt. Sticklingplantan är färdig för plantering 7–8 månader efter stickning. I container skuggas sticklingarna på samma sätt men bevattningen sker mer frekvent och med kortare varaktighet. En containerrotad planta är färdig någon månad tidigare än en frilandsrotad. Plantutbytet ligger på ca 80 % planteringsdugliga plantor, något lägre för frilandsbädd och något högre vid rotning i container.

Sticklingplantorna har i fältförsök inte skilt sig från fröplantor, vare sig i tillväxt eller form.

## Mikroförökning

Vegetativ förökning *in vitro* av tall har provats med många olika explantat (utgångsvävnader). *In vitro*-förökning är mycket komplex till sin natur och många faktorer påverkar responsen hos vävnaden, t.ex. genotyp, näringsstatus, agar-kvalitet, sättet att applicera och koncentrationen av tillväxtregulatorer (Bornman, 1983; Vogelmann m.fl., 1984). Två olika vägar kan användas för vegetativ förökning *in vitro*: organogenes, d.v.s. framställning av små skott från en ursprungsvävnad följt av rotning av dessa och somatisk embryogenes.

### Organogenes

Flera olika vägar kan följas för att föröka genom organogenes *in vitro*. Gemensamt för alla är att det sista steget består av rotning av producerade skott.

Hohtola (1988) visade att det var möjligt att producera callus från knoppar av adulta tallar (10–40 års ålder). Trots byte av medium dog de flesta calluskulturerna successivt efter 3–5 månader. Bildande av organ skedde endast i sällsynta fall. Laukkanen m.fl. (1997) studerade effekten av två olika media på tillväxt, metabolism och vitalitet i calluskulturer. Frekvent brunfärgning och degenerering av vävnad gjorde att vävnadskulturerna som inducerats från adulta tallar blev oerhört svåra att vidmakthålla och det har inte rapporterats om någon framgångsrik plantframställning.

Framställning av plantor genom vävnadsförökning med kotyledoner som explantat har rapporterats av Häggman m.fl. (1996). Kotyledonerna hade tagits från grodda embryon. Från kotyledonernas vävnad bildades adventiva knoppar som utvecklades till skott som sedan rotades. Utfallet av mikroförökningen blev blygsamt, främst beroende på den låga rotningsprocenten (6 %). Genotypen hade en signifikant inverkan både på skottproduktion och rotning. De mikroförökade plantorna karakteriserades av dålig rotningsförmåga, plagiotropiskt växtsätt och tidig blomning, vilket tyder på att ett irreversibelt åldrande skett. Under vissa förhållanden kan ett sådant åldrande vara fördelaktigt, t.ex. att förkorta tiden till avkommeprövning i tallförädling. Det har dock rapporterats om vävnadsförökade plantor som växt på samma sätt som fröplantor, men förökningen skedde då på ett annat sätt och med endast en genotyp (Supriyanto & Rohr, 1994). Normand m.fl. (1996) har visat att rotning *in vitro* och acklimatisering av mikroförökade skott av tall krävde behandling med IAA och förbättrades om en ektomykorrhizasvamp var närvarande.

Plantregenerering från axillära knoppar, inducerade i skottspetsar hos 3–9 veckor gamla fröplantor har beskrivits av (Zel m.fl., 1988). Vid induceringen bildades också adventiva knoppar men deras utveckling hämmades av de axillära skottens tillväxt. De axillära knopparna utvecklades till centimeterlånga skott som rotades upp till 64 %.

Oavsett vilken typ av organogenes *in vitro*, eller kombinationer av dessa, som testats, har ingen praktisk tillämpning kunnat baseras på tillvägagångssätten. Det hittills svåraste momentet har varit rotning av de producerade skotten.

## **Somatisk embryogenes**

Somatisk embryogenes har rapporterats från en rad tallarter, förutom *Pinus sylvestris* (Hohtola 1995; Keinonen-Mettälä m.fl., 1996; Sarjala m.fl., 1997; Lelu m.fl., 1999) kan nämnas *P. caribaea* (David m.fl., 1995); *P. elliottii* (Newton m.fl., 1995); *P. koraiensis* (Bozhkov m.fl., 1997); *P. lambertiana* (Gupta, 1995); *P. nigra* (Salajova m.fl., 1995); *P. palustris* (Nagmani m.fl., 1993); *P. patula* (Jones m.fl., 1993); *P. pinaster* (Bercetche & Pâques, 1995); *P. radiata* (Chandler & Young, 1995); *P. strobus* (Kaul, 1995) och *P. taeda* (Becwar & Pullman, 1995).

Den tidiga embryoutvecklingen hos *Pinus*-arter karakteriseras av polyembryony som leder till att fyra genetiskt identiska zygotiska embryon bildas (Tautorius m.fl., 1991). Det har visat sig att utvecklingsstadiet hos de zygotiska embryona är en kritisk faktor vid initiering av embryogena kulturer från barrträd, så också hos tall. Även om embryogena kulturer har erhållits från mogna zygotiska embryon Hohtola (1995), är chansen väsentligt större att lyckas om omogna zygotiska embryon används som utgångsmaterial (Keinonen-Mettälä m.fl., 1996; Sarjala m.fl., 1997; Lelu m.fl., 1999).

De första rapporterna om en lyckad plantregenerering från somatiska embryokulturer av tall kom så sent som 1999 (Lelu m.fl., 1999; Häggman m.fl., 1999). I studien av Häggman m.fl. (1999), kunde dock endast ett fåtal plantor av en enda genotyp produceras. I studien av Lelu m.fl. (1999) erhöles höga initieringsfrekvenser med embryon på fyracellstadiet fram till polyembryonystadiet (upp till 22 %). Explantaten utgjordes av megagametofyter (frövita) med embryo. Mognad av ett stort antal somatiska embryon kunde göras på ett medium med hög koncentration av gellan och abskissinsyra. Somatiska

embryon med kotyledoner hade hög gröningskapacitet (72 %) och god förmåga att regenereras till plantor (48 %).

Kryolagring, lagring i flytande kväve ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) har viktiga fördelar:

- bevara förökningsförmågan under lång tid,
- minskad risk för somaklonal variation vid långa kulturtider,
- möjlighet att lagra en stor mängd genotyper i ett litet och säkert utrymme.

Kryolagring har provats för olika tallarter med lyckat resultat: *Pinus caribaea* (Lainé m.fl., 1992); *P. patula* (Ford m.fl., 2000); *P. pinaster* (Bercetche & Pâques, 1995); *P. radiata* (Chandler & Young, 1995); *P. sylvestris* (Häggman m.fl., 1998); *Pinus taeda* (Gupta m.fl., 1987).

En effektiv kryolagringsmetod har utvecklats för embryogena tallkulturer av (Häggman m.fl., 1998). I den viktiga dehydrerande förbehandlingen används sackaros och en blandning av polyetylglykol, glukos och DMSO (dimetylsulfidoxid) för att minska kristallbildningen under nedfrysning. Undersökningar av den genetiska stabiliteten hos embryogena tallkulturer med hjälp av molekylära markörer har inte påvisat några förändringar efter kryolagring. Men morfologiska och cytologiska studier bör komplettera sådana undersökningar för att ge säkrare mått på eventuella förändringar (Fourré m.fl., 1997).

## Slutsatser

Tall är definitivt svår att föröka med sticklingar, detta också i jämförelse med andra arter av detta släkte. Trots detta verkar möjligheterna goda att utveckla sticklingförökning till rotningsresultat som räcker för användning i förädlingen. Framför allt visar utvecklingen av sticklingförökning av loblollytall och eliottall i USA på detta.

Den genetiska komponenten måste ägnas stor uppmärksamhet. Det är sannolikt att det vid en praktisk tillämpning måste till en ganska kraftig genetisk selektion för att förökningen skall bli effektiv. Det är då viktigt att kontrollera vilka eventuella selektionseffekter som uppstår, t.ex. genom att utgångsmaterialet är väl genetiskt definierat.

Det förefaller svårt att använda friväxande moderplantor som är äldre än två år, medan kortschnittsticklingar kan tas från några år äldre plantor. En regelbunden kraftig beskärning kan vara ett alternativ för att bibehålla förökningsförmågan under en längre tid och för att ge en högre förökningsfaktor. Med tanke på åldrandeproblematiken är metoder för snabb exploatering av moderplantan viktiga att utveckla.

God hygien under odlingen av moderplantor är nödvändig. Höga näringshalter i moderplantan skall eftersträvas, särskilt borhalten bör uppmärksammas.

Klippning/stickning bör ske i slutet av april eller i slutet av juli/början av augusti. Vid sommarförökning skall tiden mellan klippning och stickning minimeras och sticklingen får inte utsättas för låg luftfuktighet. Även klippning i

december/januari följt av kyl- eller fryslagring och stickning i mars, kan vara ett intressant alternativ.

Både konventionella sticklingar och kortskottsticklingar kan komma ifråga i en praktisk tillämpning. Behandling med auxin före stickning är nödvändig, både IBA och NAA kan komma ifråga.

De viktigaste faktorerna i rotningssmiljön är temperatur, fuktighet och ljus. Ett temperaturintervall på 20–30°C under dagen förefaller lämpligt, medan en sänkning av temperaturen bör eftersträvas på natten, 10–15°C.

Luftfuktigheten skall hålla minst 80 %, helst mer. Dimbevattningssystem är förmodligen nödvändiga, åtminstone vid sommarförökning. Som alltid vid sticklingförökning är det viktigt att bevattning och substrat balanseras så att inte syrebrist uppstår i rotzonen. Normal fotosyntesperiod för säsongen skall vara tillräcklig, såvida inte sticklingarna tas utanför den naturliga säsongen från moderplantor som odlas i artificiellt ljus.

Utveckling av en tillämpbar metod för att sticklingföröka tall, kräver en systematisk genomgång av viktiga faktorer som genetik, moderplantan, sticklingen och rotningssmiljön. Naturligtvis måste också sticklingplantornas tillväxt och utseende i fält följas upp och jämföras med fröplantor med samma genetiska ursprung.

Det är viktigt att undersöka i hur hög grad genetiken påverkar förmågan till förökning med somatisk embryogenes. Skulle en kraftig selektion för förökningens förmåga bli fallet måste konsekvenserna av detta för andra egenskaper undersökas.

Vegetativ förökning av tall *in vitro* kan komma att utgöra ett alternativ till traditionell rotning av sticklingar, framför allt för barrträd. För tall finns flera metoder att tillgå, men det förefaller som om somatisk embryogenes har den största potentialen för praktisk användning, genom möjligheten att kryolagra vävnad under lång tid med bibehållen förökningens förmåga. De i dagsläget höga kostnaderna för framställning av plantor med somatisk embryogenes kan minskas genom att utveckla automatisk hantering av de somatiska embryona. Om sticklingförökning av tall kan utvecklas så att rotning och plantbildning närmar sig de resultat som nås med gran finns intressanta möjligheter att kombinera somatisk embryogenes och sticklingförökning. Somatisk embryogenes bidrar då med etablering och kryolagring av embryogena kulturer samt framställning av plantor från kulturen för klontestning och sticklingförökning skulle användas i de sista stegen av massförökningen för att minska plantkostnaden.

Även om mycket arbete lagts ner på somatisk embryogenes av tall i olika laboratorier, kunde en lyckad plantregenerering rapporteras så sent som 1999, vilket betyder att mycket utveckling fortfarande återstår. Det vore naturligtvis önskvärt att kunna initiera embryogena kulturer också från äldre vävnad än vad som är möjligt i dag, i första hand embryon från mogna frön men också om möjligt från äldre träd. Detta ligger dock tämligen långt fram i tiden.

## Referenser

- Alazard, P. 1988. Multiplication végétative et sélection clonale chez le pin maritime. *Annales de Recherches Sylvicoles* 1987: 125-129. AFOCEL, Paris.
- Anonymus. 1996. North Carolina State University loblolly and slash pine rooted cutting programs. Progress Report for 1996. Stencil, 24 s.
- Anonymus. 1997. North Carolina State University loblolly and slash pine rooted cutting programs. Progress Report for 1997. Stencil, 16 s.
- Arnold, R. and Gleed, J. A. 1985. Raising and managing radiata pine cuttings for production forests. *Austr. For.* 48, 199–206.
- Becwar, M. R. & Pullman, G. S. 1995. Somatic embryogenesis in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). I: Jain S. M., Gupta P. K. & Newton R. J (red.) Somatic embryogenesis in woody plants, vol. 3: 287–301. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bercetche, J. & Pâques, M. 1995. Somatic embryogenesis in maritime pine (*Pinus pinaster*). I: Jain, S. M., Gupta, P. K. & Newton, R. J. (red.) Somatic embryogenesis in woody plants, vol. 3: 221–242. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Boeijink, D. E. & Broekhuizen, J. T. 1974. Rooting of *Pinus sylvestris* under mist. *N. Z. J. For. Sci.* 4:127-132.
- Bornman, C. H. 1983. Possibilities and constraints in the regeneration of trees from cotyledonary needles of *Picea abies* *in vitro*. *Physiol. Plant.* 57: 5–16.
- Bozhkov, P.V., Ahn, I.S. & Park, Y.G. 1997. Two alternative pathways of somatic embryo origin from polyembryogenic mature store seeds of *Pinus koraiensis* Sieb et Zucc. *Can. J. Bot.* 75: 509-512.
- Browne, R. D., Davidson, T. A., Steeves, T. A. & Dunstan, D. I. 1997a. Effects of ortet age on adventitious rooting of jack pine (*Pinus banksiana*) long-shoot cuttings. *Can. J. For. Res.* 27: 91–96.
- Browne, R. D., Davidson, C. G., Steeves, T. A. & Dunstan, D. I. 1997b. Rooting of proliferated dwarf shoot cuttings of jack pine (*Pinus banksiana*). *Can. J. For. Res.* 27: 97–101.
- Cameron, R. J. & Rook, D. A. 1974. Rooting stem cuttings of radiata pine: Environmental and physiological aspects. *N. Z. J. For. Sci.* 4: 291–298.
- Chandler, S. F. & Young, R. 1995. Somatic embryogenesis in *Pinus radiata* Don. I: Jain, S. M., Gupta, P. K. & Newton, R. J. (red.) Somatic embryogenesis in woody plants, vol. 3: 243–256. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- David, A., Lainé, E. & David, H 1995. Somatic embryogenesis in *Pinus caribaea*. I: Mohan Jain S, Gupta PK & Newton RJ (red), Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Vol. 3, 145-181. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Donald, D. G. M. 1993. Vegetative propagation of pines, using cuttings. *South African Forestry Journal* 140: 16–23.
- Ford, C.S., Jones, N.B. & van Staden, J. 2000. Cryopreservation and plant regeneration from somatic embryos of *Pinus patula*. *Plant Cell Rep.* 19: 610-615.

- Fourré, J. L., Berger, P., Niquet, L. & André, P. 1997. Somatic embryogenesis and somaclonal variation in Norway spruce: morphogenetic, cytogenetic and molecular approaches. *Theor. Appl. Genet.* 94: 159–169.
- Fries, A. & Kaya, Z. 1996. Parameters affecting shoot production and rooting of cuttings from lodgepole pine hedges. *New Forests* 12: 101–111.
- Fries, A. & Kaya, Z. 1997. Genetic control of rooting ability of lodgepole pine cuttings. *Fprest Science* 43: 582–588.
- Gupta, P. K., Durzan, D. J. & Finkle, B. J. 1987. Somatic polyembryogenesis in embryogenic cell lines of *Picea abies* (Norway spruce) and *Pinus taeda* (loblolly pine) after thawing from liquid nitrogen. *Can. J. For. Res.* 17: 1130–1134.
- Gupta, P. K. 1995. Somatic embryogenesis in sugar pine (*Pinus lambertiana* Dougl.). I: Mohan Jain S, Gupta PK & Newton RJ (red), *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*, Vol. 3, 197-205. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Haines, R. J., Copley, T. R., Huth, J. R. & Nester, M. N. 1992. Shoot selection and the rooting and field performance of tropical pine cuttings. *Forest Science* 38: 95–101.
- Haines, R. J. & Walker, S. M. 1993. Vegetative propagation for the capture of genetic gain with pine hybrids in Queensland. I: Proc. Meeting Research Working Group 1 of the Australian Forestry Council, Canberra, February 1993. 4. pp.
- Hillson, R. H. and Dancik, B. P. 1978. Proliferation of short shoots in container-grown Scots pine seedlings: a means towards rapid vegetative multiplication. *Tree Planter's Notes* 29: 9–12.
- Hohtola, A.. 1988. Seasonal changes in explants viability and contamination of tissue cultures from mature Scots pine. *Plant Cell Tiss.Org. Cult.* 15: 211-221.
- Hohtola, A.. 1995. Somatic embryogenesis in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). I: Mohan, Jain S, Gupta, P. K. & Newton, R. J (red.) *Somatic embryogenesis in woody plants*, vol. 3: 269–285. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Häggman, H.M., Aronen, T. S. & Stomp, A. M. 1996. Early-flowering Scots pine through tissue culture for accelerated tree breeding. *Theor. Appl. Genet.* 93: 840–848.
- Häggman, H. M., Ryyänen, L. A., Aronen, T. S. & Krajnakova, J. 1998. Cryopreservation of embryogenic cultures of Scots pine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 54: 45–53.
- Häggman, H.M., Jokela, A., Krajnakova, J., Kaupp, A., Niemi, K. & Aronen, T. 1999. Somatic embryogenesis of Scots pine: cold treatment and characteristics of explants affecting induction. *Journal of Experimental Botany* 50: 1769–1778.
- Jones, N.B., van Staden, J. & Bayley, A .D. 1993. Somatic embryogenesis of *Pinus patula*. *J. Plant Physiol.* 142: 366-372.
- Kaul, K. 1995. Somatic embryogenesis in eastern white pine (*Pinus strobus* L.). I: Mohan Jain S, Gupta PK & Newton RJ (red), *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*, Vol. 3, 257-268. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.



- Keinonen-Mettälä, K., Jalonen, P., Eurola, P., von Arnold, S. & von Weissenberg, K. 1996. Somatic embryogenesis of *Pinus sylvestris*. *Scand. J. For. Res.* 11 (3): 242–250.
- Kellerstam, H. 1979. Redogörelse för projektet ”Sticklingsförokning av tall”. SJFR-projekt S 346/P 247. Stencil. Skogshögskolan, Stockholm.
- Lainé, E., Bade, P. & David, A. 1992. Recovery of plants from cryopreserved embryogenic cell suspensions of *Pinus caribea*. *Plant Cell Rep.* 11: 295–298
- Laukkanen, H., Julkunen-Tiitto, R. & Hohtola, A. 1997. Effect of different nitrogen nutrients on the viability, protein synthesis and tannin production of Scots pine callus. *Physiol. Plant.* 100: 982–988.
- Lelu, M. A., Bastien, C., Drugeault, A., Gouez, M. L. & Klimaszewska, K. 1999. Somatic embryogenesis and plantlet development in *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster* on medium with and without growth regulators. *Physiol. Plant.* 105: 719–728.
- Lindgren, D., Fries, A., Lindgren, K. & Löfmark, S. 1992. Lodgepole pine cuttings. I: Bey, M-N., Leroy, M. & Verité, S. (red.) Mass production technology for genetically improved fast growing forest tree species. AFOCEL Meeting, Bordeaux, Sept. 1992. AFOCEL, Nangis, France, Part 1: 105–111.
- Menzies, M. I., Faulds, T., Dibley, M. & Aitken-Christie, J. 1985. Vegetative propagation of radiata pine in New Zealand. I: Proceedings of the International Symposium on Nursery Management Practices for the Southern Pines, Montgomery, Alabama, August 4–9, 1985. s. 167–190. South D. Auburn University, Auburn, Ala.
- Menzies, M. I., Faulds, T. & Dibley, M. J. 1992. Production of radiata pine cuttings for plantation in New Zealand. *Acta Hort.* 319: 359–364.
- Nagmani, R., Diner, A.M. & Sharma, G.C. 1993. Somatic embryogenesis in longleaf pine (*Pinus palustris*). *Can J. For. Res.* 23: 873–876.
- Newton, R. J., Mareck-Swize, K. A., Magallanes-Cedeno, M. E., Dong, N., Sen, S. & Jain, S.M. 1995. Somatic embryogenesis in slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.) I: Jain, M. S., Gupta, P. K. & Newton, R. J. (red.) Somatic embryogenesis in woody plants, vol. 3: 183–196. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Normand, L., Bärtschi, H., Debaud, J. C. & Gay, G. 1996. Rooting and acclimatization of micropropagated cuttings of *Pinus pinaster* and *Pinus sylvestris* are enhanced by the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*. *Physiol. Plant.* 98: 759–766.
- Rundquist, E. & Stefansson, E. 1950. Sticklingsförokning av gran och tall. Föreningen för Skogsträdsförädling, Årsberättelse: 50–70.
- Salajova, T., Salaj J., Jasik, J. & Kormutak, A. 1995. Somatic embryogenesis in *Pinus nigra* Arn. I: Mohan, Jain S, Gupta, P. K. & Newton, R. J (red.) Somatic embryogenesis in woody plants, vol. 3: 207–220. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Sarjala, T., Häggman, H. M. & Aronen, T. S. 1997. Effect of exogenous polyamines and inhibitors of polyamine biosynthesis on growth and free polyamine contents of embryogenic Scots pine callus. *J. Plant. Physiol.* 150: 597–602.

- Spanos, K. A., Mayhead, G. J. & Good, J. E. G. 1993. Vegetative propagation of Corsican pine (*Pinus nigra var. maritima*). Quarterly Journal of Forestry 87: 180–186.
- Strömquist, L.-H. 1979. Some aspects on rooting of *Pinus sylvestris* (L.) cuttings. Akademisk avhandling. Umeå Universitet. 28 s.
- Supriyanto, & Rohr, R. 1994. *In vitro* regeneration of plantlets of Scots pine (*Pinus sylvestris*) with mycorrhizal roots from subcultured callus initiated from needle adventitious buds. Can. J. Bot. 72: 1144–1150.
- Tautorus, T.E., Fowke, L.C. & Dunstan, D.I. 1991. Somatic embryogenesis in conifers. Can J. Bot. 69: 1873-1889.
- Vogelmann, T. C., Bornman, C. H. & Nissen, P. 1984. Uptake of benzyladenine in explants of *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. Physiol. Plant. 61: 513–517.
- Whitehill, S. J. & Schwabe, W. W. 1975. Vegetative propagation of *Pinus sylvestris*. Physiol. Plant. 35: 66–71.
- Zel, J., Gogala, N. & Camloh, M. 1988. Micropropagation of *Pinus sylvestris*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 14: 169–175.

## Erkännande

Bornman, C. (Prof. Emer. Lunds Universitet) har lämnat värdefulla synpunkter på manuskriptet i de delar som behandlar mikroförökning.