

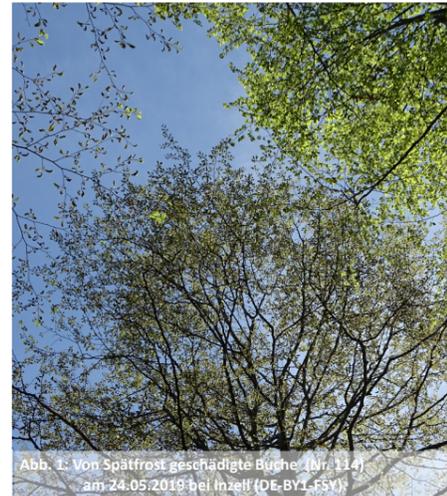
# Phänotypische Merkmale auf genetischer Ebene sichtbar machen

Marco KUNZ<sup>1</sup>, Heike LIESEBACH<sup>2</sup>, Birgit KERSTEN<sup>2</sup>, Malte MADER<sup>2</sup>, Niels Andreas MÜLLER<sup>2</sup>, Pascal Eusemann<sup>2</sup>, Frank BECKER<sup>3</sup>, Ute TRÖBER<sup>4</sup>, Susanne JOCHNER-OETTE<sup>5</sup>, Barbara FUSSI<sup>1</sup>

Im Verbundprojekt „GenMon“ wird die genetische Diversität von Buchen- und Fichtenpopulationen über ein deutschlandweites Monitoring-Netz beobachtet. Mittels neutraler Mikrosatelliten-Genmarker wird die genetische Nachhaltigkeit auf Populationsebene analysiert (z.B. Familienstrukturen, Paarungssystem, Reproduktionsdynamik). Zur Beurteilung der genetischen Anpassungsfähigkeit gegenüber Umweltveränderungen (Klimawandel) sollen Marker für anpassungsrelevante Gene entwickelt werden. Dies sind Marker, die mit bestimmten phänotypischen Merkmalen assoziiert sind. Ein entscheidendes Selektionskriterium für die Anpassungsfähigkeit ist zum Beispiel die Spätfrostresistenz. Sie ist über das Merkmal „Austriebsbeginn“ genetisch assoziiert. Da solche Marker bisher noch nicht zur Verfügung stehen, werden diese in einem separaten Arbeitspaket entwickelt.

In GenMon wurden alle Monitoring-Flächen über einen Zeitraum von drei Jahren phänologisch beobachtet (Austrieb, Blühintensität, Fruktifikation und Vitalität). Die Bonituren erfolgten stets an den gleichen Kollektiven (20 Altbäume sowie 80 bis 200 Verjüngungspflanzen).

In 2019 wurden in allen Beständen der Buche zusätzliche extreme Früh- und Spätreiber beobachtet und bonitiert. Die markantesten Extreme (22 Früh- und 29 Spätreiber aus 8 Beständen) werden für die Validierung der Marker eingesetzt. Nachfolgend werden Ergebnisse der Austriebsbonituren sowie Fortschritte bei der adaptiven Marker-Entwicklung dargestellt.



## Austriebsverhalten in Buchenbeständen

### Ergebnisse aus drei Beobachtungsjahren (Zeitraum 2017 bis 2019)

In Abbildung 2 sind die gemittelten Austriebsverlaufkurven (PI-Werte in %) für die Kollektive (A)ltbäume und (V)erjüngung für den Buchenbestand „DE-BB2-FSY“ (Angermünde) dargestellt. Auf der Sekundärachse sind die Verlaufskurven der Grünlandtemperatursummen (GTS) über die Jahre dargestellt. Es fällt auf, dass der Austrieb bei den Altbäumen immer eher beginnt (2017: Tag 119; 2018: Tag 106; 2019: Tag 95), am kürzesten lag die Verlaufsspanne im Jahr 2018 mit nur 11 Tagen zwischen Beginn (AB) und Abschluss (AE) des Blattaustriebs. Entgegen der Erwartung beginnt der Austrieb in der Verjüngung 2017 nahezu synchron und in 2019 sogar ver-spätet. Für den Bestand konnte kein Zusammenhang zwischen GTS, AB und AE aufgezeigt werden.

In Abbildung 3 sind Früh- und Spätreiber (N= 8(9) von Ngesamt = 20(21)) eines hochmontanen Buchenbestandes bei Inzell über drei Jahre aufgetragen. Es wird sehr eindeutig bestätigt, dass das Merkmal „Austriebsbeginn“ (AB) stark genetisch fixiert ist. Das Verhalten von Früh- und Spätreibern bleibt über die Jahre stets gleich. Anfang Mai 2019 ist ein Spätfrostereignis eingetreten, wovon frühtreibende Individuen in unterschiedlich starkem Ausmaß geschädigt worden sind. Sehr stark war der Schaden an Baum-Nr. 114 (vgl. Abb. 1). Dieser war über alle Jahre hinweg das am frühesten austreibende Individuum. Die Frage des Austriebszeitpunktes spielt bereits heute eine wichtige Rolle bei der Herkunftswahl. Die Bedeutung wird zukünftig noch zunehmen, wenn Ersatzherkünfte oder Alternativbaumarten aus südlichen Gefilden in Deutschland etabliert werden sollen. Adaptive Genmarker für das phänotypische Merkmal „Austriebsbeginn“ werden die entscheidende Frage der Spätfrostanfälligkeit beantworten können.

## Fortschritte bei der Markerentwicklung

In einem ersten Schritt wurden Proben von extrem früh und extrem spät austreibenden Bäumen aus einem Herkunftsversuch mittels Next-Generation-Sequencing sequenziert und die resultierenden DNA-Sequenzen gegen ein vorliegendes Referenzgenom der Buche (Mishra et al., GigaScience 2018) gemappt. Basierend auf diesen Mappings wurden zahlreiche SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) identifiziert, die durch deutliche Allelfrequenzunterschiede zwischen den Pools „früh“ und „spät“ auffallen.

Diese potentiell merkmalsassoziierten Marker müssen nun in einem nächsten Schritt mit möglichst vielen weiteren Proben von früh- und spätaustreibenden Bäumen validiert werden. Dazu wurden ausgewählte Proben von 8 Monitoringflächen eingesetzt. Abbildung 4 zeigt exemplarisch ein Zwischenergebnis der umfangreichen Markervalidierungen. Bei einem Teil der bisher geprüften SNPs existieren signifikante Allelfrequenzunterschiede, die auf eine Assoziation zwischen Merkmalsausprägung und den untersuchten DNA-Regionen hinweisen.

Die Analyse anpassungsrelevanter Gene, die für bestimmte Eigenschaften verantwortlich sind, wird unter den Bedingungen des Klimawandels immer wichtiger. Die forstliche Praxis benötigt schnelle Entscheidungshilfen bei der Herkunftswahl von Samen- und Pflanzenmaterial. Mittels SNP-Marker kann es zukünftig gelingen, das passende forstliche Vermehrungsgut zu empfehlen, das mit bestimmten Stressbedingungen besser zurechtkommt.

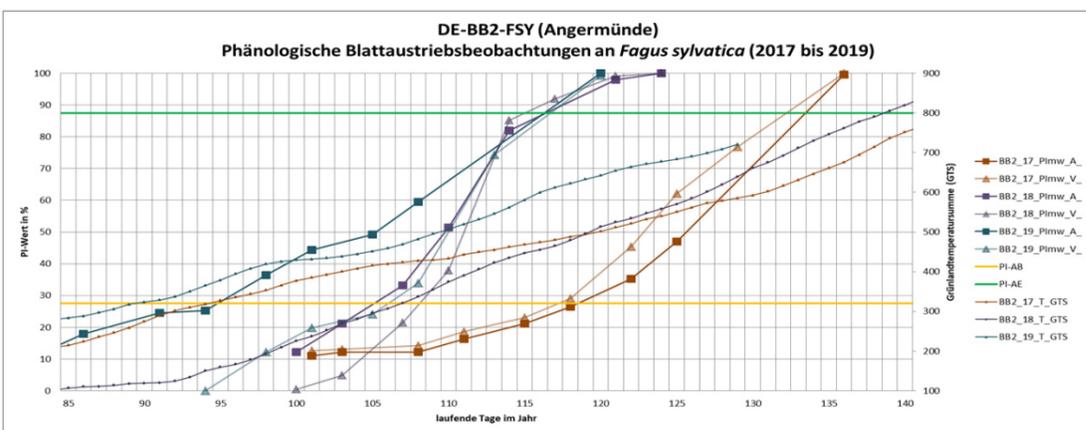


Abb. 2: Austriebsverlaufkurven (2017 – 2019) von Kollektiven (A = Altbäume (N=20), V = Verjüngung (N=80), mw = Mittelwert) in einem Buchenbestand in Brandenburg PI (Phänologischer Index: kumulierte Frequenz der Austriebsprozente zu einem bestimmten Beobachtungszeitpunkt; AB (Austriebsbeginn) bei PI-Wert >= 27,5 („10% ergrünt“); AE (Austriebsende) bei PI >87,5 (>50% der Blattmasse im Austriebsstadium). Sekundäre Horizontalachse = kumulierten positiven Temperaturmittelwerte (GTS).

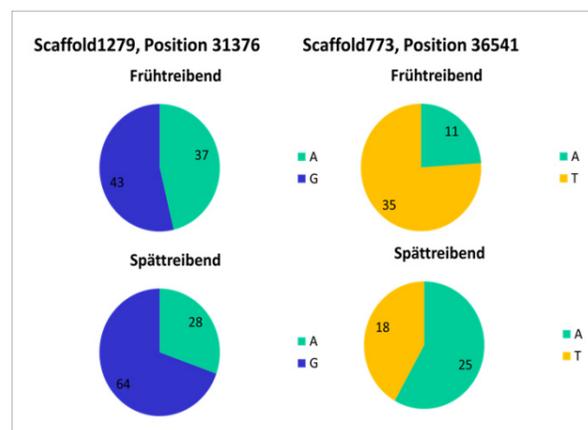


Abb. 4: Signifikante Allelfrequenzunterschiede an einem A/G-SNP im Scaffold1279 und einem A/T-SNP im Scaffold773, getestet an N = 86 bzw. N = 46 ausgewählten Bäumen.

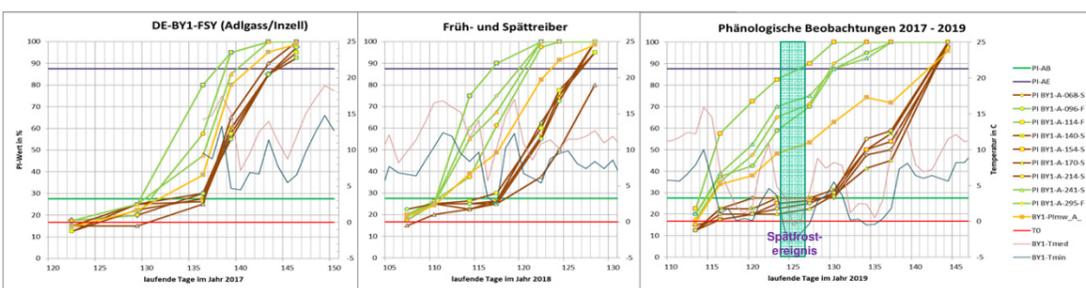


Abb. 3: Austriebsverlaufkurven von Frühtreibern („F“; grün) und Spätreibern („S“; braun) aus dem Altbäume-Kollektiv des Hochlagenbuchenbestandes DE-BY1-FSY (Adlgass/Inzell) für die Kalenderjahre 2017 - 2019. Auf der Primärachse sind die PI-Werte in %, auf der Sekundärachse die Tagesmittel- (Tmed) und Tagesminimum- (Tmin) Temperatur in Grad Celsius dargestellt. AB und AE wie in Abb.2. Im Jahr 2019 gab es ein Spätfrostereignis um den 125. Kalendertag (5. Mai). Hiervon waren Frühtreiber in unterschiedlichem Ausmaß betroffen (Abb.1)

