

Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen

7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 12. bis 14. September 2022 in Ahrensburg

Tagungsband

Mirko Liesebach (ed.)

Thünen Report 105

Bibliografische Information:
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikationen in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet unter www.dnb.de abrufbar.

Bibliographic information:
The Deutsche Nationalbibliothek (German National Library) lists this publication in the German National Bibliography; detailed bibliographic data is available on the Internet at www.dnb.de

Bereits in dieser Reihe erschienene Bände finden Sie im Internet unter www.thuenen.de

Volumes already published in this series are available on the Internet at www.thuenen.de

Zitationsvorschlag – Suggested source citation:

Liesebach M (ed.) (2023) Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen : 7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 12. bis 14. September 2022 in Ahrensburg : Tagungsband. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 318 p, Thünen Rep 105, DOI:10.3220/REP1681451577000

Die Verantwortung für die Inhalte liegt bei den jeweiligen Verfassern bzw. Verfasserinnen.

The respective authors are responsible for the content of their publications.



THÜNEN

Thünen Report 105

Herausgeber/Redaktionsanschrift – Editor/address

Johann Heinrich von Thünen-Institut
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Germany

thuenen-report@thuenen.de
www.thuenen.de

ISSN 2196-2324

ISBN 978-3-86576-265-8

DOI:10.3220/REP1681451577000

urn:nbn:de:gbv:253-202304-dn066221-6

Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen

7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzen-
züchtung vom 12. bis 14. September 2022 in Ahrensburg

Tagungsband

Mirko Liesebach (ed.)

Thünen Report 105

Mirko Liesebach (ed.)
Thünen-Institut für Forstgenetik
Sieker Landstr. 2
22927 Großhansdorf
Tel.: +49 4102 696156
E-Mail: mirko.liesebach@thuenen.de

Thünen Report 105

Braunschweig/Germany, April 2023

Etablierung einer stabilen *in vitro*-Kultur für *Fagus sylvatica* – Ein erster Schritt hin zur Genomeditierung in Buchen

VIRGINIA ZAHN, ALICE-JEANNINE SIEVERS, MATTHIAS FLADUNG, TOBIAS BRÜGMANN

Als dominante Laubbaumart der natürlichen Vegetation Mitteleuropas ist die Rotbuche (*Fagus sylvatica*) ein wichtiger Bestandteil des Ökosystems Wald und somit ein treibender wirtschaftlicher Faktor (ELLENBERG 1996; HOUSTON DURRANT et al. 2016). In Deutschland ist die Rotbuche mit 15,4 % die flächenmäßig häufigste Laubbaumart (THÜNEN-INSTITUT 2012). Doch aufgrund klimatischer Veränderungen steht *F. sylvatica* in deutschen Wäldern vor großen Herausforderungen.

Bereits heute kommt es durch den global stattfindenden Klimawandel zum vermehrten Auftreten von Extremwetterlagen (IPCC 2022). Auch in Deutschland werden Hitze- und Dürreperioden mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem regelmäßig auftauchenden Wetterphänomen (UBA 2021). Die Kombination aus hohen Temperaturen und zunehmenden Perioden von Trockenheit während der Vegetationsperiode führt zu einer hohen Belastung für europäische Waldbestände (IPCC 2022). Baumarten wie die Buche, die sensitiv auf eine geringe Wasserverfügbarkeit reagieren, können unter diesen Bedingungen an Vitalität und Konkurrenzfähigkeit verlieren (GEIBER et al. 2007; LEUSCHNER 2020). Bestätigt wurde diese Prognose nach den Hitzesommer 2018/19, zu deren Langzeitfolgen eine verminderte Wachstumsrate, eine erhöhte Schadanfälligkeit sowie Mortalitätsrate bei *F. sylvatica* gehörten (FREI et al. 2022; NEYCKEN et al. 2022).

Mit Hilfe moderner biotechnologischer Verfahren wie der Genomeditierung kann die genetische Grundlage von Merkmalen durch Genfunktionsanalysen untersucht werden. Hierbei wird zum Beispiel durch gezielte Mutation des zu untersuchenden Gens ein Knock-out erzielt, innerartliche Genvarianten gegeneinander ausgetauscht oder diese zusätzlich integriert.

Erhaltene Pflanzen werden anschließend phänotypisch analysiert. Das gewonnene Wissen kann die Selektion auf Pflanzgut mit dem gewünschten Merkmal beschleunigen und eine präzisere Prognose über die Reaktion vorhandener Bestände auf Stressoren ermöglichen. Die Genomeditierung kann somit, wenn etabliert und angewendet, einen Beitrag zur Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Buche gegen den Klimawandel leisten.

Eine wesentliche Voraussetzung für die Genomeditierung und die spätere Vermehrung geeigneter Genotypen ist ein effizientes *in vitro*-System, welches sich gerade bei holzigen Pflanzen häufig als Bottleneck herausstellt (BENSON 2020). Dies trifft aufgrund ihrer Rekalzitranz gegenüber der *de novo*-Organogenese auch auf *Fagus sylvatica* zu (VIEITEZ et al. 1993). Um eine mögliche genetische Veranlagung für die *in vitro*-Kultur zu prüfen, wurden verschiedene Buchengenotypen aus dem gesamten europäischen Verbreitungsgebiet über wachstumsaktive Sprosse in die Gewebekultur übertragen (Herkunftsversuche von M. FORSTREUTER, Freie Universität Berlin, und M. LIESEBACH, Thünen-Institut für Forstgenetik, Großhansdorf). Es wurden keine Zusammenhänge zwischen der geographischen Herkunft und der *in vitro*-Kultivierbarkeit gefunden. Auch ein Zusammenhang der *in vitro* Kultivierbarkeit zum Alter der Bäume (3-24 Jahre) konnte nicht bestätigt werden. Jedoch war der Erntezeitpunkt von entscheidender Bedeutung für die Sprossaustrieb *in vitro* (unveröffentlicht).

Neben der direkten Überführung von Sprossen aus Freilandmaterial wurden aus Bucheckern gezogene Sämlinge in die *in vitro*-Kultur überführt. Für diese wurden Kulturmedien mit unterschiedlichen Phytohormonzusätzen getestet. Es konnte ein Überführungsmedium mit einer Austriebsrate von 90 % nach 4 Wochen Kultur sowie ein vielversprechendes Sprosselongationsmedium ermittelt werden (unveröffentlicht). Das Verfahren ermöglicht die Gewinnung von *in vitro*-Ausgangsmaterial, u. a. für weiterführende Versuche zur Genomeditierung.

Erste Schritte zur erfolgreichen Genomeditierung bei der Buche sollen über die genetische Transformation erfolgen, die mittels *Agrobacterium tumefaciens*, Partikelkanone oder PEG-vermittelt mit Protoplasten durchgeführt werden sollen. Hierbei sollen optische Markersysteme, wie dem GUS- oder RUBY-Markensystem,

übertragen und getestet werden. Um weiteres Ausgangsmaterial für die Transformationsversuche zu generieren, wurden Keimlingen verschiedene Gewebe für die Kallusinduktion entnommen. Von diesen erwies sich das Hypokotyl als das Gewebe mit der höchsten Kallusinduktionsrate. Des Weiteren werden für die Optimierung der Protoplastenisolation aus Blättern die Herkunft des Ausgangsmaterials, Dauer des Enzymverdau sowie die Art der Aufreinigung getestet. Schließlich wird die *in planta*-Transformation von Rotbuchsensämlingen als Möglichkeit, die *in vitro*-Kultur zu umgehen, getestet.

Nach erfolgreicher Etablierung der genetischen Transformation ist die Genomeditierung der Buche mittels des CRISPR/Cas-Systems geplant. Hierbei soll der Einfluss von Genen, die in Hinblick auf die Trockenstresstoleranz zuvor in Pappeln getestet wurden, bei der Buche geprüft werden. Diese Analysen sollen zu einem verbesserten Verständnis der Trockenstressantwort der Buche beitragen, um eine genetische Grundlage für die Identifikation und Selektion klimawandelangepasster Buchen zu liefern.

Referenzen

- ELLENBERG H (1996): Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen, 5th edn. Ulmer, Stuttgart, Germany, p 1095
- HOUSTON DURRANT T, DE RIGO D, CAUDULLO G (2016): *Fagus sylvatica* and other beeches in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: SAN-MIGUEL-AYANZ J, DE RIGO D, CAUDULLO G, HOUSTON DURRANT T, MAURI A (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e012b90+
- Thünen-Institut (2022): Dritte Bundeswaldinventur. Ergebnisdatenbank, <https://bwi.info>, Aufruf am: 28.11.2022, Auftragskürzel: 77Z1JI_L235of_2012_bi, Archivierungsdatum: 2014-6-10 16:7:59.927, 1.04 Waldfläche (gemäß Standflächenanteil) [ha] nach Land und Baumartengruppe (rechnerischer Reinbestand), Filter: Jahr=2012
- IPCC (2022): Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change
- UBA [Umweltbundesamt] (2021): CLIMATE CHANGE 26/2021. Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit. Klimawirkungs- und Risikoanalyse 2021 für Deutschland (Kurzfassung).
- VIEITEZ AM, FERRO EM, BALLESTER A (1993): Micropropagation of *Fagus sylvatica*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 29: 183-188
- BENSON E E (2000): *In vitro* Plant Recalcitrance: An Introduction. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*, 36 (3): 141–148. <http://www.jstor.org/stable/4293329>
- FREI ER, GROSSNER MM, VITASSE Y et al. (2022): European beech dieback after premature leaf senescence during the 2018 drought in northern Switzerland. *Plant Biology*, 24 (7): 1132-1145. <https://doi.org/10.1111/plb.13467>
- NEYCKEN A, SCHEGGIA M, BIGLER C, LEVESQUE M (2022): Long-term growth decline precedes sudden crown dieback of European beech. *Agricultural and Forest Meteorology* 324. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2022.109103>

Autorinnen und Autoren

VIRGINIA ZAHN, ALICE-JEANNINE SIEVERS, MATTHIAS FLADUNG, TOBIAS BRÜGMANN
 Thünen-Institut für Forstgenetik, Sieker Landstraße 2, 22927 Großhansdorf
 Kontakt: virginia.zahn@thuenen.de