

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 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/Forstpflanzenzüchtung 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

Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz (RubraSelect Projekt)

EVA ARDAO RIVERA, HIEU CAO, FRANK BECKER, SILVIJA BILELA-ECKERT, ALEXANDER BRAUN, MARIE BRÜCKNER, ILKA DE ABREU, JÖRN ERBACHER, IVO FEUSSNER, KIRSTIN FEUßNER, OLIVER GAILING, MARTIN HOFMANN, RALF KÄTZEL, AMÉLIE A. KELLY, JÖRG KLEINSCHMIT, JONATHAN M. KORMANN, NICK LAMPRECHT, KATHARINA J. LIEPE, MIRKO LIESEBACH, SONJA LÖFFLER, CHARALAMBOS NEOPHYTOU, DORIT RIEDEL, MAREK SCHILDBACH, WILFRIED STEINER, MARTHA TÖPPE, UTE TRÖBER, MIRIAM WATERMEIER, HEINO WOLF

Zusammenfassung

Im Verbundprojekt RubraSelect werden die Grundlagen für die zukünftige Versorgung des Marktes mit hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut der Roteiche (*Quercus rubra* L.) für das ganze Bundesgebiet geschaffen. Das Vorhaben umfasst einerseits die Untersuchung genetischer Grundlagen von Merkmalen mit Bezug zu Wachstum und Stressreaktionen, andererseits widmet es sich der Auswahl und Vermehrung von Plusbäumen sowie der Charakterisierung von deren Nachkommenschaften.

Die Plusbaumauslese findet sowohl in Beständen als auch in den Flächen eines Herkunftsversuchs statt. Bei der Auswahl werden Qualitäts-, Wachstums- und Vitalitätsmerkmale sowie vorhandene molekulargenetische Daten berücksichtigt. Bei der Überprüfung des Anpassungspotenzials der Plusbäume finden Biomarker Anwendung, die physiologische Merkmale beschreiben. Die Nachkommen werden auf ihre Reaktion gegenüber Trockenheit geprüft, um so die genetische Veranlagung der Plusbäume bezüglich ihrer Trockenstresstoleranz zu bewerten. In diesem Vorhaben sollen unter anderem Metabolite und Transkripte als Marker für Trockenstresstoleranz identifiziert und verifiziert werden, welche Anpassungsprozesse regulieren und ermöglichen. Mithilfe einer genomweiten Assoziationsstudie sollen Genmarker für Trockenstresstoleranz entwickelt werden.

Im ersten Projektjahr wurden bereits vorläufige Zuchtzonen abgegrenzt, geeignete Ausgangsbestände identifiziert, Plusbäume ausgewählt sowie Trockenstressexperimente durchgeführt und mit molekulargenetischen Analysen begonnen. Weitere Schritte umfassen die vegetative und generative Vermehrung der Plusbäume, um am Ende des Projekts deren Genotypen in Klonarchiven zu sichern und deren Nachkommen in Versuchsflächen zu testen, die langfristig in Samenplantagen überführt werden sollen.

Abstract

In the joint project RubraSelect, foundations are being laid for the future supply of the German market with high-quality and reproductive material of northern red oak (*Quercus rubra* L.) with the highest potential to withstand climate change. On the one hand, the project investigates the genetic basis of traits related to growth and drought stress reactions. On the other hand, it focuses on the selection and propagation of plus trees and the characterization of their progenies.

Plus tree selection takes place both in stands and in plots of provenance tests. Selection of plus trees takes quality, growth, vigor characteristics, and available molecular genetic data into account. Biomarkers describing physiological traits are used to test the adaptive potential of plus trees. Progenies are then tested for their response to drought in order to evaluate the genetic predisposition of plus trees with respect to drought stress tolerance. This project will identify and verify, among other things, metabolites and transcripts as markers of drought stress tolerance that regulate and enable adaptation processes. Genetic markers for drought stress tolerance will be developed by means of a genome-wide association study.

In the first year of the project, preliminary breeding zones have already been delineated, suitable initial stands identified, plus trees selected, drought stress experiments conducted, and the molecular genetic analyses have

started. Further steps include generative and vegetative propagation of the plus trees in order to secure their genotypes in gene banks and test their progenies in experimental plots, that are planned to be established by the end of the project. In the long term, these trials are to be transformed into seed orchards by performing further selection within and across families.

1 Motivation

Sommerdürre und Extremwetterereignisse führten in den letzten Jahren zu erheblichen Schäden in den Wäldern Deutschlands. Wirtschaftlich wichtige Baumarten wie die Rotbuche und die Fichte sind bereits stark betroffen. Heutige Hauptbaumarten werden daher zukünftig in Teilen ersetzt werden müssen, um die vielfältigen Ökosystemdienstleistungen des Waldes langfristig aufrechtzuerhalten und zu sichern. Auch nicht-heimische Baumarten bieten eine Option als Ersatzbaumarten, insbesondere, wenn sich unter den prognostizierten Klimabedingungen eine hohe Stabilität und Wuchsleistung erwarten lässt. Von großer Bedeutung ist dabei die Verfügbarkeit von hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut.

Eine forstwirtschaftlich bedeutsame, nicht-einheimische Baumart ist die aus Amerika stammende Roteiche (*Quercus rubra* L.). Sie zeichnet sich durch einen frühen Knospenaustrieb und einen späten Wachstumsabschluss und damit durch lange Zuwachszeiten mit hohen Wuchsleistungen aus (Pettenkofer et al., 2019b). Außerdem weist sie gute Eigenschaften für die Verwendung als Bau- und Konstruktionsholz sowie als Furnierholz auf.

Der Anbau von nicht-einheimischen Baumarten ist jedoch häufig mit einer Reduktion der genetischen Variation verbunden (DLUGOSCH und PARKER 2008; BARRETT und HUSBAND 1990). Dadurch kann es zu einer verringerten Anpassungsfähigkeit der Population an sich schnell ändernde Umweltbedingungen, wie zum Beispiel längere Trockenperioden und extreme Temperaturschwankungen kommen (Naidoo et al., 2018).

2 Ziele des RubraSelect Projekts

Im Verbundvorhaben RubraSelect erfolgt die Auslese und Charakterisierung von hochwertigem und klimafittem Vermehrungsgut der Roteiche. Das von der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) im Rahmen der Förderrichtlinie "Waldklimafonds" betreute Projekt begann im Sommer 2021 und wird voraussichtlich im Herbst 2024 abgeschlossen.

In Deutschland ist die Roteiche die häufigste nicht-heimische Laubbaumart im Wald. In ihrem natürlichen Verbreitungsareal, das weite Teile des östlichen Nordamerikas umfasst, hat sich die Roteiche an eine weite Amplitude von Boden- und Klimabedingungen angepasst (Pettenkofer et al. 2019b). Daher dürfte die Art eine breite genetische Basis als Grundlage für Auslese und Züchtung bieten. Andererseits ist der Ursprung europäischer Bestände meist unbekannt und eine züchterische Bearbeitung ist bisher weitgehend nicht erfolgt. Die in Deutschland etablierten Bestände stammen vermutlich aus dem nordöstlichen Bereich des natürlichen Verbreitungsgebietes (Nordosten der USA, Südosten Kanadas) (PETTENKOFER et al. 2019a). Insofern ist die Züchtungsarbeit mit in Europa bewährtem Material der direktere Ansatz im Vergleich zu groß angelegten neuen Herkunftsversuchen; und erst in einem zweiten Schritt würde eine Auswahl innerhalb der am besten geeigneten Herkünfte aus dem Ursprungsgebiet in Nordamerika erfolgen.

Das vorliegende Forschungsvorhaben soll die Grundlagen für die zukünftige Versorgung des Marktes mit hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut der Roteiche schaffen.

Das Projekt ist daher in zwei Teilverbünde gegliedert: zum einen die Charakterisierung der genetischen Basis von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz (Teilverbund A) und zum anderen die Auslese und Züchtung zur Erzeugung von hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut (Teilverbund B).

2.1 Teilverbund A

Die Chancen des Teilverbundes A liegen in der erstmaligen Charakterisierung der genetischen Grundlagen von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei der Roteiche und der Entwicklung von entsprechenden Markern für Trockenstresstoleranz. Die Identifizierung von Trockenstress-Markern auf der Ebene des Genoms, des Transkriptoms und des Metaboloms wird helfen, die molekularen Grundlagen für Trockenstresstoleranz und Zuwachsleistung zu verstehen und ist für die Auswahl von Beständen und unter züchterischen Aspekten von großer Bedeutung. So könnten in der Zukunft genetische Korrelationen zwischen Wuchsleistung und Markern für Trockenstresstoleranz bei der Auswahl von geeignetem Vermehrungsgut zur Produktion und Züchtung berücksichtigt werden.

Gewächshausversuch

In einem Gewächshausversuch haben wir zweijährige Sämlinge aus 11 deutschen Herkünften untersucht, die aus unterschiedlichen Herkunftsgebieten stammen und verschiedene ökologische Grundeinheiten und Bodentypen repräsentieren (Abb. 1). Im Durchschnitt sind etwa 100 Setzlinge pro Standort vertreten, was insgesamt 1041 Roteichen-Sämlinge ergibt. Der Versuch ist so aufgeteilt, dass eine Hälfte der Sämlinge (i.e. 521 Sämlinge) unter gut bewässerten Bedingungen und die anderen Sämlinge (i.e. 520 Sämlinge) unter kontrolliertem Trockenstress kultiviert werden (Abb. 2). Wir haben im Sommer 2021 einen moderaten Trockenstress angewendet, der zu einer signifikanten Verringerung des Sämlingswachstums ohne offensichtliche Trockenheitssymptome führte. Im Sommer 2022 verursachte ein starker Trockenstress eine Reihe von Trockenheitssymptomen an den Sämlingen (Abb. 3). Während einige Sämlinge unter diesem ausgeprägten Trockenstress weiterhin vital aussahen, begannen

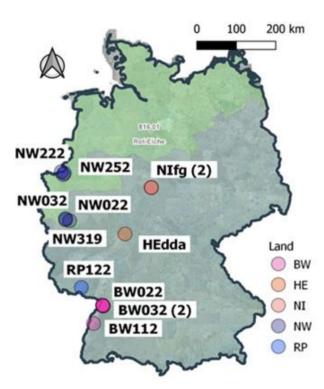


Abb. 3: Geografische Lage der im Sämlingsversuch genutzten deutschen Herkünfte. Die Herkunftsgebiete der Roteiche in Deutschland sind farbig unterlegt (hell grün = Norddeutsches Tiefland ist geprägt durch ein ozeanisch bis subozeanisches Tieflandklima mit langen Vegetationszeiten und milden Wintern; dunkel grün = Übriges Bundesgebiet über alle Höhenstufen und mit einem nach Südosten zunehmend kontinentaleren Klima; Karte: Landesforstverwaltung Brandenburg 2006).

andere Sämlinge Trockenstresssymptome zu zeigen wie z.B. Verlust des Turgors, Einrollen und Verfärben der Blätter, sowie Vertrocknen und Ausbleichen der Blätter.

Während und nach dem Experiment haben wir verschiedene physiologische Parameter (z.B. Stomatadichte, Wassernutzungseffizienz (delta ¹³C), Photosynthese (PS-II)-Effizienz, Chlorophyllgehalt, stomatäre Leitfähigkeit, Sämlingswachstum sowie Blatt- und Wurzelmorphologie) aufgenommen, die als phänotypische Marker für Trockenstresstoleranz getestet werden.

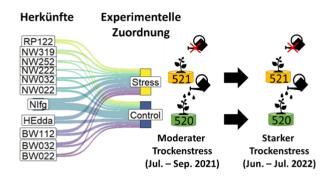


Abb. 2: Trockenstressexperimente – Versuchsübersicht.

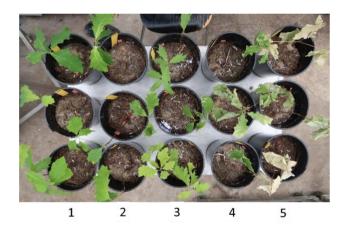


Abb. 3: Klassifizierung der Trockenstress-Symptome von Roteichen-Sämlingen nach gravierendem Trockenstress (Juni-Juli 2022). Stufe 1: ohne Symtome; Stufe 2: einzelne Blätter ohne Turgor; Stufe 3: mindestens 1 Blatt eingerollt; Stufe 4: > 50% der Blätter eingerollt, trocken; Stufe 5: die Blätter verfärben sich weiß.

Metabolit- und Transkriptmarker für Trockenstresstoleranz

Mit Hilfe von Metabolom- und Transkriptom-Analysen kann der Einfluss abiotischer und biotischer Umweltfaktoren auf einen Organismus sehr genau beschrieben werden. Auch Variationen des Genotyps einer Spezies werden auf der Ebene des Metaboloms und Transkriptoms präzise abgebildet. Ein verändertes Profil von Metaboliten und Transkripten zeigen Pflanzen dementsprechend auch in Folge von Trockenstress, einem wesentlichen abiotischen Stressfaktor als Folge des Klimawandels. Die Anpassung an Wassermangel wird bei Pflanzen im Allgemeinen über das Hormon Abscisinsäure vermittelt und führt zu einer Repression der Photosynthese und andererseits zu einer Anreicherung von Zuckern, kompatiblen Soluten (z.B. Prolin) und Schutzproteinen (SCHRAML und RENNENBERG 2002; KERSTEN et al. 2013). Auch die Verstärkung der Wachsschicht auf der Blattoberfläche kann als effizienter Verdunstungsschutz dienen und damit vor unkontrolliertem Wasserverlust schützen (XUE et al. 2017).

Gerichtete sowie ungerichtete Metabolitenanalyse (*Metabolite Profiling* und *Metabolite Fingerprinting*) erlauben eine umfassende Charakterisierung des Metaboloms von Organismen. Ungerichtete

Metabolomanalysen basieren auf vergleichenden massenspektrometrischen Analysen. Sie erlauben den Vergleich des Metabolitengehaltes von Pflanzen unterschiedlicher genetischer Ausstattung und führen zur Identifizierung von Genotyp-assoziierten primären und sekundären Inhaltsstoffen (Kersten et al. 2013). Für die ungerichtete Metabolomanalyse ist es notwendig, die Extraktion möglichst aller Metabolite eines Organes oder Gewebes und deren Trennung mittels ultraschneller Flüssigkeitschromatographie gekoppelt an ein hochauflösendes Massenspektrometer zu gewährleisten. Nach umfangreichen Schritten der Datenprozessierung werden Intensitätsprofile von Interesse (z.B. charakterisiert durch stärkere Akkumulation in toleranten Genotypen) ausgewählt und die chemische Struktur der entsprechenden Inhaltstoffe aufgeklärt (DJAMEI et al. 2011; KÖNIG et al. 2012, 2014; TANAKA et al. 2014).

Während des Trockenstressversuchs wurden die Blätter von Stress- und Kontrollsämlingen zu drei Zeitpunkten (i.e., vor dem Stress T0, Frühstress T1, und Stress T2) gewonnen. Für die Analysen werden die Blätter unmittelbar nach der Ernte in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Metaboliten und Transkripte werden als Marker für Trockenstresstoleranz identifiziert und verifiziert. Es wurde eine Methode für die ungerichtete Metabolomanalyse von Roteichenblättern basierend auf einer Zweiphasen-Extraktion und anschließender Analyse mittels ultraschneller Flüssigkeits-Chromatographie in Kombination mit hochauflösender Massenspektrometrie entwickelt (Abb. 4). Dieser Workflow wird nun für die Analyse von Sämlingen aus drei deutschen Herkünften mit besonders geringer bzw. hoher Trockenstresstoleranz genutzt. Parallel wird aus dem identischen Blattmaterial auch RNA isoliert, um Transkriptomdaten mittels RNAseq-Technologie zu generieren. Die identifizierten Marker können genutzt werden, um in einem nächsten Schritt gerichtete Analysen für diese Metabolit- und Transkript-Marker- zu etablieren und damit die Sämlinge weiterer Herkünfte zu analysieren.

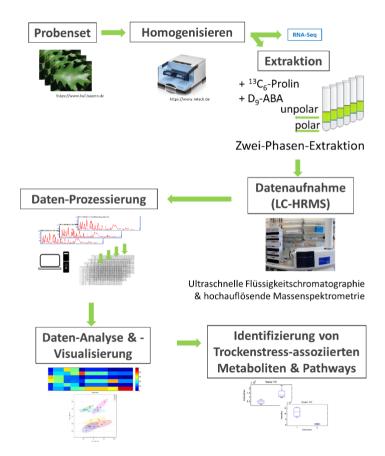


Abb. 4: Workflows der ungerichteten Metabolom-Analyse zur Identifizierung von Trockenstress-assoziierten Metaboliten für die Roteiche.

Genomweite Sequenzierung (RADseq) und Assoziationskartierung

Aus Blattmaterial von 521 Sämlingen des Trockenstressexperiments wurde genomische DNA isoliert. Zu jeder Blattprobe wurde eine Metallkugel gegeben und anschließend in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Blattproben wurden in der Schwingmühle (Retsch) pulverisiert. Aus dem Blattprobenpulver wurde die genomische DNA unter Verwendung des DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) isoliert. Die fluorometrische Quantifizierung der genomischen DNA für die "Restriction Site Associated DNA" Sequenzierung (RADseq) erfolgte mit Hilfe des Qubit dsDNA HS Assay kits. Die Herstellung der RADseq-Bibliotheken erfolgt nach einem etablierten Protokoll (Baird et al., 2008) mit der Kombination der beiden Enzyme BamHI und Nsil für die Reduzierung der Genomkomplexität. Bioinformatische Analysen der RADseq Daten erfolgen wie in (Gailing et al. 2017) beschrieben. Für die Annotierung der Gene werden die Sequenzen mit Transkriptionsdatenbanken und mit der genomischen Sequenz von Q. rubra verglichen (Carlson und Schmutz 2022). Die genomweite Assoziations-Kartierung mit dem Programm Tassel (Glaubitz et al. 2014) ermöglicht die Identifizierung von SNP-Allelen, die statistisch signifikant mit definierten Merkmalen (phänotypische Merkmale und Metabolite aus der gerichteten Metabolom-Analyse) assoziiert sind, und damit von genetischen Loci / Genen, deren kodierte Information die jeweiligen Wachstums-eigenschaften- sowie Trockenstresstoleranz-Phänotypen beeinflusst.

Herkunftsversuch

Datengrundlage für die Quantifizierung des Wuchsverhaltens unterschiedlicher Roteichenherkünfte ist die Aufnahme des Brusthöhendurchmessers (BHD) [cm] und der Stammform in einem Herkunftsversuch mit drei Versuchsflächen im nördlichen, östlichen und mittleren Teil Deutschlands. Der Herkunftsversuch wurde 1991 vom Thünen-Institut für Forstgenetik mit zweijährigen Sämlingen in einem vollständigen Blockdesign mit vier Wiederholungen angelegt. Dabei wurden Herkünfte aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet und aus Deutschland berücksichtigt. Die Quantifizierung des Wuchsverhaltens (Grundfläche [m²/ha] im Alter 33) erfolgte zum einen über einfache varianzanalytische Auswertungen zur Identifikation signifikanter Wuchsunterschiede zwischen Herkünften und zwischen Versuchsflächen (KORMANN et al. 2023). Zum anderen wurde die Herkunft-Umwelt-Interaktion ausgewählter Herkünfte zur Charakterisierung von wuchsüberlegenen Generalisten, also Herkünfte mit einem standortunabhängigem Wuchsverhalten, und Spezialisten, also Herkünfte mit einem standortspezifischen Wachstum, herausgearbeitet (KORMANN et al., eingereicht). Die gewonnenen Erkenntnisse können in Herkunftsempfehlungen implementiert werden.

Die Beurteilung der Trockenstresstoleranz ausgewählter Herkünfte auf den drei Versuchsflächen erfolgt über eine Jahrringanalyse. Dazu wurden Bohrkerne von Individuen der Kraft'schen Klasse 1 und 2 entnommen, um episodischen Trockenstress über Veränderungen der Jahrringbreiten und Identifikation von Weiserjahren quantifizieren zu können. Mithilfe verschiedener Indices (LLORET et al. 2011; SCHWARZ et al. 2020) soll die Reaktion vor und nach einem identifizierten Trockenstressereignis ermittelt werden.

Auf Grundlage der gewonnenen Erkenntnisse werden ca. 50 Plusbäume ausgewählt und vegetativ vermehrt. Anschließend erfolgt die Anlage einer Samenplantage für die Versorgung mit hochwertigem Vermehrungsgut.

Identifizierung von trockenstresstoleranten Markern basierend auf Gewächshaus- und Herkunftsversuch

Die Durchführung der genomweiten Assoziationskartierung für die Sämlinge des Trockenstressexperiments ermöglicht erstmals die Identifizierung der genetischen Basis der Wachstumseigenschaften der Roteiche sowie ihrer Trockenstresstoleranz. Mit modernen Hochdurchsatzverfahren bei der Genotypisierung (z.B. MassARRAY-System, Agena Bioscience) ist es möglich, eine große Anzahl von genetischen Varianten zu bestimmen. SNP-Marker bzw. Gene, die signifikant mit den Wachstumseigenschaften und/ oder der Trockenstresstoleranz assoziiert sind, werden an 520 Kontrollsämlingen des Gewächshausversuchs, an ca. 600 ausgewählten Bäumen der Herkunftsversuche und zusätzlich an ca. 100 Plusbäumen aus verschiedenen deutschen Populationen und deren Nachkommen (im Teilverbund B) überprüft und weiter charakterisiert. Bei der Auswahl des geeigneten

Vermehrungsmaterials für Produktion und Züchtung könnten zukünftig genetische Korrelationen zwischen Wuchsleistung und dem Set an Trockenstress-Toleranzmarkern berücksichtigt werden (Abb. 5).

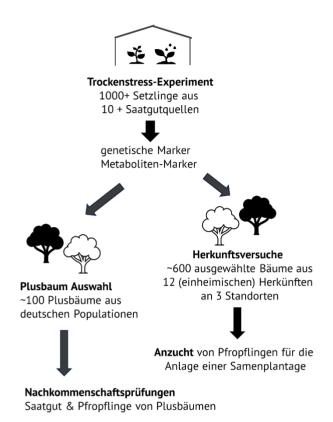


Abb. 5: Identifizierung von trockenstresstoleranten Roteichen basierend auf Gewächshaus- und Herkunftsversuchen.

2.2 Teilverbund B

Das Vorhaben des Teilverbunds B gliedert sich in vier Arbeitsbereiche: (1) Auslese von Plusbäumen und genetische Untersuchung ihrer Herkunft und Vielfalt; (2) Einleitung eines Züchtungsprogrammes durch Auswahl und Vermehrung von Plusbäumen; (3) Phänotypisierung von Plusbäumen mit Biomarkern und (4) Untersuchung der genetischen Diversität und der physiologischen Reaktion auf Trockenheit. In den folgenden Abschnitten werden die verschiedenen Arbeitspakete zusammengefasst.

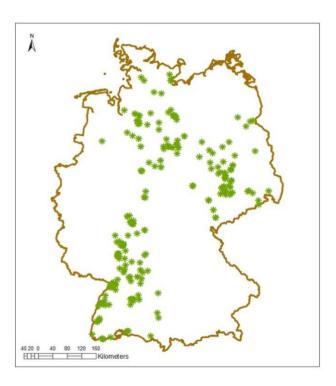
Zuchtzoneneinteilung der Roteiche

Als erste wichtige Aufgabe wird eine Einteilung des Bundesgebietes in Zuchtzonen vorgenommen. Da es bisher kein Zuchtprogramm gab, wäre eine Einteilung in Zuchtzonen in Deutschland nicht zu erwarten gewesen. Zuchtzonen sind Gebiete, die durch bestimmte edaphoklimatische Bedingungen definiert sind und über ein eigenes, separates Verbesserungsprogramm und verschiedene Ausgangs-, Auswahl-, Zucht- und Vermehrungspopulationen verfügen (White et al. 2007). Diese sollen so definiert sein, dass sie maximale Anbausicherheit und minimales Fehlanpassungsrisiko für die jeweiligen Zuchtpopulationen bieten. In diesem Projekt wird eine Einteilung in zwei Zuchtzonen vorgeschlagen, die sich an den ökologischen Bedürfnissen der Baumart orientiert. Auch die Klimaprognosen in Bezug auf die Trockenheit werden berücksichtigt. Um eine wissenschaftlich fundierte Zuchtzoneneinteilung vornehmen zu können, werden wir unsere vorläufige Zuchtzoneneinteilung verfeinern, sobald wir die Ergebnisse der phänotypischen Untersuchungen ausgewertet haben.

Ausgangspopulationen

Als Ausgangspopulationen werden Bestände ausgewählt, welche einerseits aus qualitativer Sicht und andererseits aus Sicht der Klimaanpassung gutes Ausgangsmaterial für Samenplantagen liefern können. Um in der Auslesepopulation eine hohe Anpassungsfähigkeit an eine Vielzahl von Standorten zu erhalten, ist es sinnvoll, die Ausgangspopulationen aus einer hohen Vielfalt an Standorten auszuwählen (vgl. White et al. 2007).

Es wurden deutschlandweit verschiedene ökologische Parameter erhoben: Wasserhaushalt der letzten Normalperiode (1991-2020) und Vorhersagen für den Klimawandel (RCP 8.5, 2071-2099), geschätzte Nährstoffversorgung (KOLB et al. 2019), vorläufige Zuchtzonenverteilung und Höhe (DGM). Anhand dieser Daten wurde eine repräsentative Auswahl von Beständen getroffen (Abb. 6).



* Roteiche Beständen des RubraSelects

Abb. 6: Ausgangspopulationen des RubraSelect Projekts.

Berechnung der Standortswasserbilanz im effektiven Wurzelraum

Die Standortswasserbilanz wurde anhand von Klimadaten des Deutschen Wetterdienstes (1000 m x 1000 m) und Bodendaten aus der Bodenübersichtskarte 1:250.000 berechnet.

Zunächst wurde die klimatische Wasserbilanz der Vegetationsperiode (Abb.) berechnet: Niederschlag (mm) minus potentielle Evapotranspiration (mm) für die Monate Mai bis September (jeweils inklusive). Anschließend wurde die nutzbare Feldkapazität im effektiven Wurzelraum (mm) addiert und so die Standortswasserbilanz im effektiven Wurzelraum ermittelt.

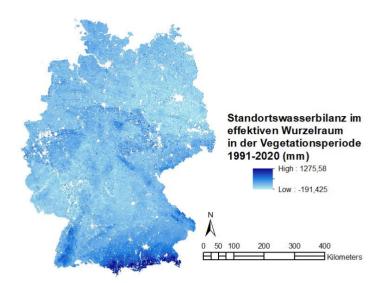


Abb. 7: Standortswasserbilanz im effektiven Wurzelraum in der Vegetationsperiode 1991-2020.

Ableitung der Nährstoffversorgung

Um zu gewährleisten, dass alle beteiligten Projektpartner auf Basis einer einheitlichen und vergleichbaren Datengrundlage arbeiteten, ist die Nährstoffkarte von Kolb et al. (2019) herangezogen worden. Diese ist zwar großmaßstäbig, bietet aber den Vorteil einer deutschland- bzw. europaweit einheitlichen Datenbasis auf digitaler Grundlage. Dabei gliedert sich die Nährstoffversorgung in 10 Stufen (Abb. 8).

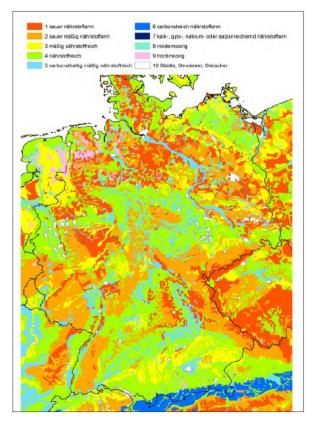


Abb. 8: Verteilung des Nährstoffstatus der Böden in Deutschland (KOLB et al. 2019).

Plusbäume

Einheitliche Vorgaben für die Plusbaumauswahl wurden festgelegt und im Anschluss wurde die Massenauslese durch die Projektpartner in ihrem Zuständigkeitsbereich durchgeführt. In den ausgewählten Beständen konnten insgesamt 200 Bäume mit herausragendem Phänotyp ausgewählt werden. Zusätzlich wurden 50 Bäume aus Herkunftsversuchen im Teilverbund A ausgewählt.

Da über die genetischen Voraussetzungen der ausgewählten Bestände nichts bekannt ist, können die Plusbäume nur anhand phänotypischer Merkmale ausgewählt werden. Bei den Auswahlkriterien steht die Stammqualität an erster Stelle, während die Wuchsleistung als zweitrangig behandelt wird. Die Vitalität der einzelnen Plusbäume ist im Verhältnis zum Bestandeskollektiv besonders zu beachten. Da die Selektionsintensität den Züchtungsfortschritt beeinflusst (WHITE et al. 2007), ist der Anteil der Plusbäume an der Gesamtpopulation (pro Bestand) von Beginn an zu begrenzen.

Die Aufnahme der Plusbäume gliedert sich im ersten Teil in allgemeine Angaben (Aufnahmedatum, Plusbaumkartierer, Plusbaumnummer, Flächentyp, geografische Koordinaten, Bundesland, Zuchtzone, Besitzart, Höhe, Exposition, Forstadresse und ggf. Angaben zur Versuchsfläche) sowie im zweiten Teil in Angaben zum Einzelbaum (Alter, Baumhöhe, Kronenansatz, BHD, Massenleistung, Baumklasse, Vitalität, Geradschaftigkeit, Wipfelschäftigkeit, Zwiesel, Steilastbildung, Wasserreiser, Drehwuchs, weitere Bemerkungen). Zusätzlich erfolgen eine fotografische Erfassung der Plusbäume sowie die Markierung der Bäume im Gelände.

Physiologische Untersuchungen

An Nachkommenschaften ausgewählter Plusbäume werden Untersuchungen zu den physiologischen Reaktionen auf Trockenheit in Gefäßversuchen unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus durchgeführt. Dazu werden beim Staatsbetrieb Sachsenforst aus Stichproben von Einzelbaumsaatgut Ballenpflanzen angezogen. Die Untersuchungen werden auch die stichprobenweise Erhebung struktureller Parameter der Trockenstresstoleranz und des Wasserhaushaltes umfassen. Die Erfassung der strukturellen Parameter erfolgt an Pflanzenteilen mit dem XYL'EM-Messgerät im Labor des SBS.

Eine weitere phänotypische Studie wird von den Kollegen des Landeskompetenzzentrums Forst Eberswalde durchgeführt. Diese werden verschiedene Biomarker verwenden, um die Stresstoleranz zu bewerten. Die 250 ausgewählten Plusbäume beider Saatgutzonen werden auf der Grundlage von Biomarkern (Chlorophylle, Kohlenhydrate, Aminosäuren, Proteine, Phenole, Ascorbat, Blattbiomasseparametern) sowie Biomarkermustern (KÄTZEL und LÖFFLER 2016) und vor dem Hintergrund der Vitalität (Kronenverlichtung, Bonität) bewertet. Hierzu sind vorab Vitalitäts-Referenzbereiche zu erarbeiten (KÄTZEL 2003).



Abb. 9: Eislagerung der gesammelten Blattproben der Plusbäume zur Analyse im Labor durch das Team von LFE. (Foto: Eva Ardao Rivera/FVA-BW)

Genetische Untersuchungen

Neben der Identifizierung von Klonen soll die Genotypisierung Aufschluss über die Herkunft von Plusbäumen und Beständen (im Vergleich zu Referenzbeständen aus dem Heimatgebiet) geben und zur Untersuchung der genetischen Vielfalt und Struktur sowie der anpassungsrelevanten Variation dienen.

Zur genetischen Untersuchung sollen bis zu 20 Kern- und 5 Chloroplastenmikrosatelliten-Marker verwendet werden. Die Auswahl und Optimierung der zu verwendenden molekularen Marker findet mithilfe einer Stichprobe von Roteichenindividuen im molekulargenetischen Labor der FVA-BW und des SBS statt. Gleichzeitig wird ein gemeinsames Kollektiv von Referenzproben verwendet, um die Vergleichbarkeit der Daten zwischen den beiden Laboren zu gewährleisten. Zur Plusbaumgenotypisierung wird während der Reiserernte Gewebe gewonnen, von welchem DNA im molekulargenetischen Labor der FVA-BW extrahiert wird (insgesamt 250 Plusbäume).

Zur Untersuchung der Paarungsverhältnisse in Bezug auf eine mögliche genetische Verarmung aufgrund von niedriger Populationsgröße und / oder räumlicher Isolation werden zwei Bestände intensiv beprobt, die stammzahlreich und großflächig sind. Zusätzlich werden zwei stammzahlarme und räumlich isolierte Bestände beprobt. Neben den Altbäumen sollen auch Absaaten von ca. 10 Mutterbäumen pro Bestand genetisch charakterisiert werden. Im Durchschnitt wird mit 100 Altbäumen und 300 (10 x 30) Nachkommen pro Bestand gerechnet. Darüber hinaus wird im molekulargenetischen Labor des SBS eine genetische Analyse von jeweils bis zu 100 Altbäumen aus 15 Roteichenbeständen zur Charakterisierung der genetischen Struktur durchgeführt werden. Exemplarisch werden Nachkommen von Plusbäumen aus der phänotypischen Untersuchung auch genetisch analysiert, um der Frage einer potenziellen genetischen Einengung nachzugehen.

Schließlich soll extrahierte DNA von allen Plusbäumen an die Universität Göttingen (Teilverbund A) versendet werden, die eine Analyse an anpassungsrelevanten SNP-Markern durchführen wird.

Anzucht der Nachkommenschaften

Von den Plusbäumen werden sowohl Reiser als auch Samen gewonnen. Das Saatgut wird in den Baumschulen der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg und der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt ausgesät und angezogen. Die erzeugten Baumschulpflanzen werden am Ende des Projekts für Versuchsflächenanlagen aller Projektpartner benötigt. Während der Anzuchtphase werden regelmäßig Austriebs-, Johannistriebs- und Abschlussbonituren durchgeführt. Informationen über ihr Wuchsverhalten und phänotypische Merkmale werden aufgezeichnet und untersucht, da sie frühzeitig Informationen über anpassungsrelevante Merkmale liefern.

Die Nachkommen aus der vegetativen Vermehrung (Pfropfung) werden zum Ende der Projektlaufzeit in Klonarchive ausgepflanzt.

Versuchsflächen

Schließlich werden alle notwendigen Schritte unternommen, um Nachkommenschaftsprüfungen anzulegen, die später in Samenplantagen überführt werden sollen. Das Design der Fläche soll eine gleichzeitige Auswertung der Ursprungsbestände (Herkünfte) sowie der Familien (Einzelstammabsaaten der Plusbäume) erlauben. Pro Zuchtzone sind drei Versuchsflächen vorgesehen, also insgesamt sechs Versuchsflächen.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich herzlich für die Unterstützung aller Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen, die auf der Fläche, im Labor, im Gewächshaus oder im Büro an den Projektarbeiten teilnehmen. Unser Dank gilt auch den lokalen Forstbehörden für die Unterstützung. Das Projekt wird durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und das Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Es wird durch die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) im Rahmen der Förderrichtlinie Waldklimafonds betreut (Förderkennzeichen 2220WK21A4 und 2220WK03A4).

Referenzen

- BAIRD NA, ETTER PD, ATWOOD TS, CURREY MC, SHIVER AL, LEWIS ZA, SELKER EU, CRESKO WA, JOHNSON EA (2008): Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers. *PLoS One*, 3.
- BARRETT S, HUSBAND BC (1990): The genetics of plant migration and colonization. In: Brown AHD, CLEGG MT, KAHLER AL, WEIR BS (eds.): Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sunderland, Massachusetts, USA:

 Sinauer Associates Inc.
- CARLSON JE, SCHMUTZ J (2022): *Quercus rubra v1.1* [Online]. DOE-JGI. Available: https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Qrubra_v2_1 [Accessed 21.11.2022 2022].
- DJAMEI A, SCHIPPER K, RABE F, GHOSH A, VINCON V, KAHNT J, OSORIO S, TOHGE T, FERNIE AR, FEUSSNER I, FEUSSNER K, MEINICKE P, STIERHOF YD, SCHWARZ H, MACEK B, MANN M, KAHMANN R (2011): Metabolic priming by a secreted fungal effector. Nature 478: 395-400.
- DLUGOSCH KM, PARKER IM (2008): Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. Molecular Ecology 17: 431-449.
- GAILLING O, STATON ME, LANE T, SCHLARBAUM SE, NIPPER R, OWUSU SA, CARLSON JE (2017): Construction of a Framework Genetic Linkage Map in *Gleditsia triacanthos* L. Plant Mol Biol Rep 35: 177-187.
- GLAUBITZ JC, CASSTEVENS TM, LU F, HARRIMAN J, ELSHIRE RJ, SUN Q, BUCKLER ES (2014): TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. PLoS One 9: 11.
- KÄTZEL R (2003): Biomarker als Indikatoren des Vitaltätszustandes der Gemeinen Kiefer (Pinus sylvestris L.) im nordostdeutschen Tiefland. Habilitation, TU Dresden.
- KÄTZEL R, LÖFFLER S (2016): 20 Jahre Biomarker als Vitalitätsindikatoren im Forstlichen Umweltmonitoring Ergebnisse und Erfahrungen. 30 Jahre Forstl. Umweltmonitoring Brand. 58: 174–189.
- KERSTEN B, GHIRRSRDO A, SCHNITZLER JP, KANAWATI B, SCHMITT-KOPPLIN P, FLADUNG M, SCHROEDER H (2013): Integrated transcriptomics and metabolomics decipher differences in the resistance of pedunculate oak to the herbivore *Tortrix viridana* L. BMC Genomics 14: 21.
- KOLB E, MELLERT KH, GÖTTLEIN A (2019): Soil nutrient status of natural soils in Europe. Waldökologie, Landschaftsforschung und Naturschutz: 5-13.
- KÖNIG S, FEUSSNER K, KAEVER A, LANDESFEIND M, THUROW C, KARLOVSKY P, GATZ C, POLLE A, FEUSSNER I (2014): Soluble phenylpropanoids are involved in the defense response of *Arabidopsis* against *Verticillium longisporum*. New Phytologist, 202: 823-837.
- KÖNIG S, FEUSSNER K, SCHWARZ M, KAEVER A, IVEN T, LANDESFEIND M, TERNES P, KARLOVSKY P, LIPKA V, FEUSSNER I (2012): Arabidopsis mutants of sphingolipid fatty acid α -hydroxylases accumulate ceramides and salicylates. New Phytologist 196: 1086-1097.
- KORMANN JM, LIESEBACH M, LIEPE KJ (2023): Wachstum der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in zwei Herkunftsversuchsserien in Deutschland. Thünen Rep 105: 257-266.
- LLORET F, KEELING EG, SALA A (2011): Components of tree resilience: effects of successive low-growth episodes in old ponderosa pine forests. Oikos 120: 1909-1920.
- NAIDOO S, CHRISTIE N, ACOSTA JJ, MPHALELE MM, PAYN KG, MYBURG AA, KÜLHEIM C (2018): Terpenes associated with resistance against the gall wasp, *Leptocybe invasa*, in *Eucalyptus grandis*. Plant, Cell & Environment 41: 1840-1851.
- PETTENHOFER T, BURKARDT K, AMMER C, VOR T, FINKELDEY R, MULLER M, KRUTOVSKY K, VORNAM B, LEINEMANN L, GAILING O (2019a): Genetic diversity and differentiation of introduced red oak (*Quercus rubra*) in Germany in comparison with reference native North American populations. Eur. J. For. Res. 138: 275-285.
- PETTENKOFER T, LEINEMANN L, GAILING O (2019b): Eine Übersicht zu Untersuchungen der Herkunft und genetischen Variation der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in natürlichen und eingeführten Populationen. AFJZ 190: 22-30.
- SCHRAML C, RENNENBERG H (2002): Ökotypen der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zeigen unterschiedliche Reaktionen auf Trockenstreß. Forstwissenschaftliches Centralblatt 121: 59-72.

SCHWARZ J, SKIADARESIS G, KOHLER M, KUNZ J, SCHNABEL F, VITALI V, BAUHUS J (2020): Quantifying Growth Responses of Trees to Drought—a Critique of Commonly Used Resilience Indices and Recommendations for Future Studies. Curr. For. Rep. 6: 185-200.

TANAKA H, YOSHIDA S, MINOURA H, NEGORO K, SHIMAYA A, SHIMOKAWA T, SHIBASAKI M (2014): Novel GPR40 agonist AS2575959 exhibits glucose metabolism improvement and synergistic effect with sitagliptin on insulin and incretin secretion. Life Sci. 94: 115-121.

WHITE TL, ADAMS WT, NEALE DB (2007): Forest genetics. Cambridge, Massachussets, USA, Cabi publishing.

XUE D, ZHANG X, LU X, CCHEN G, CHEN Z-H (2017): Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance. Frontiers in Plant Science 8.

Autorinnen und Autoren

EVA ARDAO RIVERA, SILVIJA BILELA-ECKERT, ALEXANDER BRAUN, JÖRN ERBACHER, JÖRG KLEINSCHMIT, NICK LAMPRECHT, CHARALAMBOS NEOPHYTOU

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Waldnaturschutz, Waldgenetik und forstliches Vermehrungsgut, Wonnhaldestraße 4, 79100 Freiburg i. Br.

Kontakt: charalambos.neophytou@forst.bwl.de

HIEU CAO. OLIVER GAILING

Universität Göttingen, Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie, Abteilung Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Büsgenweg 2, 37077 Göttingen

ILKA DE ABREU, IVO FEUSSNER, KIRSTIN FEUßNER, AMÉLIE A. KELLY

Universität Göttingen, Fakultät für Biologie und Psychologie, Abteilung Biochemie der Pflanze, Justus-von-Liebig-Weg 11, 37077 Göttingen

FRANK BECKER, RALF KÄTZEL, SONJA LÖFFLER

Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde, Fachbereich Waldökologie und Monitoring, 16225 Eberswalde, Alfred-Möller-Str. 1

JONATHAN M. KORMANN, KATHARINA J. LIEPE, MIRKO LIESEBACH

Thünen Institut für Forstgenetik, Sieker Landstraße 2, 22927 Großhansdorf

MARTIN HOFMANN, WILFRIED STEINER, MARTHA TÖPPE, MIRIAM WATERMEIER

Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldgenressourcen, Prof.-Oelkers-Str. 6, Hann. Münden

MARIE BRÜCKNER, DORIT RIEDEL, MAREK SCHILDBACH, UTE TRÖBER, HEINO WOLF

Staatsbetrieb Sachsenforst, Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Bonnewitzer Str. 34, 01796 Pirna OT Graupa