

Züchtung neuer Energiepappeln

N. Efremova¹, R. Lührs¹, A. Krull¹, P. Welters¹, M. Voß², M. Fladung², A. Hennig³, A. Meier-Dinkel³, A. Janßen³

¹ Phytowelt GreenTechnologies GmbH, Stöckheimer Weg1, 50829 Köln
² Johann Heinrich von Thünen-Institut, Institut für Forstgenetik, Sieker Landstr.2, 22927 Großhansdorf
³ Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abt. Waldgenressourcen, Prof.-Oelkers-Str. 6, 34346 Hann. Münden



ZIELE

- Der Anbau von Pappeln in Kurzumtriebsplantagen (KUP) zur effizienten Produktion von Holz für verschiedene industrielle Anwendungen erfordert die **Entwicklung neuer Sorten** mit folgenden Eigenschaften:
- gute Eignung für KUP (Vermehrbarkeit über Steckholz, schnelles Wachstum, gute Fähigkeit zur Bestockung)
 - eine gute Anpassung an spezifische Standorte (Grenzflächenstandorte, Rekultivierungsflächen, Remediationsflächen)
 - hohe Resistenz gegen verschiedene Krankheiten (z.B. Pappel-Blattrost),
 - optimale Holzqualität für verschiedene Anwendungen (Energieholz, Papierherstellung, Stoffgewinnung)

Tab 1. Beispiele für Eigenschaften verschiedener Pappelarten (- nicht vorhanden, + bis ++++ Stärke der Ausprägung (Angaben nach 1-6)

Section/ Subsektion	Populus		Aigeiros Schwarzpappel	Tacamahaca Balsampappel
	Zitterpappel	Weißpappel		
Natürlicher Verbreitungsschwerpunkt	Eurasien, Mittelmeerraum Nordamerika	Mittelmeerraum, westl. Asien	Mittelmeerraum, westl. Asien, milde Gebiete Mitteleuropas	Nordamerika und Ostasien
Wichtige Vertreter	<i>P. tremula</i> <i>P. tremuloides</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. nigra</i> , <i>P. deltoides</i>	<i>P. trichocarpa</i> <i>P. simonii</i> <i>P. maximowiczii</i>
Ansprüche an Boden	auch wechselfeuchte und staunasse Standorte	gut durchlüftet	> pH 6, tiefgründig, gute und gleichmäßige Wasser- und Sauerstoffversorgung	pH 4,5 – 6,5, weniger anspruchsvoll als Schwarzpappel
Empfindlichkeit gegen Früh- und Spätfrost	+	+++	+++	+++
Empfindlichkeit gegen Dichtstand	+		++++	-
Steckholzbewurzelung	-	++	++	++++
Wurzelbrutbildung	++++	+	+	+
Empfindlichkeit gegen Blattrost	-	-	+	-

Hybridisierung: Nutzen der Biodiversität und des Heterosis-Effektes

Pappel-Arthybride zeigen generell ein besseres Wachstum (Heterosis-Effekt) als die reinen Arten (6). Weltweit gibt es ca. 40 Pappelarten. Dieser Gen-Pool enthält alle züchterisch interessanten Eigenschaften (Beispiele **Tabelle 1**). Interspezifische, speziell intersektionale Kreuzungen, sind jedoch häufig sehr schwierig.

➔ Nutzen der Technik der **Protoplastenfusion** (Protoplasten = zellwandfreie Zellen) zur Hybridisierung von Pappelarten
Entwicklung von **molekularen Markern** zur Identifizierung und Charakterisierung von Hybriden

Polyploidisierung: Erhöhung der Biomasse

Pappeln mit erhöhter Chromosomenzahl zeigen wie andere Nutzpflanzen ein stärkeres Wachstum (7). Durch Entwicklung triploider steriler Hybride kann zusätzlich die Invasion fremder Arten verhindert werden. Die Polyploidisierung tritt in der Natur nur zufällig auf:

➔ Nutzen der **Technik der Protoplastenfusion** zur Polyploidisierung von Pappelarten

Im Rahmen des von der FNR geförderten ZÜEND-Projektes (FKZ 22014709) kombinieren die drei Partner ihre Expertise .

Phytowelt GreenTechnologies GmbH: Entwicklung neuer Pappel-Linien über Protoplastenfusion
Thünen-Institut: Entwicklung molekularer Marker zur Charakterisierung der Linien
NW-FVA: Etablierung von in vitro-Kulturen, Vermehrung der Fusionslinien und Test der Eigenschaften der neuen Pappel-Linien

Literatur: ¹ FRÖHLICH & DIETZE (1975), ² BAUMEISTER et al. (1979), ³ FAO (1979), ⁴ SCHIRMER (1996), ⁵ HEILMAN & NORBY (1998), ⁶ ZHANG et al. (2006); ⁷ STANTON et al. (2006)

ENTWICKLUNG NEUER PAPPEL-LINIEN DURCH PROTOPLASTENFUSION

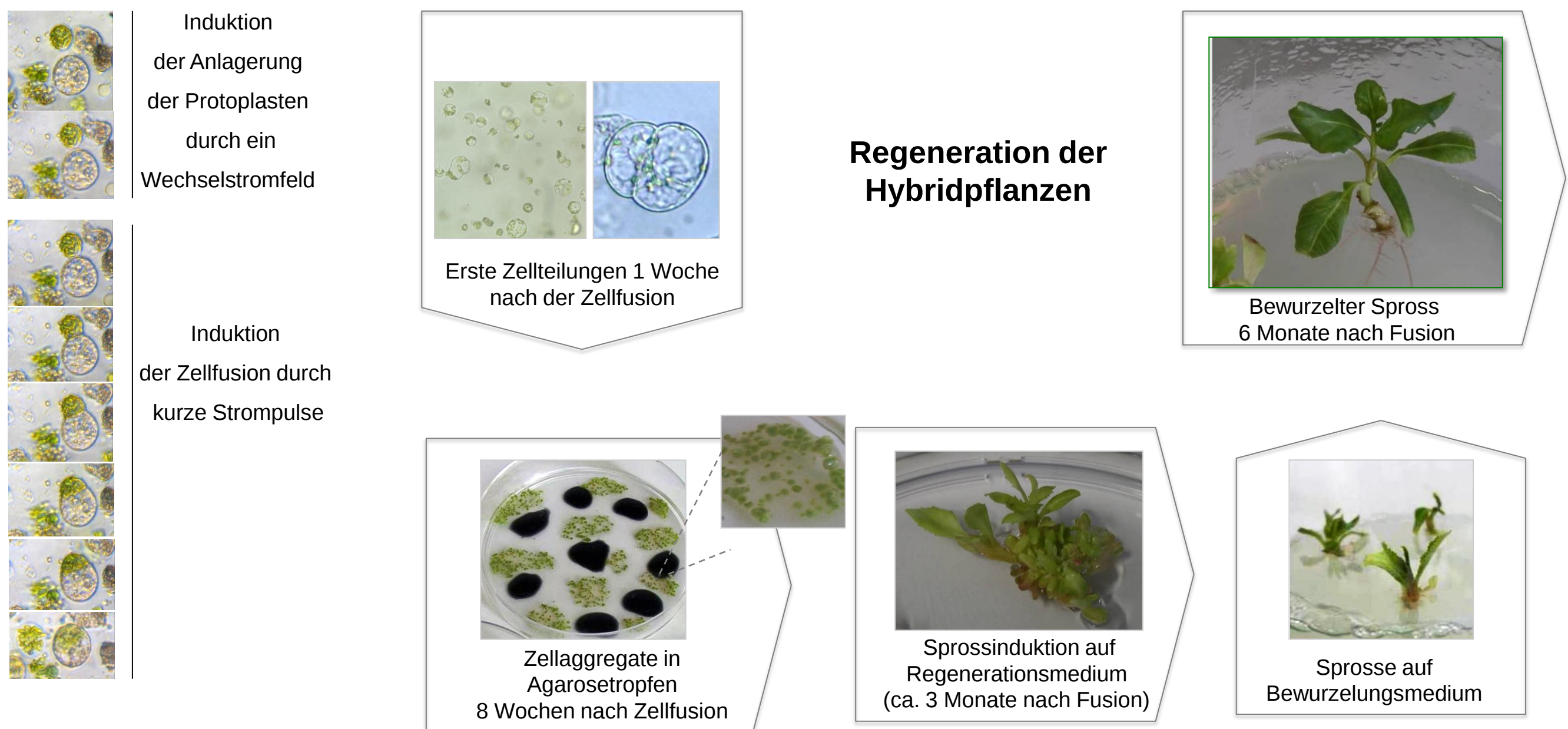


Abb. 1: Beispiel für die Protoplastenfusion und Pflanzenregeneration einer Hybrid-Aspe x Schwarzpappel. Phytowelt hat für mehrere Pappelarten und -linien Methoden zur Protoplastenfusion und -regeneration entwickelt. Die Protoplastenfusion wird mit elektrischem Puls stimuliert. Danach werden die Hybridzellen auf speziellen Nährmedien kultiviert, dort teilen sich die Zellen und entwickeln sich zu Kalli, aus denen Pflanzen regenerieren.

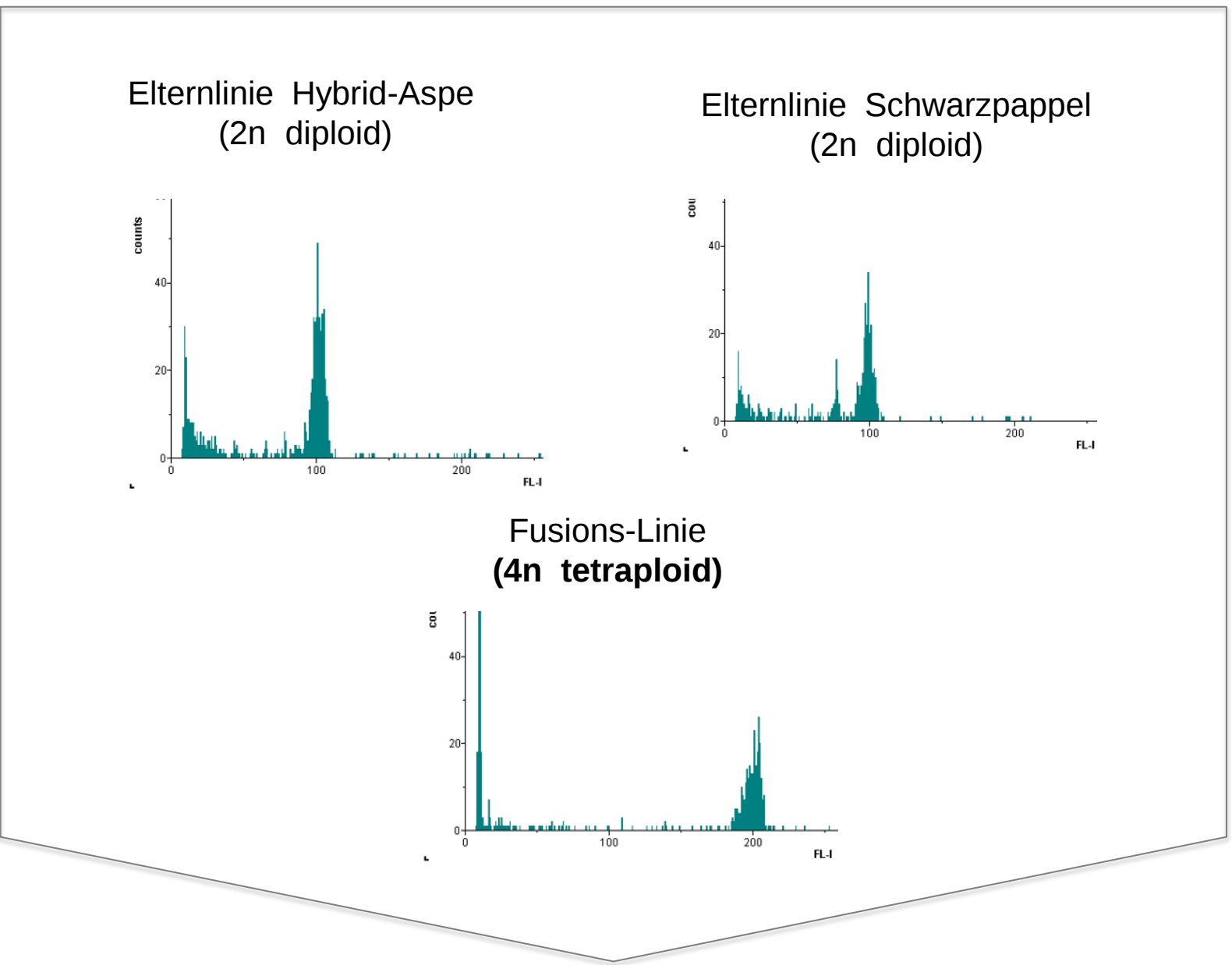


Abb 2: Zytofluorogramm einer tetraploiden Fusionslinie. Der Ploidiestatus der regenerierten Pflanzen aus den Fusionsexperimenten wird durch Durchflussszytometrie im Vergleich zu den Elternlinien: (z. B. Hybrid-Aspe und Schwarzpappel) bestimmt.



Art (Klon / Sorte)	Ploidie
Zitterpappel (Ahle 2)	3n, 4n
Zitterpappel (Brauna 11)	3n, 4n
Hybrid-Aspe (Münden 2)	3n, 4n
Graupappel (717 1 B 4)	3n, 4n
Weißpappel (Raket)	3n, 4n
Schwarzpappel (102E)	4n
Birken-Pappel (NW 9-475P)	4n
<i>P. trichocarpa x deltoides</i> (B19)	4n

Tabelle 2. Neue tri- und tetraploide Linien. Mehrere polyploide Linien von 7 verschiedenen, diploiden Pappelarten wurden aus Zellfusionen regeneriert und zytofluorometrisch analysiert.

MOLEKULARE ANALYSE DER PFLANZEN AUS DER ZELLFUSION: SELEKTION VON HYBRID-LINIEN



Aufgaben:

- Markerentwicklung zur Identifizierung selektierter Pappelklone
- Markerentwicklung für Eigenschaften einzelner Klone
- Analyse der Fusionshybriden mit verschiedenen molekularen Markern

Das Thünen-Institut für Forstgenetik verfügt über ein breites Sortiment von SNP- („Single Nucleotide Polymorphism“) und SSR- (Mikrosatelliten)-Markern, die sowohl zur Identifizierung reiner Pappelarten als auch zur Charakterisierung bestimmter Eigenschaften eingesetzt werden können. Diese Marker werden im Rahmen des Projektes zur Selektion und Charakterisierung somatischer Hybride aus der Protoplastenfusion angepasst und eingesetzt. Für die Analyse des Cytoplasmas stehen artspezifische chloroplastidäre SNP-Marker (Abb. 3A) zur Verfügung. Die Verdopplung des gesamten Kerngenoms wird mithilfe von Mikrosatelliten- und SNP-Markern (Abb. 3B) überprüft. Neben „vollständigen“ Fusionen können auch Verdopplungen einzelner Chromosomen nachgewiesen werden. Die somatischen Hybrid-Linien werden nach der molekularen Analyse an die NW-FVA zur Mikrovermehrung und Prüfung im Feld übergeben..

(A) Analyse der Chloroplasten mit SNP- Markern

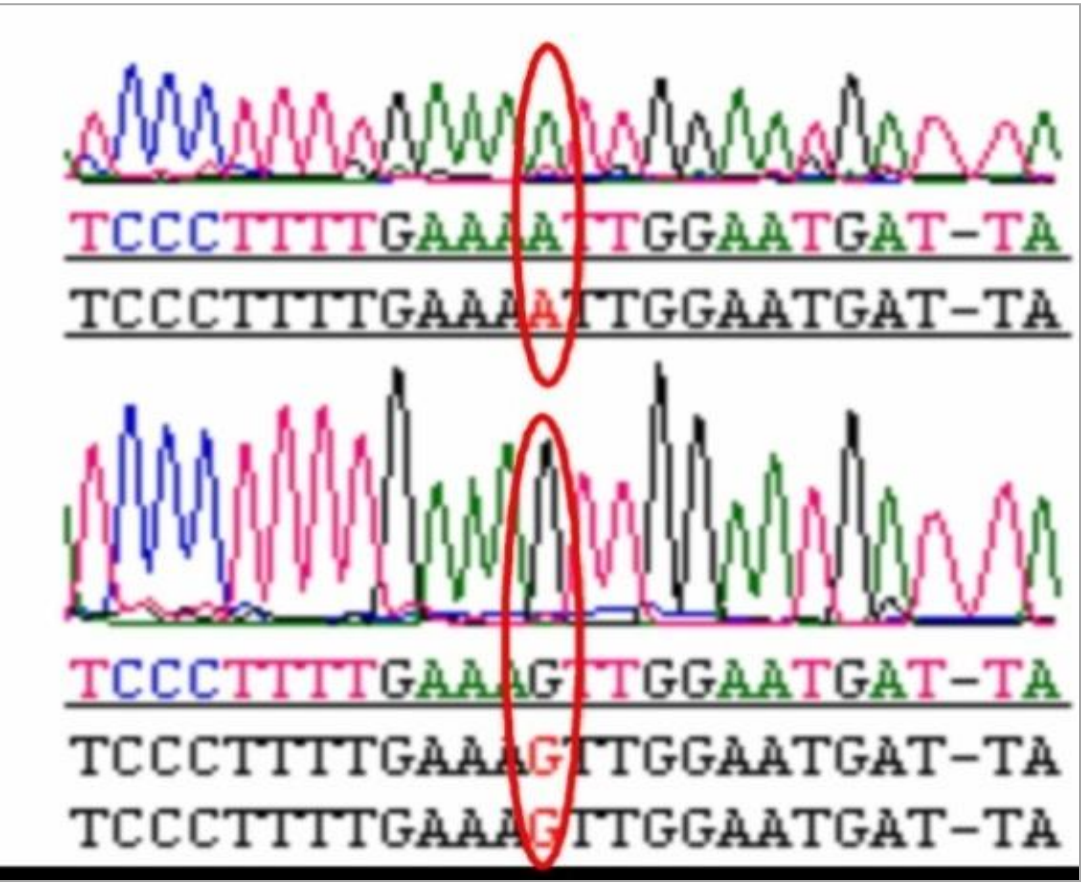


Abb. 3A: Chloroplastidäre SNP-Marker zur Analyse des Cytoplasmas

(B) SNP-Marker für Chromosom 7

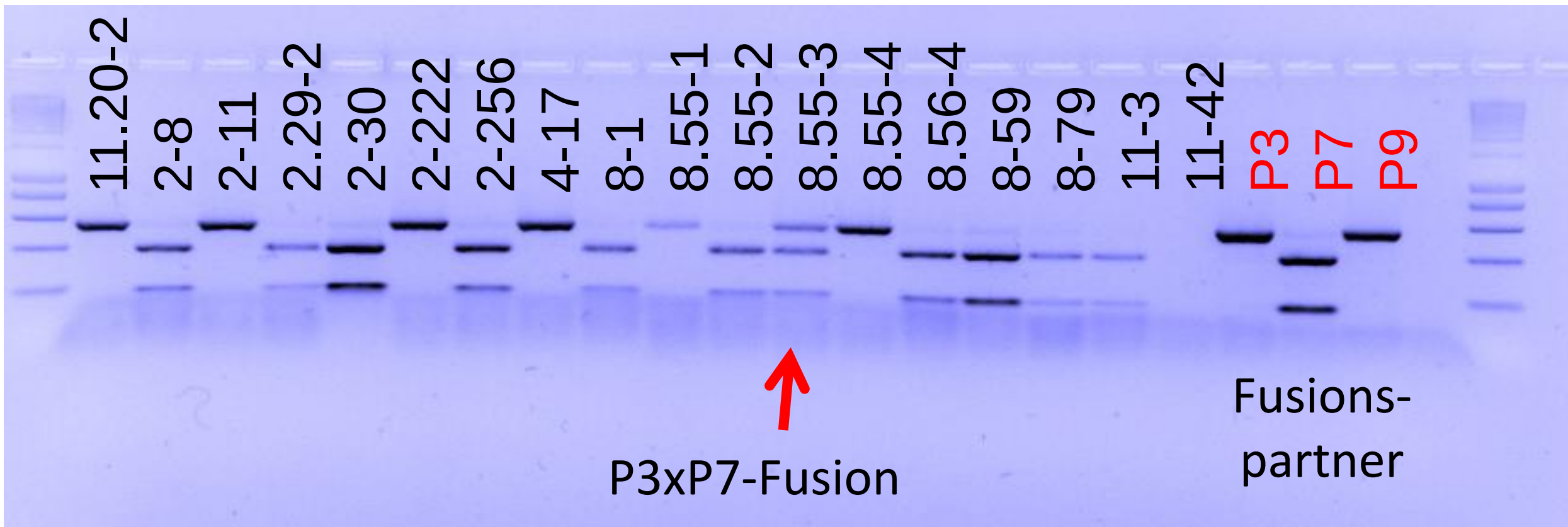


Abb 3B: Beispiel einer Analyse mit einem SNP-Marker zur möglichen Verdopplung von Chromosom 7.

ETABLIERUNG, VERMEHRUNG UND PHÄNOTYPISCHE ANALYSEN

Aufgaben der NW-FVA:

- Etablierung von 23 Pappelklonen mit interessanten Züchtungsmerkmalen als in vitro Kulturen
- Entwicklung eines in vitro Vermehrungsprotokolls für die Fusionspflanzen
- Überführung der Pflanzen in Erde und Anlage von Versuchsflächen
- Untersuchung für den Anbau in Kurzumtriebsplantagen relevanter Parameter (Biomassezuwachs, Steckholzvermehrbarkeit, Trockentoleranz)



Abb. 4: Mikrovermehrung der Pappelklone in vitro, Überführung in Erde, Anlage einer Versuchsfläche

Danksagung
Besonderer Dank gilt Silvia Köhler und Tina Wetzel für die optimale Betreuung der in vitro Kulturen.

Erste Untersuchungen zum Höhenwachstum

Material:

- Diploide Hybrid-Aspe (*Populus tremula* x *P. tremuloides*, Klon 'Münden 2', 18-03)
- 20 tetraploide Fusionslinien von o. g. Klon (14-01 bis 14-10, 18-04 bis 18-13)
- Triploide Hybrid-Aspe ('Austria', 18-01, Vergleichsklon für Biomasseentwicklung)

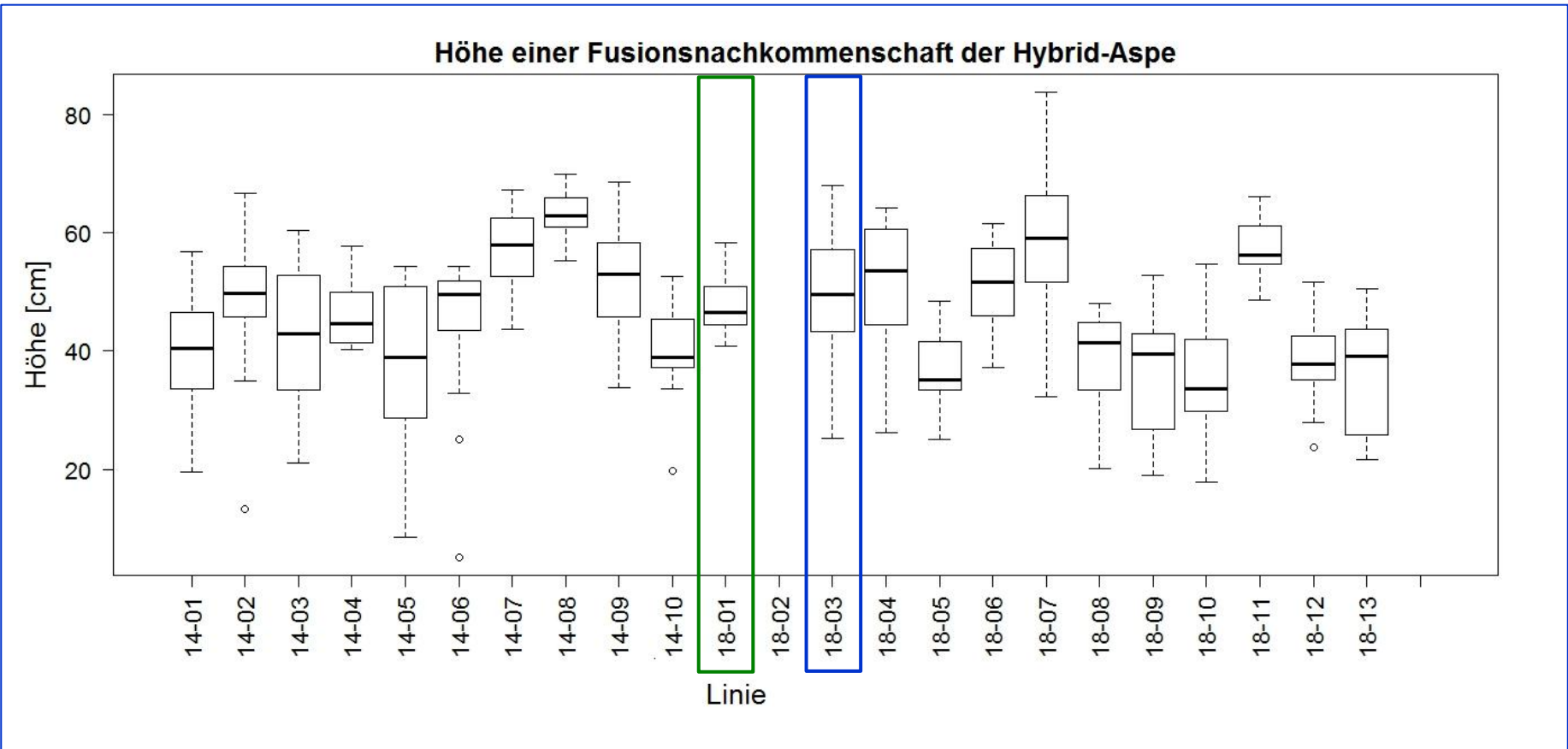


Abb. 5: Höhe einer diploiden Hybrid-Aspe (18-03), ihrer tetraploiden Fusionslinien und des triploiden Klones 'Austria' (18-01) im Alter von 16 Wochen (Anzahl = 16)

- Linie 14-08 zeigt signifikant höheres Wachstum sowohl gegenüber dem diploiden Ausgangsklon (29 %) als auch gegenüber dem triploiden Klon 'Austria' (32 %)
- Linie 14-07, 18-07, 18-11 waren signifikant höher im Wachstum (mindestens 20 %) als der gut wüchsige Klon'Austria'

→ Beobachtung der Biomasseparameter (Höhe, Durchmesser) im weiteren Entwicklungsverlauf im Freiland