

Schlussbericht

zum Verbundvorhaben

Thema:

Genetische Basis der Anpassung und Erhaltung anpassungsrelevanter Variation bei der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) (GenVarBuche); Teilvorhaben 1: Erfassung genomweiter genetischer Variation und ihre Assoziation mit Umweltvariablen und phänotypischen Merkmalen; Teilvorhaben 2: Differenzierung von Buchenherkünften an anpassungsrelevanten phänotypischen Merkmalen

Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1: Georg-August-Universität Göttingen

Teilvorhaben 2: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA)

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 2218WK34A4

Teilvorhaben 2: 2218WK34B4

Laufzeit:

01.06.2020 bis 31.07.2023

Monat der Erstellung:

08/2023

Veröffentlichungsdatum:

19.12.2023



Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Bundesministerium
für Umwelt, Naturschutz
und nukleare Sicherheit

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit (BMU) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger für den Waldklimafonds unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

SCHLUSSBERICHT

I. Ziele

1. Aufgabenstellung

Die Bewirtschaftung und Bewahrung von Buchenwäldern unter sich ändernden klimatischen Bedingungen ist aufgrund ihrer ökologischen und ökonomischen Bedeutung von besonderem Interesse (von Wühlisch 2008; von Wühlisch und Muhs 2011). Das vorliegende Projekt befasst sich mit der Charakterisierung genetischer Variation für die Anpassung der Rotbuche an unterschiedliche Umweltbedingungen. Durch die enge Zusammenarbeit mit dem bereits im Rahmen des Waldklimafonds geförderten Projekts BEECHLIMITS (Prof. Dr. Christoph Leuschner, Georg-August-Universität Göttingen) sowie der Abteilung Waldgenressourcen der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt (NW-FVA) (Dr. Wilfried Steiner) ergeben sich wertvolle Synergieeffekte sowie ein direkter Kontakt zur Forstpraxis. Mit der Verwendung moderner Technologien der Genomsequenzierung wie „Genotyping by Sequencing“ (GBS) und der Nutzung von leistungsstarken statistischen Methoden wie Assoziationsstudien zwischen genetischer Variation einerseits und Umwelt- und phänotypischer Variation andererseits soll mit dem vorliegenden Projekt die Basis für unser Verständnis von Anpassungsprozessen bei der Rotbuche erweitert werden. Darüber hinaus sollen Grundlagen für die Identifikation von Genotypen und Herkünften gelegt werden, die am besten für bestimmte Umweltbedingungen geeignet sind und auch zukünftig eine hohe Angepasstheit in Verbindung mit einem hohen Ertragspotential gewährleisten.

2. Stand der Technik

Die Rotbuche ist eine der wichtigsten Baumarten in Deutschland. Daran wird sich voraussichtlich auch im Hinblick auf den erwarteten Klimawandel nichts ändern (Ammer et al. 2005; Kölling et al. 2007). Allerdings hat sich gezeigt, dass der Klimawandel die Leistungsfähigkeit von Buchenwäldern negativ beeinflussen kann, vor allem aufgrund erhöhter Trockenheit. Ein reduziertes Wachstum von Buchenbeständen wurde dabei nicht nur an den Grenzen ihrer Verbreitung beobachtet (Jump et al. 2006; Piovesan et al. 2008), sondern auch im Zentrum ihres Verbreitungsgebietes inklusive Deutschland (Charru et al. 2010; Scharnweber et al. 2011; Zimmermann et al. 2015; Knutzen et al. 2017).

Studien auf der Basis von Herkunftsversuchen und Vergleichsanbauten zeigen bezüglich der wirtschaftlichen Ertragsleistung von Herkünften enorme Unterschiede. So liegen die besten Buchenherkünfte mit ca. 60 % über dem Versuchsmittel und sogar ca. 100% über den schlechtesten Herkünften (Kleinschmit 2002). Diese enorme Variabilität macht sich auch im Hinblick auf adaptive Parameter im Zusammenhang mit dem Klimawandel bemerkbar. So zeigen Herkünfte aus trockenen Gebieten eine höhere Trockenresistenz als solche von frischen oder nachhaltig frischen Standorten (z.B. Rose et al. 2009; Thiel et al. 2014). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der Austriebszeitpunkt in Abhängigkeit von der Höhenlage variiert (Vitasse et al. 2009). Durch den schnellen Klimawandel werden solche lokalen Anpassungsmuster möglicherweise gestört (Vitt et al. 2010). Vor diesem Hintergrund ist es von essentieller Bedeutung zu wissen, für welche Umweltbedingungen Buchengenotypen und die aus ihnen zusammengesetzten Buchenpopulationen angepasst sind oder ausreichendes Anpassungspotential aufweisen (Aitken und Bemmels 2015). In diesem Zusammenhang können Studien zur Charakterisierung adaptiv relevanter genetischer Variation einen Beitrag zur Identifizierung von Populationen und Genotypen leisten, welche unter den zukünftig erwarteten Klimabedingungen überlegene Wuchseigenschaften aufweisen.

In den letzten Jahren wurden einige Studien über SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) in Kandidaten-Genen veröffentlicht, die an der Ausprägung des Austriebstermins und der Reaktion von Stress beteiligt sind (Seifert et al. 2012; Lalagüe et al. 2014; Müller et al. 2015). Einige dieser SNPs wurden als potentiell adaptiv identifiziert und sind assoziiert mit wichtigen anpassungs- und ertragsbestimmenden Merkmalen wie Austrieb, Pflanzhöhe und Chlorophyll Fluoreszenz oder Umweltvariablen wie Niederschlag, Temperatur und Höhenlage (z.B. Csilléry et al. 2014; Müller 2014; Müller et al. 2015; Pluess et al. 2016; Krajmerová et al. 2017; Cuervo 2017; Müller et al. 2017). Obwohl der Ansatz, genetische Variation von Kandidaten-Genen mit mehr oder weniger bekannter Funktion im Stoffwechsel zu charakterisieren, erfolgreich zur Identifizierung adaptiver genetischer Variation beigetragen hat, kann er die Komplexität der adaptiven Prozesse insgesamt kaum

abbilden. So werden mit dem Kandidatengen-Ansatz generell unbekannte Gene oder solche mit unbekannter Funktion ignoriert (Ingvarsson and Street 2011). Hier bieten genomweite Assoziations-Studien völlig neue Möglichkeiten der genetischen Charakterisierung von tausenden von SNPs über das gesamte Genom. Bisher waren solche Analysen beschränkt auf Modellorganismen wie etwa die Pappel, für die das gesamte Genom sequenziert wurde. Mit der Entwicklung von Methoden der sogenannten Next Generation Sequenzierung (NGS) wie zum Beispiel GBS (Genotyping by Sequencing) ist es aktuell möglich, solche Studien auch für Arten durchzuführen, für die das Genom nicht oder nur in Ausschnitten bekannt ist. Damit wird die Implementierung von GWAS (Genome Wide Association Studies) möglich (He et al. 2014).

3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Keine

Literatur

- Aitken SN, Bemmels JB (2015) Time to get moving: assisted gene flow of forest trees. *Evol Appl* 9:271–290. doi: 10.1111/eva.12293
- Ammer C, Albrecht L, Borchert H, Brosinger F, Dittmar C, Elling W, Ewald J, Felbermeier B, Von Gilsa H, Huss J, Kenk G, Kölling C, Kohnle U, Meyer P, Mosandl R, Moosmayer H, Palmer S, Reif A, Rehfuess K, Stimm B (2005) Zur Zukunft Der Buche (*Fagus sylvatica* L.) In Mitteleuropa. *Allg Forst- U J-Ztg* 176:60–67
- Charru M, Seynave I, Morneau F, Bontemps J-D (2010) Recent changes in forest productivity: An analysis of national forest inventory data for common beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France. *For Ecol Manag* 260:864–874. doi: 10.1016/j.foreco.2010.06.005
- Csilléry K, Lalagüe H, Vendramin GG, González-Martínez SC, Fady B, Oddou-Muratorio S (2014) Detecting short spatial scale local adaptation and epistatic selection in climate-related candidate genes in European beech (*Fagus sylvatica*) populations. *Mol Ecol* 23:4696–4708. doi: 10.1111/mec.12902
- Cuervo L (2017) Genetic analysis of European beech populations across precipitation gradients: understanding the adaptive potential to climate change. Dissertation, Georg-August-University Göttingen
- He J, Zhao X, Laroche A, Lu Z-X, Liu H, Li Z (2014) Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front Plant Sci* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00484
- Ingvarsson PK, Street NR (2011) Association genetics of complex traits in plants. *New Phytol* 189:909–922. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03593.x
- Jump AS, Hunt JM, Peñuelas J (2006) Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Glob Change Biol* 12:2163–2174. doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01250.x
- Kleinschmit W (2002) Herkunftsfrage aus Sicht der Betriebswirtschaft. In: Nordwestdeutscher Forstverein (Hrsg.): Jahrestagung 2002 in Hann. Münden. pp 28–33
- Knutzen F, Dulamsuren C, Meier IC, Leuschner C (2017) Recent climate warming-related growth decline impairs European beech in the center of its distribution range. *Ecosystems* 20:1494–1511. doi: 10.1007/s10021-017-0128-x
- Kölling C, Zimmermann L, Walentowski H (2007) Klimawandel: Was geschieht mit Buche und Fichte? *AFZ-DerWald* 62:584–588
- Krajmerová D, Hrivnák M, Ditmarová L, Jamnická G, Kmeť J, Kurjak D, Gömöry D (2017) Nucleotide polymorphisms associated with climate, phenology and physiological traits in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *New For* 48:463-477. doi: 10.1007/s11056-017-9573-9
- Lalagüe H, Csilléry K, Oddou-Muratorio S, Safrana J, Quattro C de, Fady B, González-Martínez SC, Vendramin GG (2014) Nucleotide diversity and linkage disequilibrium at 58 stress response and phenology candidate genes in a European beech (*Fagus sylvatica* L.) population from southeastern France. *Tree Genet Genomes* 10:15–26. doi: 10.1007/s11295-013-0658-0
- Müller, M (2014) A candidate gene-based association study to investigate potentially adaptive genetic variation in European beech (*Fagus sylvatica* L.). Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen
- Müller M, Seifert S, Finkeldey R (2015) Identification of SNPs in candidate genes potentially involved in bud burst in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silvae Genet* 64:1–20
- Müller M, Seifert S, Finkeldey R (2017) Comparison and confirmation of SNP-bud burst associations in European beech populations in Germany. *Tree Genet Genomes* 13:59. doi: 10.1007/s11295-017-1145-9
- Pluess AR, Frank A, Heiri C, Lalagüe H, Vendramin GG, Oddou-Muratorio S (2016) Genome–environment association study suggests local adaptation to climate at the regional scale in *Fagus sylvatica*. *New Phytol* 210:589–601. doi: 10.1111/nph.13809
- Piovesan G, Biondi F, Filippo AD, Alessandrini A, Maugeri M (2008) Drought-driven growth reduction in old beech (*Fagus sylvatica* L.) forests of the central Apennines, Italy. *Glob Change Biol* 14:1265–1281. doi: 10.1111/j.1365-2486.2008.01570.x
- Rose L, Leuschner C, Köckemann B, Buschmann H (2009) Are marginal beech (*Fagus sylvatica* L.) provenances a source for drought tolerant ecotypes? *Eur J For Res* 128:335–343. doi: 10.1007/s10342-009-0268-4

- Scharnweber T, Manthey M, Criegee C, Bauwe A, Schröder C, Wilmking M (2011) Drought matters – Declining precipitation influences growth of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. in north-eastern Germany. For Ecol Manag 262:947–961. doi: 10.1016/j.foreco.2011.05.026
- Seifert S, Vornam B, Finkeldey R (2012) A set of 17 single nucleotide polymorphism (SNP) markers for European beech (*Fagus sylvatica* L.). Conserv Genet Resour 4:1045–1047. doi: 10.1007/s12686-012-9703-9
- Thiel D, Kreyling J, Backhaus S, Beierkuhnlein C, Buhk C, Egen K, Huber G, Konnert M, Nagy L, Jentsch A (2014) Different reactions of central and marginal provenances of *Fagus sylvatica*. Eur J For Res 133:247–260. doi: 10.1007/s10342-013-0750-x
- Vitasse Y, Delzon S, Bresson CC, Michalet R, Kremer A (2009) Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. Can J For Res 39:1259–1269
- Vitt P, Havens K, Kramer AT, Sollenberger D, Yates E (2010) Assisted migration of plants: Changes in latitudes, changes in attitudes. Biol Conserv 143:18–27. doi: 10.1016/j.biocon.2009.08.015
- Von Wühlisch G (2008) EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use for European beech (*Fagus sylvatica*). Biodivers Int 6
- Von Wühlisch G, Muhs H (2011) Current state of European beech (*Fagus sylvatica* L.) forests in Germany. In: Frydl J, Novotny P, Fennessy J, von Wühlisch G (eds) COST Action E 52 Genetic resources of beech in Europe - current state. Johann Heinrich von Thünen-Institut, Germany, pp 113–121
- Zimmermann J, Hauck M, Dulamsuren C, Leuschner C (2015) Climate warming-related growth decline affects *Fagus sylvatica*, but not other broad-leaved tree species in Central European mixed forests. Ecosystems 18:560–572. doi: 10.1007/s10021-015-9849-x

II. Ergebnisse

Teilvorhaben 1

Beerntung und genomweite Analyse von Buchenaltbeständen

Es wurden Buchenaltbestände analysiert, für die bereits im Projekt „BEECHLIMITS“ (Arbeitsgruppe Prof. Dr. Christoph Leuschner, Georg-August-Universität Göttingen) baumphysiologische Parameter erhoben wurden (Abb. 1). Durch die Bereitstellung von Blattproben von zusätzlichen Beständen aus dem Projekt, konnten mehr Bestände als geplant analysiert werden. Ein Vorversuch mit LGC Genomics mit wenigen Testproben, der Aufschluss über die Sequenzierbedingungen geben sollte bevor alle Proben sequenziert wurden, ergab, dass mehr Proben gleichzeitig sequenziert werden konnten. Um eine bessere Repräsentativität der SNPs und des Umweltgradienten zu erhalten, wurden daher Proben von weiteren Buchenbeständen mit-sequenziert. Diese zusätzlichen Buchbestände stammen aus dem Projekt „Biodiversitäts-Exploratorien“ (Abb. 1).

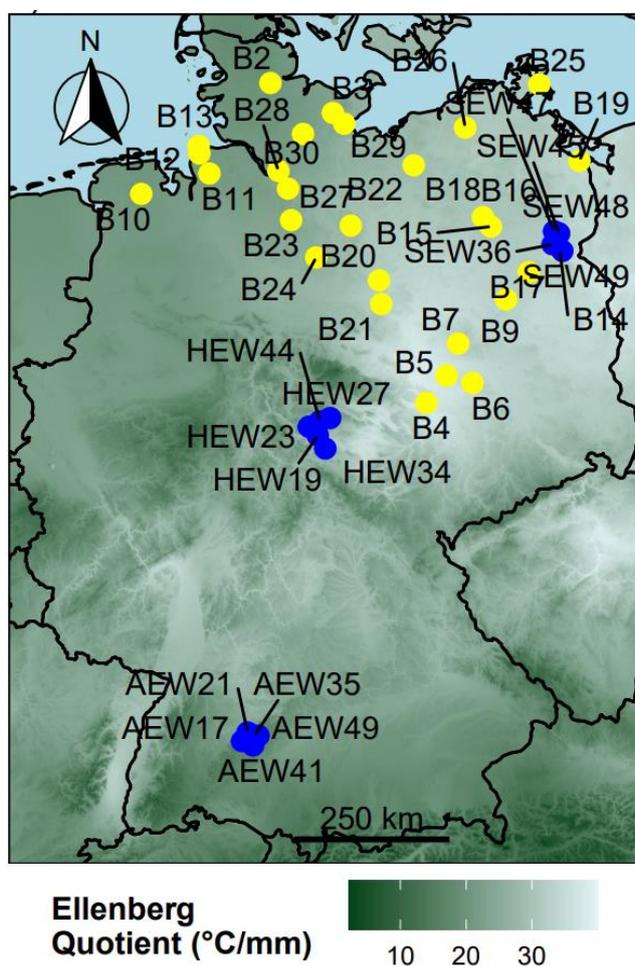


Abb. 1: Lage der analysierten Altbestände und Ellenberg-Quotient. Bestände aus dem Project „BEECHLIMITS“ sind gelb dargestellt, die zusätzlichen Bestände aus dem Projekt „Biodiversitäts-Exploratorien“ sind blau dargestellt.

Die DNA der Blattproben wurde extrahiert und hinsichtlich Menge und Qualität getestet. Da die Anforderungen der DNA für Genotyping-by-Sequencing (GBS)-Analysen erfüllt waren, wurden die Proben zur Sequenzierung an LGC Genomics versendet. Die Sequenzierung verlief erfolgreich. Pro Probe wurden durchschnittlich 1,5 Millionen Sequenzier-Reads generiert. Die Zuordnungsrate der Reads zum Referenzgenom der Buche („Mapping Rate“) betrug 95,7 %. Insgesamt wurden 341.912 SNPs über alle Bestände identifiziert. Nach einem ersten Filterungsschritt hinsichtlich Häufigkeiten der SNPs (Häufigkeit von mind. 8 Reads, vollständige Daten

für alle SNPs in mind. 10 % der Proben und eine Allelhäufigkeit ≥ 5 %) ergaben sich 111.821 SNPs. Nach weiteren Filterungsschritten (z.B. Kopplungsungleichgewicht) ergab sich ein finales Set von 13.493 hochqualitativen SNPs, welches die Basis für die weiteren Analysen war. Die SNPs wurden basierend auf dem publizierten Buchengenom annotiert. Die Populationsstruktur der Buchenpopulationen wurde mittels geeigneter Software analysiert. Es zeigte sich eine geringe Populationsstruktur der Buchenpopulationen mit Unterschieden hauptsächlich zwischen Populationen aus Süddeutschland im Vergleich zu Populationen aus nördlicheren Gebieten (Abb. 2). Außerdem legte die Analyse nahe, dass einige der Populationen aus Pflanzungen stammen könnten (Populationen B2, B5, B7, B9, und B13).

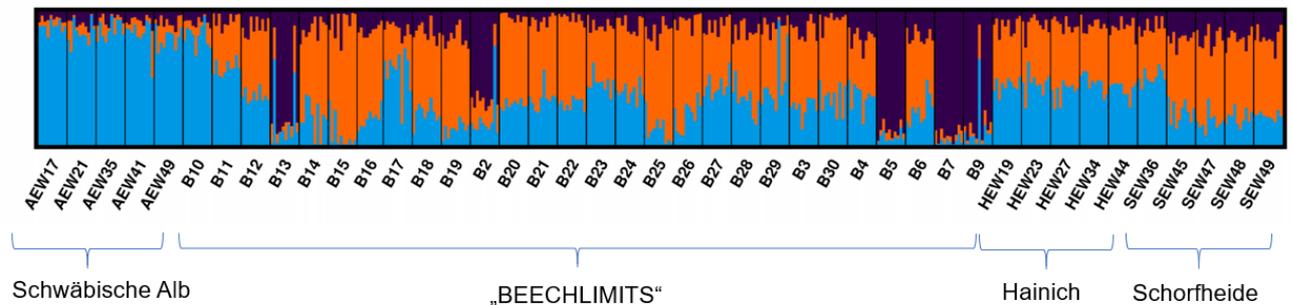


Abb. 2: Genetische Populationsstruktur der analysierten Bestände. Dargestellt ist die Gruppierung der Individuen basieren auf 3 Clustern (K=3).

Das Projekt BEECHLIMITS hat klimatische und baumphysiologische Daten der Buchenpopulationen bereitgestellt. Da auch Populationen außerhalb des BEECHLIMITS-Projektes in die Umweltassoziationsanalysen einfließen sollten (siehe oben), wurden zusätzliche Klima- und Bodendaten aus frei verfügbaren Datenbanken (WorldClim (Fick & Hijmans, 2017) und SoilGrids (Poggio et al., 2021)) bezogen. Auf Grundlage der WorldClim-Variablen wurden zusätzliche Variablen berechnet: mittlerer Niederschlag und Temperatur im Frühjahr (April bis Juni), mittlerer Niederschlag und Temperatur in der Wachstumsperiode (April bis September) sowie der Ellenberg-Klimaquotient. Die Klima- und Bodendaten wurden mittels Hauptkomponentenanalyse zusammengefasst. Es zeigte sich, dass insgesamt 4 Hauptkomponenten (Principle Components „PCs“) einen Großteil der Variation erklären konnten. Die Umweltassoziationsanalysen wurden mit allen sequenzierten Buchenpopulationen durchgeführt. Die Populationen aus Norddeutschland, die möglicherweise aus Pflanzungen stammen könnten wurden nicht mit in die Analyse einbezogen, da diese keine Anpassung an die lokalen Umweltbedingungen vermuten lassen. Insgesamt wurden drei verschiedene Methoden für die Assoziationsanalyse verwendet: Bayenv2.0 (Günther & Coop, 2013), Latent Factor Mixed Model (lfmm) (Frichot et al., 2013), implementiert im LEA v.3.2.0 R-Paket (Frichot & François, 2015) und der multivariate Ansatz Partial Redundancy Analysis (pRDA) implementiert im vegan v.2.5-7 R-Paket (Oksanen et al., 2020). Auf Grundlage der drei verschiedenen Methoden wurden 300 verschiedene SNPs identifiziert, die mit mindestens einer der drei Umwelt-PCs assoziiert sind. Die drei Methoden ergaben eine unterschiedliche Anzahl signifikanter SNPs (Abb. 3). Die SNPs, die bei allen drei Methoden signifikant mit einer bestimmten Umwelt-PC assoziiert waren, wurden als die zuverlässigsten Assoziationen angesehen (Abb. 4). Dies waren 3 SNPs für PC1, 2 SNPs für PC2, 1 SNP für PC3 und 4 SNPs für PC4 (Tabelle 1). Davon waren 5 intronische SNPs, 3 intergenische SNPs und 2 synonyme SNPs (Tabelle 1).

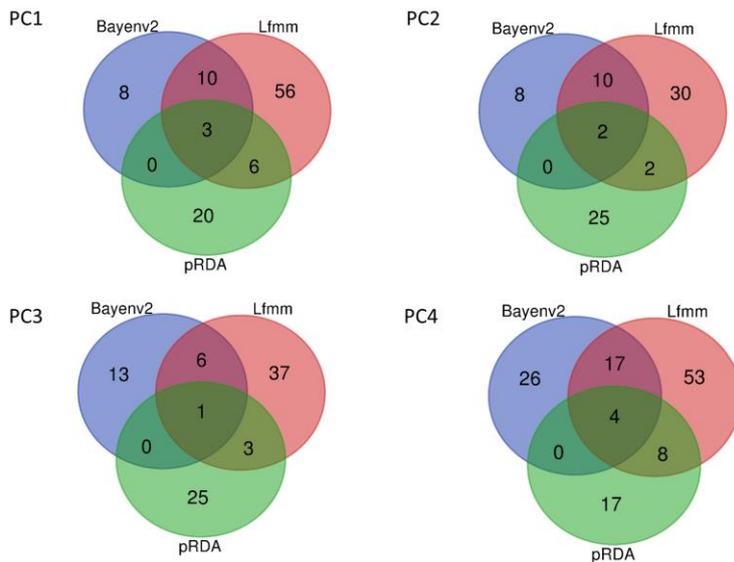


Abb. 3: Venn-Diagramme signifikanter SNPs, die durch die verschiedenen Assoziationsmethoden für die vier Umwelt-Hauptkomponenten ermittelt wurden.

Für die Assoziationsanalyse der baumphysiologischen Parameter wurden alle Populationen aus dem BEECHLIMITS-Projekt verwendet, die auch für die Sequenzierung genutzt wurden. Es wurden die Programme TASSEL (Bradbury et al., 2007) und GAPIT (Wang & Zhang, 2021) für die Analysen verwendet. Da natürliche Populationen analysiert wurden und daher unterschiedliche Umweltfaktoren die physiologischen Parameter beeinflussen können, wurden geographische Informationen als Kovariaten in die Analysen integriert. Zusätzlich wurden Q-Werte aus der STRUCTURE-Analyse in das Modell integriert, um für die neutrale Populationsstruktur zu korrigieren. Die Assoziationsanalyse auf der Grundlage von TASSEL ergab 12 signifikante SNPs während GAPIT keine signifikanten SNPs identifizierte. Alle signifikanten SNPs waren mit der spezifischen Blattfläche (specific leaf area „sla“) assoziiert (Tabelle 1). Von diesen 12 SNPs waren 9 intronisch, 9 intergenisch und 4 synonym. Die SNPs erklärten zwischen 6,4 % und 13,4 % der phänotypischen Variation (mittleres R^2 der signifikanten SNPs: 7,8 %). Ohne eine Korrektur für multiples Testen identifizierten die beiden verwendeten Programme übereinstimmend mehr als 4300 signifikante SNPs über alle getesteten Merkmale. Auch diese SNPs werden anderen Wissenschaftlern zur Verfügung gestellt, da wahrscheinlich anpassungsrelevante SNPs enthalten sind, die aus rein statistischen Gründen nicht identifiziert werden konnten.

Tabelle 1: Übersicht über SNPs, die signifikant mit den Umwelt-PCs oder physiologischen Merkmalen assoziiert sind.

SNP	Trait	Chromosom	Klasse	Annotation
scaffold119_size409709_63521	PC1	7	Intronisch	vesicle-fusing_ATPase-like
scaffold27_size635005_579987	PC1	4	Intergenisch	intergenic_region
scaffold468_size229126_58274	PC1	1	Intergenisch	intergenic_region
scaffold349_size263893_101889	PC2	7	Intergenisch	intergenic_region
scaffold733_size243116_78220	PC2	3	Intronisch	serine_hydroxymethyltransferase_6
scaffold153_size597108_249560	PC3	6	Intronisch	protein_NYNRIN-like
scaffold1142_size245227_149635	PC4	3	Synonym	GDP-mannose_transporter_GONST3-like
scaffold1327_size114253_36968	PC4	3	Intronisch	uncharacterized_mitochondrial_g00810-like
scaffold161_size363313_240927	PC4	5	Synonym	UDP-glucuronate_4-epimerase_6
scaffold285_size289019_189215	PC4	5	Intronisch	electron_transfer_flavo_-ubiquinone_mitochondrial_isoform_X1
scaffold1065_size135957_37986	sla	3	Synonym	uncharacterized protein LOC109000868
scaffold1121_size131042_17041	sla	1	Intronisch	rab escort 1
scaffold1271_size118169_110362	sla	6	Intronisch	eukaryotic initiation factor 4A-8
scaffold1326_size114272_71215	sla	3	Intronisch	uncharacterized abhydrolase domain-containing DDB_G0269086-like
scaffold1785_size128954_116982	sla	6	Intronisch	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 22-like
scaffold2660_size57589_42688	sla	3	Intergenisch	intergenic_region
scaffold508_size218371_156893	sla	1	Intergenisch	intergenic_region
scaffold912_size271288_190268	sla	10	Synonym	synaptotagmin-3-like isoform X1
scaffold116_size412086_359247	sla	11	Intergenisch	intergenic_region; 248 bp entfernt vom nächsten Gen (Casein kinase II subunit alpha-2)
scaffold1441_size107806_32277	sla	5	Intergenisch	intergenic_region
scaffold812_size164009_151255	sla	5	Intergenisch	intergenic_region
scaffold719_size176289_97941	sla	3	Intergenisch	intergenic_region

sla: specific leaf area (spezifische Blattfläche).

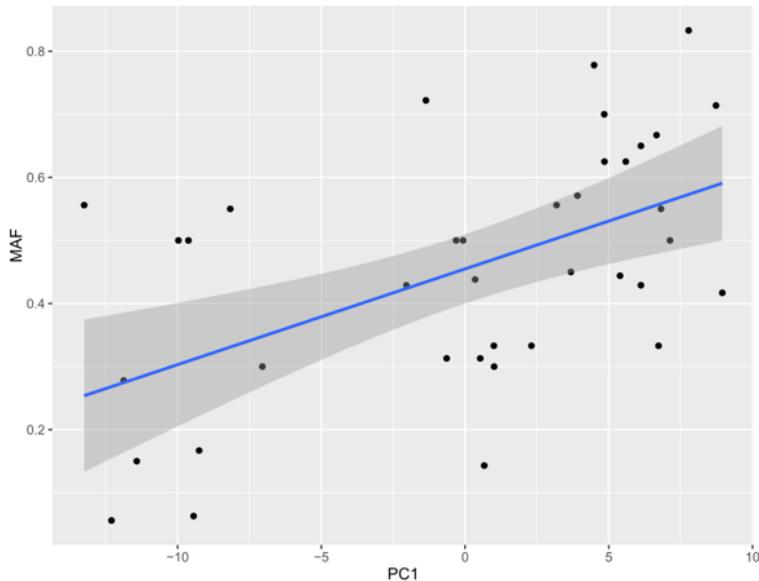


Abb. 4: Streuungsdiagramm zwischen der „Minor Allele Frequency“ (MAF) des SNPs „scaffold119_size409709_63521“ (lokalisiert im Gen „Vesicle-fusing_ATPase-like“) und PC1. PC1 ist negativ mit Niederschlagsvariablen und positiv mit Temperaturvariablen assoziiert.

Analysen der Herkunftsversuche

Blattproben der beiden Herkunftsversuche (insgesamt von ca. 2000 Bäumen; Arbeitspaket 3), die im Rahmen des Teilvorhabens 2 gewonnen wurden (siehe unten), wurden sortiert und aufgeteilt für die Analyse der Stomatadichte und die Ermittlung der spezifischen Blattfläche (in Teilvorhaben 2). Für die Ermittlung der Stomatadichte wurden die Blätter zunächst in Zeitungspapier gepresst und getrocknet. Mittels Klarlack wurden Blattabdrücke erstellt, die unter einem Mikroskop analysiert werden konnten.

Die Stomatadichte der analysierten Herkünfte im Versuch Bursfelde reichte von 186 Stomata/mm² bei der Herkunft „Forêt de Jamoigne“ bis 302 Stomata/mm² bei der Herkunft „Rendsburg“. Obwohl sich einige Herkünfte signifikant hinsichtlich der Stomatadichte unterschieden, zeigte sich eine eher geringe Differenzierung der Herkünfte. Am Standort Medingen reichte die Stomatadichte von 181 Stomata/mm² (Herkunft Merzalben) bis 268 Stomata/mm² (Herkunft Zwiesel-Ost). Der Vergleich der Stomatadichte der Herkünfte zwischen den Standorten zeigte, dass sich die Stomatadichte auf beiden Standorten ähnelt (Abb. 5). Einige Herkünfte zeigten allerdings signifikante Unterschiede. Das Ergebnis deutet auf eine relativ hohe genetische Kontrolle der Stomatadichte bei der Rotbuche hin, die Stomatadichte wird aber auch durch Umweltfaktoren beeinflusst.

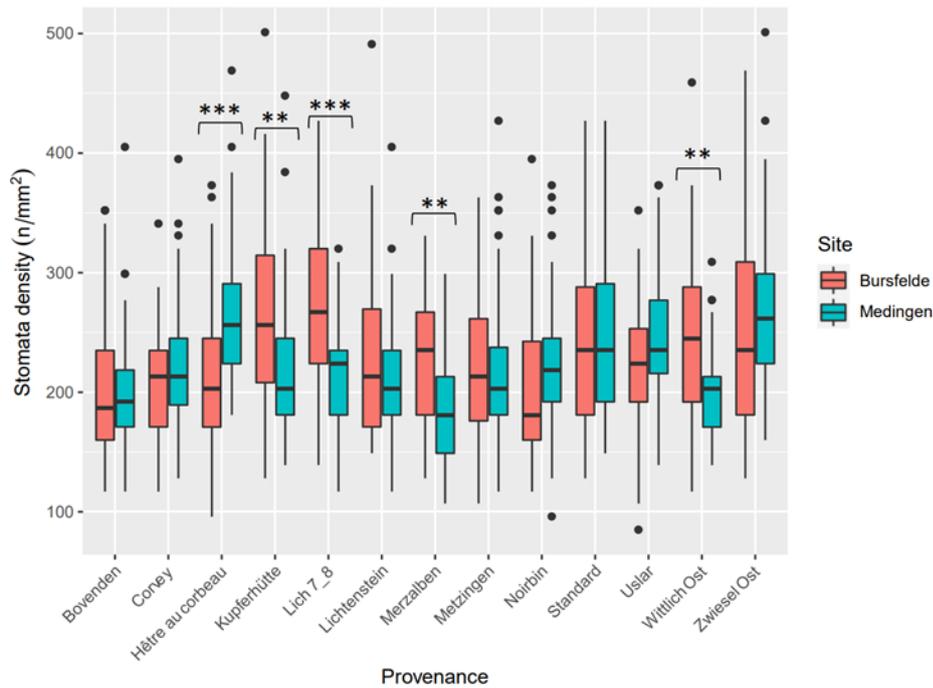


Abb 5: Vergleich der Stomatadichte der Herkünfte, die auf beiden Standorten (Bursfelde und Medingen) vorhanden sind. Signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften auf den unterschiedlichen Standorten sind mit Sternchen gekennzeichnet (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Die spezifische Blattfläche (siehe Teilvorhaben 2) unterschied sich deutlich zwischen den beiden Standorten. Die Herkünfte in Medingen wiesen dabei eine höhere spezifische Blattfläche auf als die Herkünfte in Bursfelde (Abb. 6). Dies deutet auf einen, im Vergleich zur Stomatadichte, höheren Einfluss der Umweltbedingungen auf die Ausprägung des Merkmals hin. Signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften innerhalb der beiden Standorte wurden ebenfalls identifiziert.

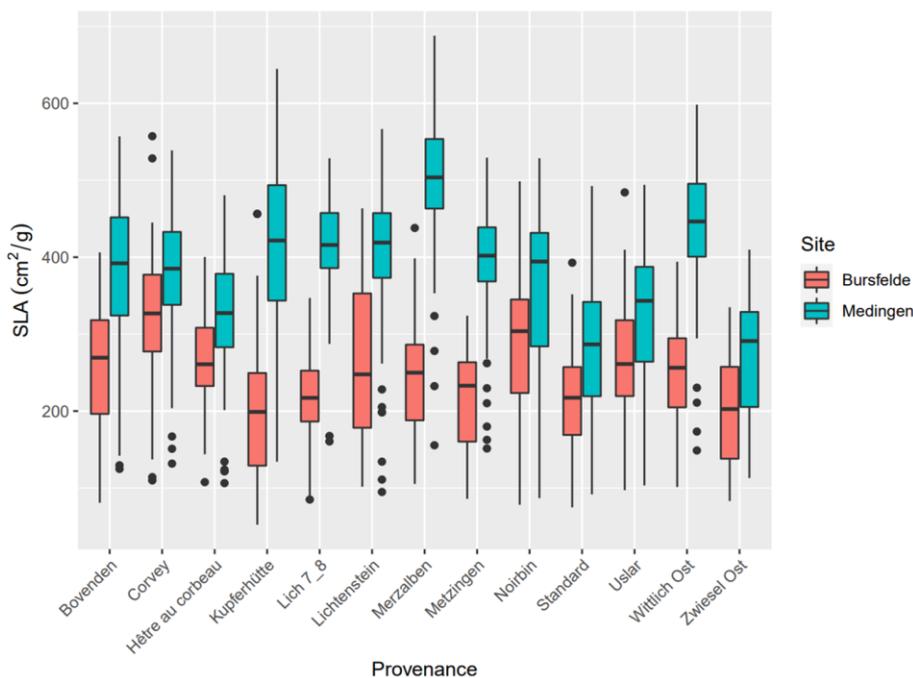


Abb. 6: Vergleich der Spezifische Blattfläche (SLA) der verschiedenen Herkünfte zwischen den beiden Standorten in Bursfelde und Medingen. Für alle Populationspaare (bis auf Corvey) unterscheiden sich die Werte signifikant voneinander.

Blattproben von denselben Bäumen, die für die Analyse der Stomatadichte und spezifischen Blattfläche verwendet wurden, wurden außerdem in der Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung für die

spätere DNA-Extraktion tiefgefroren. Die ca. 2000 Proben wurden erfolgreich für die DNA-Extraktion verwendet. Insgesamt konnten 105 SNPs aus der Assoziationsstudie (siehe oben) in zwei Multiplexe aufgeteilt und für die Genotypisierung mittels MassArray-System verwendet werden. Nach Ausschluss von SNPs mit mehr als 25 % fehlenden Daten, konnten 39 SNPs für die Analysen des Standortes Bursfelde und 40 SNPs für die Analysen des Standortes Medingen verwendet werden. Die Populationsstruktur zwischen den Herkünften war gering (Abb. 7). Auch die genetische Differenzierung zwischen den Herkünften ist mit Werten von F_{ST} : 0,027 am Standort Bursfelde und F_{ST} : 0,018 am Standort Medingen als gering anzusehen. Dies sind Werte, die auch in der Vergangenheit bei der Rotbuche in Deutschland ermittelt wurden (Müller et al., 2018). Die Analyse der Populationsstruktur zeigte, dass die Herkünfte Zwiesel-Ost sowie Hêtre au corbeau sich am stärksten von den anderen Herkünften unterschieden (Abb. 7).

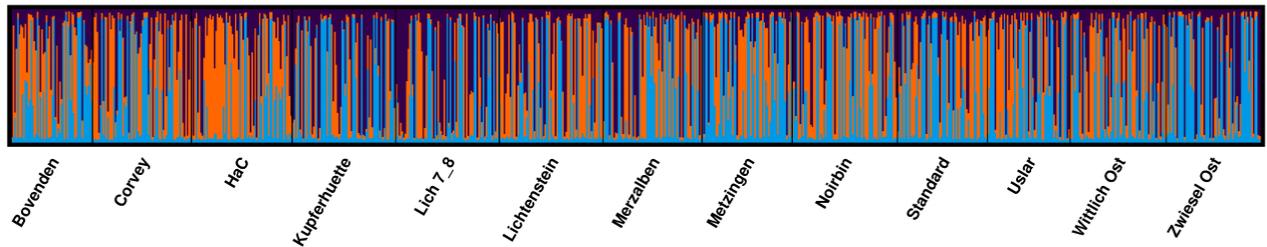


Abb. 7: Genetische Populationsstruktur der analysierten Herkünfte am Standort Medingen. Dargestellt ist die Gruppierung der Individuen basieren auf 3 Clustern (K=3). HaC: Hêtre au corbeau.

Die genetischen Daten und phänotypischen Parameter wurden außerdem verwendet, um SNP-Merkmal-Assoziationen zu identifizieren. Dafür wurde das Latent Factor Mixed Model (Funktion lfmm2), das im LEA v.3.2.0 R-Paket (Frichot & François, 2015) enthalten ist, verwendet. Es konnte ein SNP („scaffold1916_size82730_5357“) identifiziert werden, der mit dem Brusthöhendurchmesser der Herkünfte am Standort Bursfelde assoziiert war. Bei Berücksichtigung von nominalen Signifikanzwerten (solche, die nicht für multiples Testen korrigiert wurden) konnten zusätzlich 5 SNPs am Standort Bursfelde identifiziert werden, die mit dem BHD assoziiert waren, 4 SNPs, die mit der Stomatadichte assoziiert waren und ein SNP, der mit der spezifischen Blattfläche assoziiert war. Am Standort Medingen konnten basierend auf nominalen P-Werten 5 SNPs identifiziert werden, von denen 2 mit der Stomatadichte, 2 mit der spezifischen Blattfläche und einer mit dem BHD assoziiert waren (Tab. 2). Da 3 SNPs in unterschiedlichen Analysen signifikante Assoziationen zeigten, handelt es sich, trotz der fehlenden Korrektur für multiples Testen, wahrscheinlich um SNPs, die an der Ausprägung der Merkmale beteiligt sind. Die SNPs erklärten zwischen 0,2 % und 1,0 % der phänotypischen Variation.

Tabelle 2: Übersicht über SNPs, die signifikant mit Merkmalen in den beiden Standorten des Herkunftsversuchs assoziiert sind.

SNP	Merkmal	Standort	R ² (%)	Annotation
scaffold1916_size82730_5357*	BHD	Bursfelde	0.9%	intergenic_region
scaffold679_size183422_169377	BHD	Bursfelde	0.6%	intergenic_region
scaffold28_size633765_256324	BHD	Bursfelde	0.5%	intergenic_region
scaffold78_size479138_305614	BHD	Bursfelde	0.4%	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A-like
CysPro_118	BHD	Bursfelde	0.4%	Cystein proteinase
scaffold1891_size83963_47464	BHD	Bursfelde	0.2%	intergenic_region
scaffold566_size204737_88526	sla	Bursfelde	0.5%	intergenic_region
scaffold733_size243116_78220	Stomatadichte	Bursfelde	1.0%	serine hydroxymethyltransferase 6
scaffold566_size204737_88526	Stomatadichte	Bursfelde	0.7%	intergenic_region
scaffold1891_size83963_47464	Stomatadichte	Bursfelde	0.5%	intergenic_region
scaffold2988_size50895_45903	Stomatadichte	Bursfelde	0.5%	intergenic_region
scaffold3211_size46338_25614	BHD	Medingen	1.0%	phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase 5-like
scaffold1765_size89495_23460	sla	Medingen	0.9%	intergenic_region
scaffold551_size291037_183986	sla	Medingen	0.7%	intergenic_region
scaffold78_size479138_305614	Stomatadichte	Medingen	0.9%	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A-like
scaffold1055_size136685_100407	Stomatadichte	Medingen	0.5%	intergenic_region

*signifikant nach Korrektur für multiples Testen (false discovery rate, FDR).

Literatur

- Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37(12), 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>
- Frichot, E., & François, O. (2015). LEA: an R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(8), 925–929. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12382>
- Frichot, E., Schoville, S. D., Bouchard, G., & François, O. (2013). Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Molecular Biology and Evolution*, 30(7), 1687–1699. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst063>
- Günther, T., & Coop, G. (2013). Robust identification of local adaptation from allele frequencies. *Genetics*, 195(1), 205–220. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.152462>
- Müller, M., Cuervo-Alarcon, L., Gailing, O., K. C. R., Chhetri, M., Seifert, S., Arend, M., Krutovsky, K., & Finkeldey, R. (2018). Genetic variation of European beech populations and their progeny from northeast Germany to southwest Switzerland. *Forests*, 9(8), 469. <https://doi.org/10.3390/f9080469>
- Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *Vegan: Community ecology package. R package version 2.5-7.*

- Poggio, L., de Sousa, L. M., Batjes, N. H., Heuvelink, G. B. M., Kempen, B., Ribeiro, E., & Rossiter, D. (2021). SoilGrids 2.0: Producing soil information for the globe with quantified spatial uncertainty. *Soil*, 7(1), 217–240. <https://doi.org/10.5194/soil-7-217-2021>
- Wang, J., & Zhang, Z. (2021). GAPIT version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 19(4), 629–640. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>

Teilvorhaben 2

Einleitung

Das vorliegende Projekt befasst sich mit der Charakterisierung genetischer Variation für die Anpassung der Buche an unterschiedliche Umweltbedingungen. Mit der Verwendung moderner Technologien der Genomsequenzierung wie GBS und der Nutzung von leistungsstarken statistischen Methoden wie der F_{ST} -Outlier-Analyse und Assoziationsstudien zwischen genetischer Variation einerseits und Umwelt- und phänotypischer Variation andererseits soll mit dem vorliegenden Antrag unsere Basis für das Verständnis von Anpassungsprozessen bei der Buche erweitert werden. Darüber hinaus sollen Grundlagen für die Identifikation von Genotypen und Herkünften gelegt werden, die am besten für bestimmte Umweltbedingungen geeignet sind und auch zukünftig eine hohe Angepasstheit in Verbindung mit einem hohen Ertragspotential gewährleisten.

Die Ziele des Teilvorhabens der NW-FVA (Arbeitspaket 3) bestehen darin, geeignete Herkunftsversuche zu identifizieren und durch eine Datenaufnahme Erkenntnisse im Bereich der Phänologie der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zu gewinnen. Dabei sollen die Herkunftsversuche aus Herkünften bestehen, die eine möglichst deutschlandweite Abdeckung aufweisen sowie auf verschiedenen Standorten repliziert worden sind. Dies kann eine Unterscheidung zwischen genetischen und Umwelteffekten auf die Merkmalsausprägung ermöglichen. Im weiteren Verlauf des Projektes soll eine Sammlung von Blattproben in den Herkunftsversuchen erfolgen. Die Blattproben werden in Kooperation mit dem Projektpartner (Universität Göttingen, Oliver Gailing) genetischen Analysen unterzogen, um anpassungsrelevante Merkmale identifizieren zu können.

Material und Methoden

Im Folgenden werden die Arbeitsschritte beschrieben, die bei der Durchführung der jeweiligen Meilensteine notwendig waren und umgesetzt wurden. Es wird auch auf Probleme und Schwierigkeiten eingegangen, die sich bei der Bearbeitung ergeben haben.

Meilenstein 7: Identifizierung geeigneter Herkunftsversuche

Ein geeigneter Herkunftsversuch charakterisiert sich durch eine möglichst deutschlandweite Abdeckung der verwendeten Herkünfte, welche in ausreichender Anzahl auf mindestens zwei Standorten repliziert wurden. Ausschlaggebend sind ebenfalls die Anzahl beprobbarer Individuen, der allgemeine Zustand der Fläche und bereits verfügbare langjährige Datenreihen. Dafür erfolgte zunächst eine Sichtung vorhandener Altdaten. Durchgeführt wurde diese mit Hilfe der auf dem Server der NW-FVA (Abteilung C) verfügbaren Akten. Für genauere Recherchen empfahl sich jedoch ein Blick in die Papierformatakten, welche im Keller der NW-FVA Hann. Münden gelagert werden. Dabei musste berücksichtigt werden, ob sich die jeweilige Versuchsflächenakte unter den aufgegeben oder aktiven Flächen befand. Für die genaue Identifizierung der gesuchten Akte wurden nun die Zahlenkürzel 22 (Herkunftsversuch), 201 (Buche) und 001-034 (angelegte Versuchsflächen) benötigt. Die Ergebnisse der Recherche aus den Altdaten wurden in einer Excel-Tabelle (Entscheidungshilfe Provenienzversuche) festgehalten. Gleich zu Beginn fielen einige der 34 Herkunftsversuche aus der Betrachtungsweise heraus. Dies lag zum Beispiel an zu hohen Ausfällen bei der Flächenanlage oder dem (laut Akte) schlechten Allgemeinzustand der Fläche. Übrig blieben drei Serien der Versuchsflächen

006 - 014, 016 - 020 und 027 - 034. Anschließend wurden die Versuchsflächen innerhalb ihrer Serie miteinander verglichen. Sie gliedern sich in die Punkte Prüfglieder, letztes Aufnahmedatum und Individuenanzahl auf. Daraus konnte ein Ranking erstellt werden, welche Herkunftsversuche aus welcher Serie die meisten Überschneidungen der Herkünfte mit den höchsten Anzahlen beprobbarer Individuen aufwiesen. Auf Grundlage dieser Daten erfolgten Flächenbereisungen der vielversprechendsten Herkunftsversuche. Dabei wurde der allgemeine Zustand der Flächen begutachtet und überprüft, ob die angegebenen Individuenzahlen der Altdaten mit den aktuellen übereinstimmen oder davon abweichen.

Meilenstein 8: Sammlung von Pflanzenmaterial aus den Herkunftsversuchen

Mit dem Meilenstein (M8), Sammlung von Pflanzenmaterial aus den Herkunftsversuchen, konnte im Mai 2021 begonnen werden. Dabei ging es zu Beginn um die Auswahl und Markierung geeigneter Bäume in den Herkunftsversuchen bei Bursfelde (22.201.16) sowie Medingen (22.201.17). In beiden Herkunftsversuchen konnten 13 identische Prüfglieder ausgewiesen werden. Dies entspricht einer Probenentnahme von 77 Bäumen pro Prüfglied, um auf die festgelegte Summe von etwa 1000 beprobten Bäumen pro Herkunftsversuch zu kommen. Ausgewählt wurden die Bäume aufgrund ihrer räumlichen Verteilung im jeweiligen Prüfglied und der Möglichkeit, eine einwandfreie Zuordnung bei der späteren Probenentnahme zu gewährleisten. Aufgrund einer Durchforstung kam es im Herkunftsversuch in Bursfelde teilweise zu einer Unterschreitung der festgelegten Baumzahl pro Prüfglied, weshalb die Differenz auf zusätzliche Prüfglieder aufgeteilt werden musste. Die ausgewählten Bäume wurden am Stamm mittels Markierungsband gekennzeichnet und mit der jeweiligen Baum- und Prüfgliednummer beschriftet. Als problematisch stellte sich der Herkunftsversuch bei Medingen heraus, da die ursprünglich angebrachten Baumnummern nur noch sehr schemenhaft zu erkennen waren. Durch eine zeitintensive Rückrechnung, ausgehend von erkennbaren Baumnummern, konnten jedoch alle Bäume einwandfrei identifiziert werden. Die Problematik der erschwerten Erkennbarkeit und zukünftig komplett verlorengehenden Beschriftung wurde in einer Dienstbesprechung erörtert. In Absprache mit dem jeweiligen Revierleiter vor Ort wurden die folgenden Probenentnahmen durch die Firma ISOGEN angemeldet. Anschließend erfolgten Flächenbegehungen mit der Firma ISOGEN und dem Projektpartner der Universität Göttingen (Oliver Gailing). Dabei wurden die weiteren Abläufe besprochen und die Machbarkeit der Probenentnahme begutachtet.

Meilenstein 9: Messung phänotypischer Merkmale im Herkunftsversuch

Der Meilenstein (M9), Messung phänotypischer Merkmale im Herkunftsversuch, gliedert sich in mehrere Teilbereiche unterschiedlicher Laufzeiten auf. Im März 2021 konnte mit der Messung des Brusthöhendurchmessers (BHD) und der Baumhöhe begonnen werden. Dafür wurden die Handlungsanweisungen der vorherigen Bonituren der Flächen aus dem Jahr 2018 verwendet. Der BHD ließ sich mittels Umfangbandmaß auf 1,3 m Höhe feststellen. Größtenteils konnten dieselben Messpunkte vergangener Bonituren genutzt werden, da diese mit einem Farbpunkt markiert waren. Eine weitere Aufgabe bestand darin, baumfremden Bewuchs wie zum Beispiel das Gewöhnliche Efeu (*Hedera helix*) oder andere Arten bei der Messung zu berücksichtigen und wenn nötig zu entfernen. Anschließend erfolgte die Ermittlung der Baumhöhe mittels eines „TruePulse 200“ Lasermessgerätes.

Dabei galt der jeweilige Standpunkt im Bestand als wichtige Komponente, um etwaige Messungenauigkeiten zu minimieren. Einerseits mussten die Kronenspitze aber auch der Stamm und Wurzelanlauf zu sehen sein. Andererseits durfte die Entfernung zum zu messenden Baum nicht zu gering sein, diese sollte mindestens der jeweiligen Baumhöhe entsprechen. Parallel dazu wurde im März 2021 und 2022 mit der Aufnahme des Austriebsverhaltens begonnen. Zurückgegriffen werden konnte dabei auf eine umfangreiche Ausarbeitung („Common protocols and reference standards for selected traits and species“) des Austriebsverhaltens der Rotbuche, welche im Projekt „Trees 4 Future – Designing Trees For The Future“ erstellt wurde. In Absprache mit dem Projektpartner fiel die Auswahl auf dieses Boniturschemata, welches sich in fünf Stufen gliedert und mit den ruhenden Knospen im Winterstadium beginnt. In der zweiten Stufe schwellen die Knospen an und vergrößern ihr Volumen sichtlich. Ein farblicher Unterschied lässt sich in der dritten Stufe beobachten, dort öffnen sich die Knospen und der erste grüne Farbton ist schemenhaft zu erkennen. Die ersten kleinen Blätter zeigen sich in der vierten Stufe, welche schlussendlich ihre volle Größe und Form in der fünften Stufe erreicht haben. Anschließend erfolgte die Auswahl und Markierung von zehn Bäumen pro Prüfglied, welche für die Aufnahme des Austriebsverhaltens ausgewählt wurden. Dabei spielte eine ausgewogene räumliche Verteilung im Prüfglied eine wichtige Rolle. Ebenfalls sollten nur Bäume der herrschenden Klasse in Betracht gezogen werden, keine unterständigen oder angeschlagenen Bäume mit einer verminderten Vitalität. Aufgrund des Alters und der Größe der Bäume in den Herkunftsversuchen war die Aufnahme des Austriebsverhaltens der Knospen in der Oberkrone nur mittels Fernglas möglich. Durchgeführt wurde die Aufnahme im Herkunftsversuch bei Bursfelde zwei Mal pro Woche über einen Zeitraum von etwa sieben Wochen (05.04. - 21.05.2021 / 23.03. - 13.05.2022). Der Herkunftsversuch bei Medingen konnte aufgrund der Entfernung und des Budgets nur ein Mal pro Woche im Jahr 2022 aufgenommen werden (29.03. - 17.05.2022).



Nach der Ernte des gewonnenen Pflanzenmaterials konnte im Juni 2021 mit der Berechnung der spezifischen Blattfläche begonnen werden. Dafür wurden etwa 2000 Blattproben vorsortiert, einzeln eingetütet und beschriftet. Die Lagerung des frischen Materials fand bei 5 °C in der Kühlung der NW-FVA in Hann. Münden statt. Anschließend konnte mit der Bestimmung des Frischgewichts der einzelnen Blätter begonnen werden. Dabei kam eine Analysewaage der Marke Sartorius (R3005) mit integriertem Windschutzgehäuse und einer Messgenauigkeit von vier Nachkommastellen zum Einsatz. Um ein vorzeitiges Austrocknen zu verhindern, wurde immer nur ein kleiner Teil der Blätter, welcher sofort verarbeitet werden konnte, aus der Kühlung genommen und vermessen. Direkt im Anschluss erfolgte die Ermittlung der Gesamtblattfläche mit dem Programm „Easy Leaf Area Free“ (Hsien Ming Easlon and Arnold J. Bloom, 2014). Dafür wurden die noch frischen Blätter mit dem oben genannten Programm auf einem mobilen Endgerät abgelichtet und auf

Grundlage dessen die Gesamtblattfläche ermittelt. Das Programm errechnet mit Hilfe der grünen Färbung der Blätter, in Kombination mit einem roten Maßstab (Quadrat), den Flächenanteil der photosynthetisch aktiven Blattfläche (Abb. 1). Somit können Fehlstellen oder Braunfärbungen im Blatt

in der Berechnung der Gesamtblattfläche berücksichtigt werden. Anknüpfend erfolgte die Bestimmung des Trockengewichtes der jeweiligen Blätter. Dafür wurden diese in jeweils beschrifteten Briefumschlägen in einem Trockenofen für 24 Stunden bei 80 °C aufbewahrt und anschließend ein weiteres Mal gewogen. Abschließend konnte die spezifische Blattfläche als Quotient aus der Blattfläche und der Trockenmasse bestimmt werden. Der gesamte beschriebene Prozess konnte nicht an allen Blättern gleichzeitig stattfinden und wurde in kleineren Teilgruppen von etwa 100 Blättern durchgeführt. Im September 2021 und 2022 konnte mit der Blattverfärbungsaufnahme während des Vegetationsabschlusses begonnen werden. Das dafür benötigte Boniturschemata wurde im Vorhinein mit dem Projektpartner abgestimmt. Dieses gliedert sich in fünf Stufen, welche sich je nach Grad der Blattverfärbung der Oberkrone prozentual unterscheiden (Stufe 1 = bis 10 % verfärbt; Stufe 2 = > 10 bis 35 % verfärbt; Stufe 3 = > 35 bis 65 % verfärbt; Stufe 4 = > 65 bis 90 % verfärbt; Stufe 5 = bis 10 % nicht verfärbt). Um eine Vergleichbarkeit der Datensätze mit der Aufnahme des Austriebsverhaltens herzustellen, wurde die Blatt-verfärbungsaufnahme an den identischen Bäumen durchgeführt. Aufgrund des Alters und der Größe der Bäume in den Herkunftsversuchen war die Blattverfärbungsaufnahme in der Oberkrone ebenfalls nur mit einem Fernglas möglich. Durchgeführt wurde die Aufnahme im Herkunftsversuch bei Bursfelde zwei Mal pro Woche über einen Zeitraum von zehn Wochen (06.09. - 12.11.2021 / 29.08. - 25.10.2022). Der Herkunftsversuch bei Medingen konnte aufgrund der Entfernung und des Budgets nur ein Mal pro Woche im Jahr 2022 aufgenommen werden (07.09. - 02.11.2022).

Ergebnisse

Meilenstein 7: Identifizierung geeigneter Herkunftsversuche

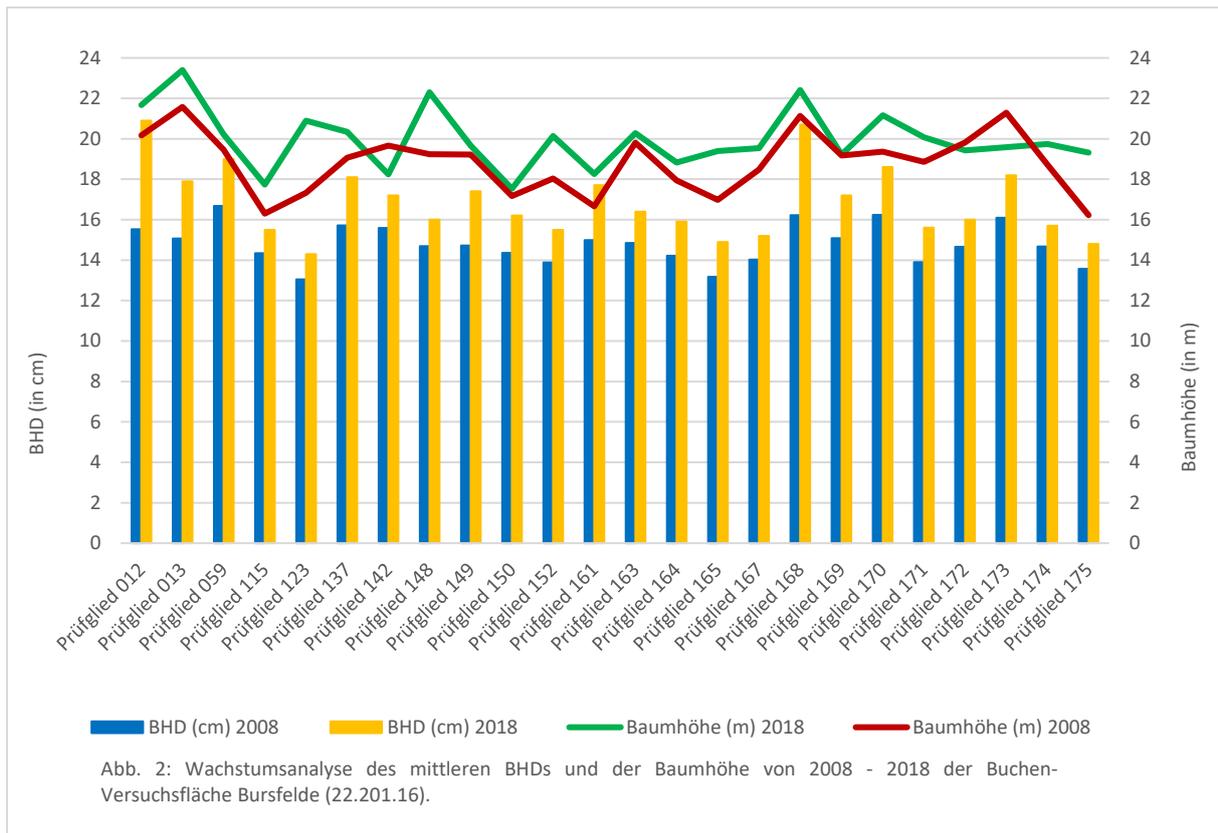
Unter Berücksichtigung der bereits genannten Kriterien (Material und Methoden, Meilenstein 7), konnten zwei Flächen der Serie 016 – 020 ausgewählt werden, welche den genannten Anforderungen

Prüfglied Nr.	Herkunft	Höhemeter über NN
12	Mittl. u. unt. Neckar, mittelfr. Keuper	390
13	Schwäb. Alb, Bayer. Jura	760
59	Südliches Weserbergland	260-330
123	Ostbayer. Mittelgebirge	1150-1230
137	Südwestpfalz im Pfälzerwald	450
142	Westdt. Bergland, Oberrhein. Tiefebene	250
150	Vorderer Vogelsberg u. Wetterau	220-230
161	Südliches Weserbergland	180-300
163	Nordwestliche Ausläufer des Gö. Waldes	280-300
164	Südliches Weserbergland	320
167	Ostsüdostausläufer Ohmgebirge	400-520
171	Ardennen, südöstliches Belgien	430
173	Ardennen, südöstliches Belgien	400

am ehesten entsprachen. Dabei handelt es sich um die Versuchsflächen bei Bursfelde (22.201.16) sowie bei Medingen (22.201.17). Beide entstanden Anfang der 1960er Jahre in Verbindung mit den damaligen Buchen-Provenienzversuchen Krahl-Urbans. Auf beiden Versuchsflächen stocken jeweils über 20 verschiedene Herkünfte, wovon 13 auf beiden Flächen vorkommen (Tab. 1).

Tab. 1: Darstellung der 13 identischen Herkünfte der Versuchsflächen bei Bursfelde und Medingen.

Anschließend erfolgte eine Wachstumsanalyse des mittleren BHDs und der Baumhöhe von 2008 - 2018 der Versuchsfläche bei Bursfelde.



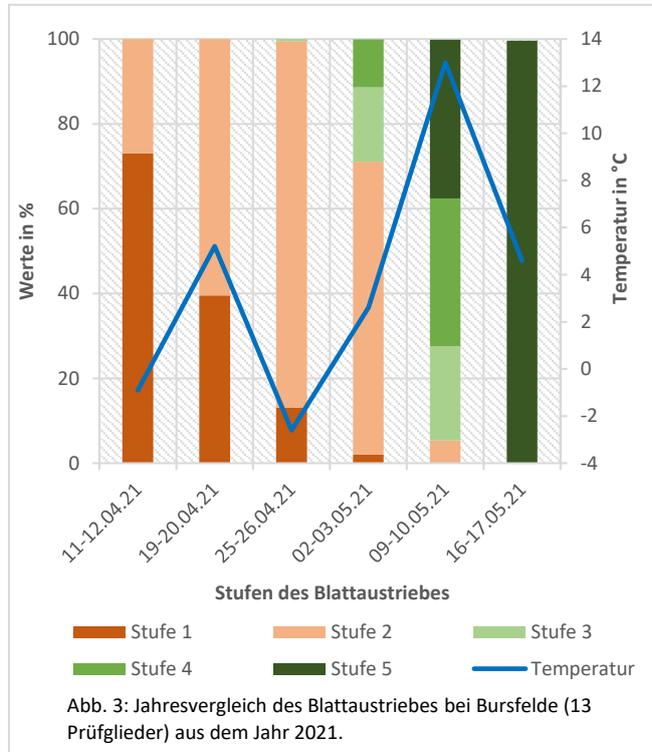
Die Grafik stellt die Entwicklung des BHDs (Balkendiagramm) und der Baumhöhe (Liniendiagramm) der verschiedenen Prüfglieder dar (Abb. 2). Für den BHD kann auf Daten einer Vollaufnahme aller Bäume des jeweiligen Prüfgliedes zurückgegriffen werden, wohingegen bei der Baumhöhe Teilkollektive pro Prüfglied gemessen wurden. Dies kann die vereinzelt Überschneidungen mancher Prüfglieder erklären, da 2008 und 2018 aufgrund von Durchforstungen jeweils unterschiedliche Teilkollektive gemessen wurden. Daher ist die Betrachtung des Höhenzuwachses nur bedingt nützlich, wohingegen sich signifikante Unterschiede beim Zuwachs des BHDs feststellen lassen. Auffällig sind hier die Prüfglieder 012 und 168. Beide zeigen den größten Zuwachs des BHDs aller Prüfglieder. Nennenswert ist ebenfalls das Prüfglied 123. Dieses zeigt im Durchschnitt nicht nur den kleinsten BHD 2008 sowie 2018, sondern auch einen unterdurchschnittlichen Zuwachs des BHDs.

Meilenstein 8: Sammlung von Pflanzenmaterial aus den Herkunftsversuchen

Im Juni 2021 konnten in den beiden Herkunftsversuchen bei Bursfelde (22.201.16) und bei Medingen (22.201.17) etwa jeweils 980 Bäume beerntet werden. Dabei fiel eine Gesamtmenge von über 4000 Blattproben je Herkunftsversuch an, da an jedem Baum etwa fünf Blätter beerntet wurden. Entstandener Abfall durch die Schussabgabe bei der Beerntung sowie das Markierungsband der Bäume wurden anschließend von der Firma ISOGEN entsorgt. Die so gewonnenen Blattproben ließen sich auf beide Projektpartner aufteilen, sodass die jeweils geplanten Untersuchungen wie vorgesehen durchgeführt werden konnten.

Meilenstein 9: Messung phänotypischer Merkmale im Herkunftsversuch

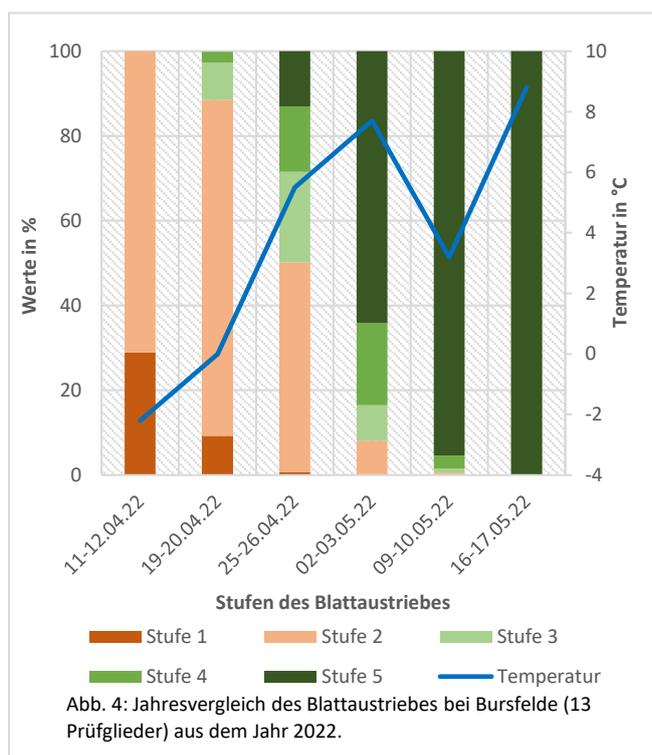
Im März 2021 und 2022 konnte mit der Bonitur des Austriebsverhaltens begonnen werden. Dabei ließen sich gleich zu Beginn Unterschiede im Austriebsverhalten zwischen den einzelnen



Aufnahmejahren feststellen. Maßgeblich für diese Unterschiede waren vermutlich die Witterungsverhältnisse im April 2021. Dieser Monat gilt mit 12 Frosttagen als kältester April seit mehr als 40 Jahren. Vor allem der Kälteeinbruch gegen Ende des Monats könnte zur Verzögerung des Blattaustriebes beigetragen haben (Abb. 3). Anfang Mai (02 - 03.05) befanden sich noch über 70 % der Bäume aller Prüfglieder im Winterstadium (Stufe 1 + 2), erste grüne Blattspitzen ließen sich jedoch auch schon feststellen. Innerhalb von nur wenigen Tagen änderte sich dieses Erscheinungsbild komplett. Am 09 - 10.05 befanden sich 95 % aller Bäume mitten im Blattaustrieb (Stufe 3 - 5). Jedoch zeigte sich hier, dass einige wenige Bäume (5 %) weiterhin im Winterstadium verweilten und mehr Zeit für den Blattaustrieb benötigen

würden als andere. Bereits eine Woche später konnte die Bonitur des Blattaustriebes als vollständig abgeschlossen beschrieben werden. Die Blätter aller Bäume erreichten ihre volle Größe und Form

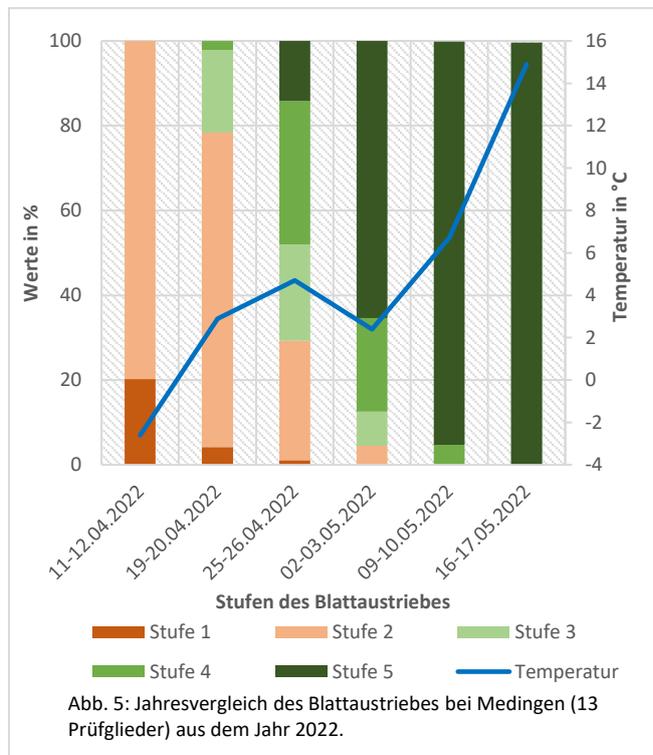
(Stufe 5). Für das Jahr 2022 können die Witterungsverhältnisse im April als annähernd normal beschrieben werden. Zwar lagen auch hier die Temperaturen gegen Mitte April unter 0 °C, jedoch stiegen sie im weiteren Verlauf des Monats auf über 5 °C an (Abb. 4). Bemerkbar macht sich dies an dem um mehr als eine Woche früheren Beginn des Blattaustriebes. So waren bereits am 19 - 20.04 erste grüne Blattspitzen an den Bäumen einiger Prüfglieder erkennbar. Innerhalb von einer Woche erhöhte sich die Anzahl der Bäume, die sich bereits mitten im Blattaustrieb befanden, um mehr als 40 %. Im Vergleich zum Jahr 2021 befanden sich im selben Zeitraum (25 - 26.04) noch 99 % der Bäume im Winterstadium. Als nahezu abgeschlossen (95 %) kann der Blattaustrieb am 9 - 10.05 beschrieben werden, eine



Woche früher als noch im Jahr 2021. Über beide Jahre hinweg konnte festgestellt werden, dass nach

dem Übergang der Knospen von Stufe 2 auf Stufe 3 die weiteren Phasen des Blattaustriebes deutlich schneller verliefen. So ließen sich mit dem durchgeführten Aufnahmerhythmus nicht immer alle Stufen des Blattaustriebes der verschiedenen Prüfglieder festhalten.

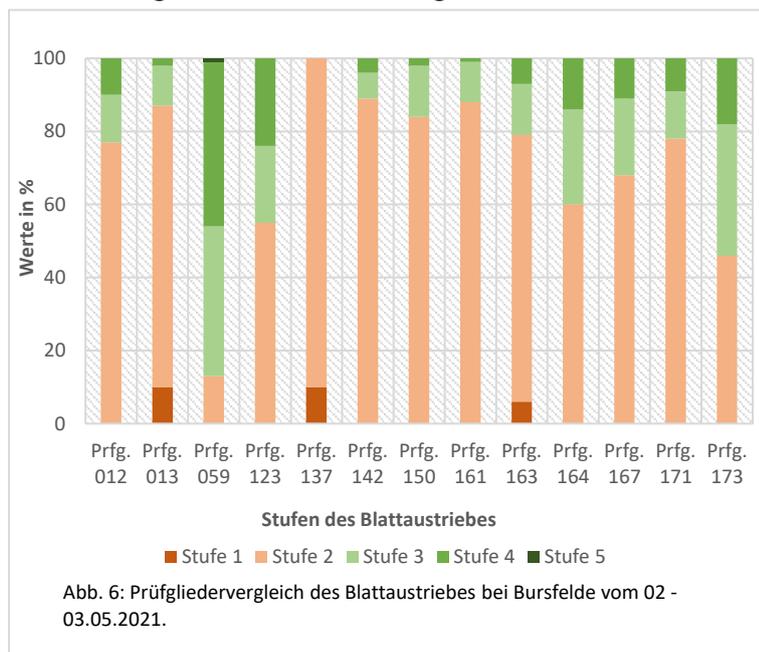
Ein Flächenvergleich zwischen der Versuchsfläche bei Bursfelde (Abb. 4) und Medingen bot sich für das



Jahr 2022 an. Dabei fielen zu Beginn große Ähnlichkeiten im Temperaturverlauf und Blattaustrieb zwischen den beiden Flächen auf (Abb. 5). Lediglich am 25 - 26.04 ließen sich Unterschiede des Blattaustriebes feststellen. So befanden sich 71 % der Bäume der Versuchsfläche bei Medingen mitten im Blattaustrieb, wohingegen es zur gleichen Zeit bei Bursfelde lediglich 50 % waren. An allen anderen Aufnahmetagen konnten die Unterschiede als marginal beschrieben werden. Festhalten ließ sich, dass im Jahr 2022 die Bäume der Versuchsfläche bei Medingen insgesamt einen leicht früheren Blattaustrieb aufwiesen als solche der Versuchsfläche bei Bursfelde. Jedoch waren die Abweichungen nicht so groß, dass hier von einem signifikant unterschiedlichen Verlauf gesprochen werden kann. Ein

Flächenvergleich für das Jahr 2021 konnte leider nicht durchgeführt werden, da in diesem Jahr die Bonitur des Blattaustriebes der Versuchsfläche bei Medingen nicht in der benötigten Häufigkeit erfolgen konnte.

Für eine tiefgreifendere Betrachtung der Daten wurden anschließende Vergleiche des Blattaustriebes

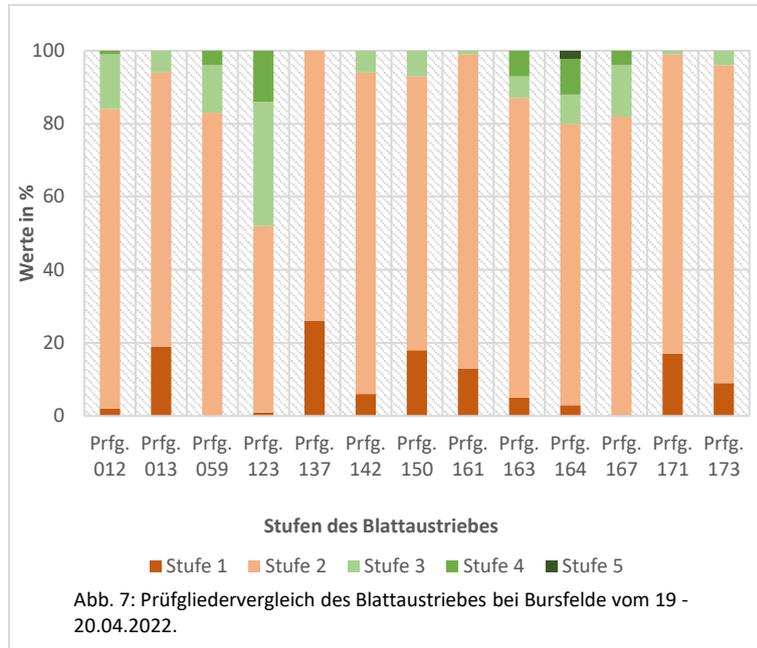


der jeweiligen Prüfglieder zu einem festgelegten Zeitpunkt analysiert. Im Jahr 2021 bot sich beispielsweise der 02 - 03.05 als ein Datum großer Differenzierung an (Abb. 6). Hier zeigte sich die breite Spannweite der verschiedenen Prüfglieder. Auf der einen Seite gab es Prüfglieder (059, 123 und 173), deren Blattaustrieb als weit fortgeschritten beschrieben werden kann. Andererseits befanden sich die Knospen aller Bäume des Prüfgliedes 137 weiterhin im Winterzustand (Stufe 1 + 2). Die verbliebenen Prüfglieder nahmen Positionen zwischen diesen

beiden beschriebenen Stadien ein. Es wurde auch deutlich, dass selbst innerhalb eines Prüfgliedes die

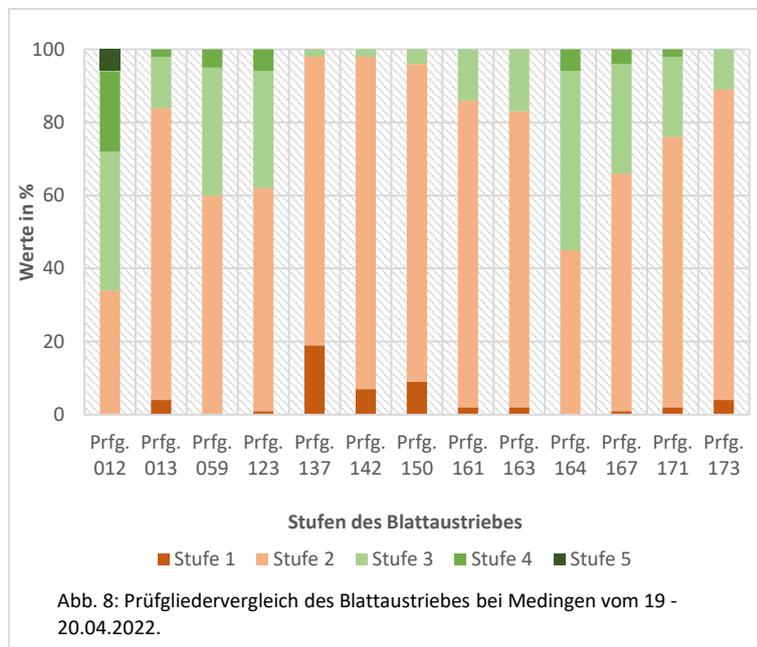
Bäume teilweise einen durchaus unterschiedlichen Blattaustrieb aufweisen konnten. So kamen im Prüfglied 013 und 163 jeweils Bäume vor, deren Knospen noch tief im Winterstadium waren oder sich schon mitten im Blattaustrieb befanden.

Im Jahr 2022 ließ sich bereits am 19 - 20.04 eine große Differenzierung der jeweiligen Prüfglieder feststellen (Abb. 7). Ähnlich wie im Vorjahr (Abb. 6) zeigte sich Prüfglied 137 weiterhin als das Prüfglied



mit dem spätesten Beginn des Blattaustriebes. Am weitesten fortgeschritten war der Blattaustrieb bei Prüfglied 123, welches ebenfalls im Vorjahr zu den frühesten Prüfgliedern zählte. Auch die deutliche Differenzierung innerhalb einiger Prüfglieder wurde wieder sichtbar. Prüfglied 164 wies bereits alle fünf verschiedenen Stufen des Blattaustriebes auf, obwohl sich weiterhin die Mehrheit (80 %) der Bäume noch im Winterstadium befanden. Für die Validierung der bereits festgestellten Unterschiede fiel die abschließende Betrachtung

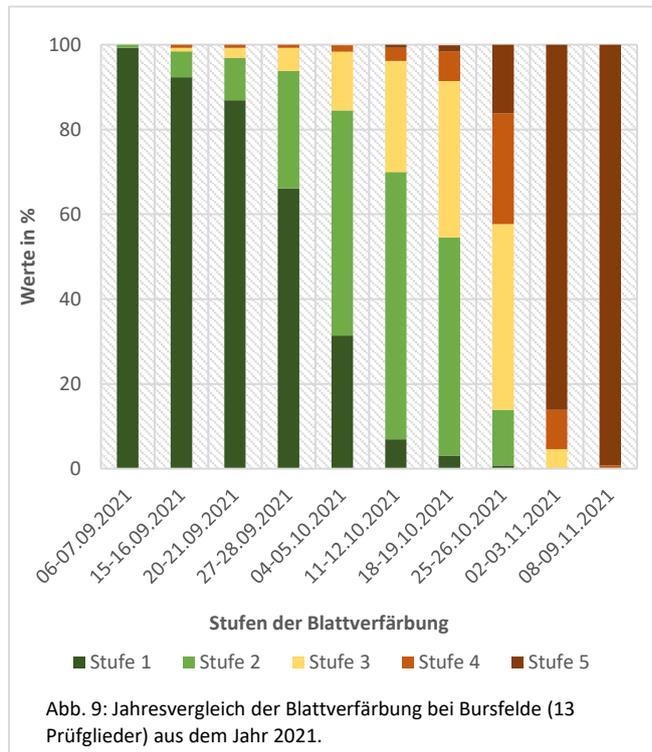
auf die Bonitur des Blattaustriebes aus dem Jahr 2022 der Versuchsfläche bei Medingen (Abb. 8). Dabei konnte erneut festgestellt werden, dass Prüfglied 137 zu den am spätesten austreibenden Prüfgliedern



zählte. Ebenfalls recht zögerlich zählten die Prüfglieder 142 und 150, welche auch in den Jahren 2021 (Abb. 6) und 2022 (Abb. 7) auf der Versuchsfläche bei Bursfelde nicht zu den Vorreitern des Blattaustriebes zählten. Zu Verschiebungen kam es beim Prüfglied 173. Dieses gehörte auf der Versuchsfläche bei Bursfelde im Jahr 2021 zu den Prüfgliedern, welche den frühesten Blattaustrieb aufwiesen. Jedoch zeigte dieses Prüfglied im Jahr 2022 auf beiden Versuchsflächen einen eher langsamen Beginn des

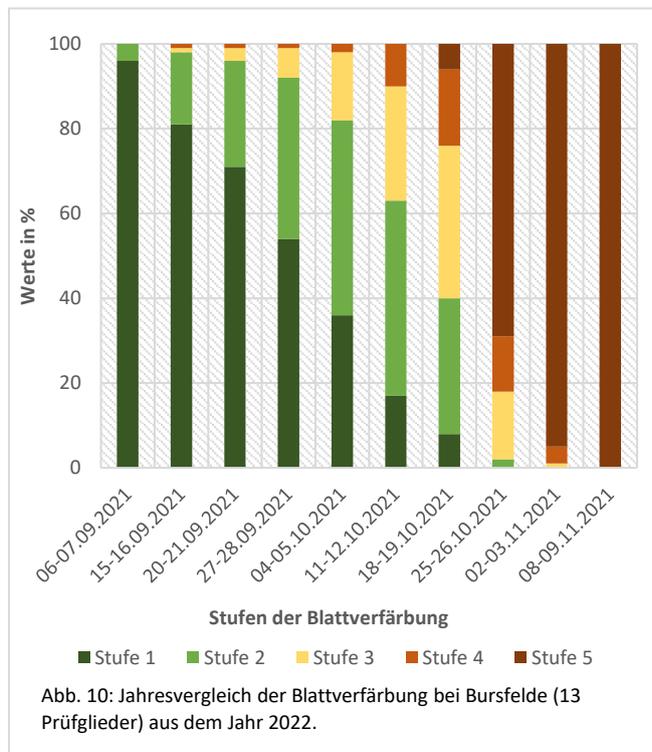
Blattaustriebes. Demgegenüber standen weiterhin die Prüfglieder 059 und 123. Diese gehörten zusammen mit den Prüfgliedern 012 und 164 zu den schnellsten Prüfgliedern bezogen auf den Blattaustrieb.

Im September 2021 und 2022 konnte mit der Bonitur der Blattverfärbung begonnen werden. Diese wurde im Jahr 2021 nur auf der Versuchsfläche bei Bursfelde durchgeführt, im Jahr 2022 konnten wieder beide Flächen bonitiert werden.



Dabei fielen im Jahr 2021 bereits zu Beginn vereinzelte Unterschiede zwischen den jeweiligen Prüfgliedern auf (Abb. 9). So gab es bereits am 15 - 16.09 einen Baum, dessen Laub zu 65 - 90 % (Stufe 4) Verfärbungen aufwies, wohingegen über 90 % der verbliebenen Bäume der Stufe 1 zugeordnet werden konnten. Demgegenüber stand am 25 - 26.10 ein Baum, der weiterhin in Stufe 1 verblieb, wohingegen alle übrigen Bäume einer anderen Stufe (Stufe 2 - 4) zugeordnet werden konnten. Feststellen ließ sich ebenfalls, dass die Blattverfärbung im Vergleich zum Blattaustrieb einen längeren Zeitraum in Anspruch nahm. So dauerte der Blattaustrieb, ab Beginn des ersten Überganges von Stufe 2 auf Stufe 3, etwa drei Wochen (Abb. 3 - 5). Der Vorgang der

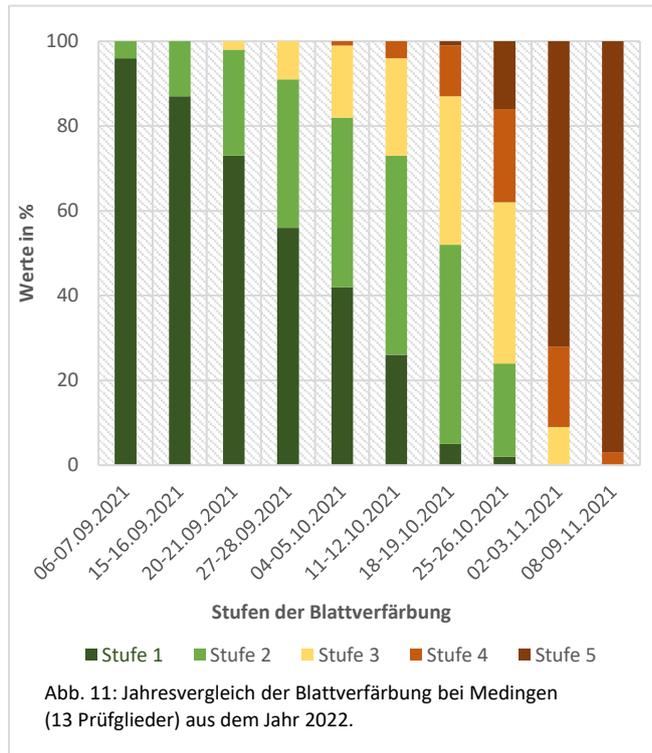
Blattverfärbung benötigte im Jahr 2021 etwa das Doppelte der Zeit und ließ sich erst nach sechs bis sieben Wochen als größtenteils beendet beschreiben (Abb. 9). Gleiches konnte auch im Jahr 2022 auf



der Versuchsfläche bei Bursfelde festgestellt werden (Abb. 10). Es kam lediglich zu einer leichten Verschiebung in der Zeitspanne der Blattverfärbung. Vor allem der 25 - 26.10 stach signifikant heraus. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich bereits etwa 70 % aller Bäume in der fünften Stufe des Blattaustriebes. Im gleichen Zeitraum des Jahres 2021 waren es lediglich 16 %. Somit konnte festgehalten werden, dass sich die Blattverfärbung im Jahr 2022 im Vergleich zum Jahr 2021 um etwa eine Woche früher als abgeschlossen bezeichnen ließ. Identisch zum Vorjahr war wieder ein Baum, der bereits am 15 - 16.10 die vierte Stufe der Blattverfärbung erreicht hatte. Ebenfalls konnte am 25 - 26.10 ein kleiner Teil der Bäume (2 %) weiterhin der zweiten Stufe zugeordnet werden, während sich 98 % der verbliebenen Bäume zwischen

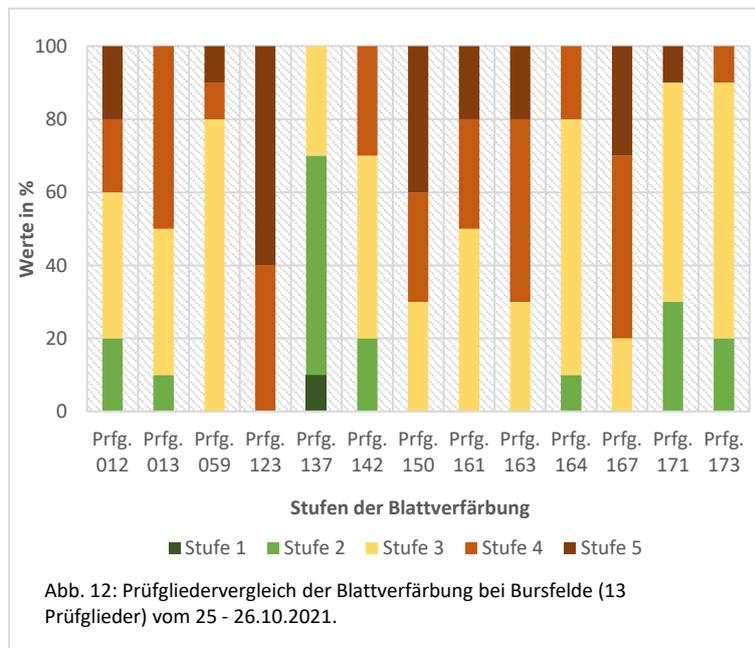
Stufe drei und fünf befanden.

Im Vergleich zu den Ergebnissen der Blattverfärbung der Versuchsfläche bei Bursfelde konnte nun auch auf die Daten der Versuchsfläche bei Medingen aus dem Jahr 2022 zurückgegriffen werden. Dabei ließ



sich auf den ersten Blick eine vergleichsweise identische Verteilung erkennen (Abb. 11). Jedoch zeigte sich am 25 - 26.10 keine so eindeutige Tendenz wie im Jahr 2022 auf der Versuchsfläche bei Bursfelde (Abb. 10). Lediglich 16 % der Bäume kamen in der fünften Stufe der Blattverfärbung vor. Zudem befanden sich in der ersten und zweiten Stufe der Blattverfärbung 22 % mehr Bäume, als zur selben Zeit auf der Versuchsfläche bei Bursfelde. Deutlich vergleichbarer waren die Ergebnisse daher mit den Daten der Bonitur der Versuchsfläche bei Bursfelde aus dem Jahr 2021 (Abb. 9). Dort unterschieden sich die Werte der jeweiligen Stufen an den einzelnen Tagen nur marginal. Somit lässt sich festhalten, dass die Blattverfärbung der Versuchsfläche bei Medingen im Jahr 2022, ähnlich der bei Bursfelde aus dem Jahr 2021,

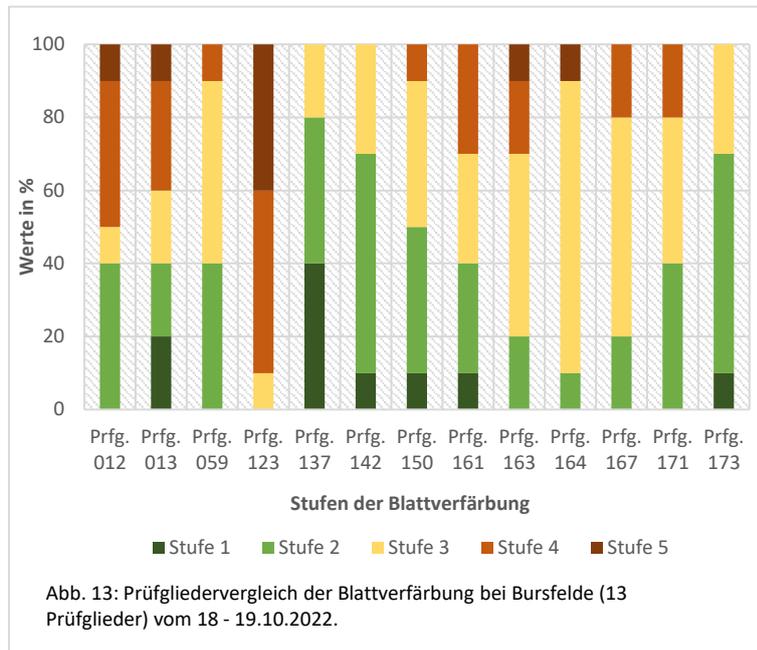
einen um etwa eine Woche späteren Verlauf zeigt, als die bei Bursfelde aus dem Jahr 2022. Unter Bezugnahme der Ergebnisse der Bonitur des Blattaustriebes (Abb. 5) kann für die Versuchsfläche bei Medingen im Vergleich zu Bursfelde in 2022 von einer potentiell verlängerten Vegetationsperiode gesprochen werden.



Für eine tiefgreifendere Betrachtung der Daten wurden anschließende Vergleiche der Blattverfärbung der jeweiligen Prüfglieder zu einem festgelegten Zeitpunkt analysiert. Im Jahr 2021 bot sich beispielsweise der 25 - 26.10 als ein Datum großer Differenzierung an (Abb. 12). Vor allem Prüfglied 123 und 137 stachen heraus. Beide stellten die Extremwerte der Bonitur dar. Prüfglied 123 zeigte als einziges Prüfglied mit 60 % in der fünften Stufe eine weitestgehend abgeschlossene Blattverfärbung. Demgegenüber stand Prüfglied 137.

Dieses hatte mit 70 % eine Blattverfärbung der ersten und zweiten Stufe. Die größte Variation innerhalb eines Prüfgliedes konnte bei Prüfglied 012 mit vier verschiedenen Stufen der Blattverfärbung festgestellt werden. So gab es einerseits Bäume, deren Laub vollständig verfärbt war (Stufe 5), andererseits waren manche Bäume mit 10 - 35 % Verfärbung (Stufe 2) noch relativ grün.

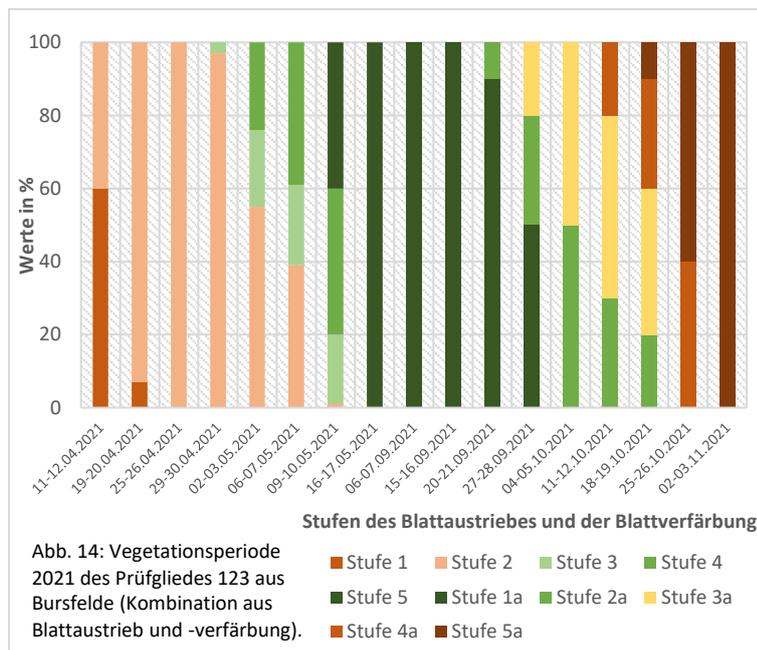
Im Jahr 2022 ließ sich bereits am 18 - 19.10 eine große Differenzierung der jeweiligen Prüfglieder feststellen (Abb. 13). Ähnlich wie im Vorjahr (Abb. 12) zeigte sich Prüfglied 123 weiterhin als das Prüfglied mit der am weitesten fortgeschrittenen Blattverfärbung.



Etwa 90 % der Bäume befanden sich in der vierten oder fünften Stufe der Blattverfärbung. Demgegenüber stand wieder Prüfglied 137, welches noch mit 80 % in der ersten und zweiten Stufe verweilte. Die größte Variation innerhalb eines Prüfgliedes konnte in Prüfglied 013, mit allen vorhandenen Stufen der Blattverfärbung festgestellt werden. So gab es einerseits Bäume (50 %), deren Laub annähernd verfärbt war (Stufe 4 + 5), andererseits waren 40 % der Bäume mit 0 - 35 % Verfärbung

(Stufe 1 + 2) noch relativ grün.

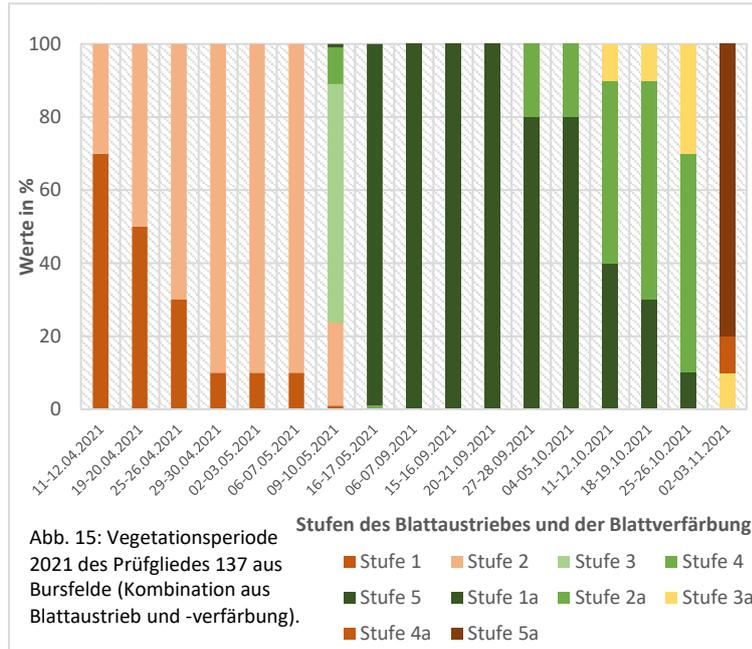
In Kombination des Blattaustriebes und der Blattverfärbung ließen sich für die verschiedenen Prüfglieder die Wachstumsperioden aus den Jahren 2021 und 2022 abbilden.



Damit konnte ein Zeitraum bestimmt werden, in dem die photosynthetische Aktivität potentiell stattgefunden hat. Da die Aufnahme des Blattaustriebes und der Blattverfärbung jeweils in einem ähnlichen, fünfstufigen Raster stattfand, kommt es im weiteren Verlauf zu Überschneidungen in der Darstellung der Grafiken. Der Einfachheit halber wurden die Stufen der Blattverfärbung mit einem hintenangestellten „a“ gekennzeichnet, sodass nun Stufe 1

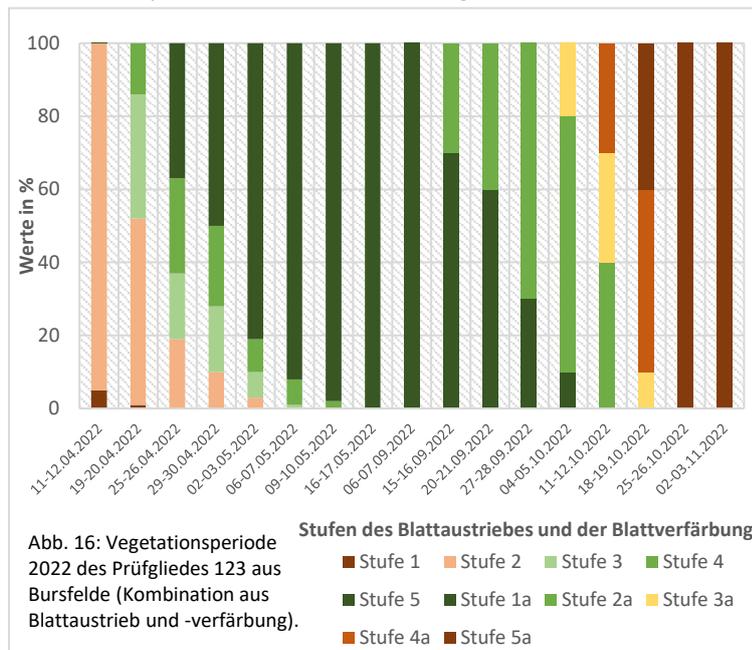
- 5 für den Blattaustrieb und Stufe 1a - 5a für die Blattverfärbung stehen. Die Bedeutungen der jeweiligen Stufen bleiben selbstverständlich erhalten. Die Zeitrechnung begann, sobald mindestens 50 % des Prüfgliedes den Stufen 4 und 5 des Blattaustriebes zuzuordnen waren und endete mit der Unterschreitung der 50 %-Marke der Stufen 1a und 2a der Blattverfärbung. Zunächst fiel die Betrachtung exemplarisch auf das Prüfglied 123 aus dem Jahr 2021 (Abb. 14). Je nach Betrachtungsweise entfielen so auf das Prüfglied 123 etwa 149 Tage Vegetationszeit im Jahr 2021.

Im Vergleich dazu wies Prüfglied 137 über beide Betrachtungsjahre und Versuchsflächen stets den



spätesten Blattaustrieb und die größte Verzögerung bei der Blattverfärbung auf (Abb. 15). Im Vergleich zum Prüfglied 123 zeigte sich ein um etwa eine Woche verzögerter Blattaustrieb. Demgegenüber stand eine um etwa zwei bis drei Wochen später eintretende Blattverfärbung. In Bezug auf die Vegetationszeit ergab sich somit für das Prüfglied 137 ein um etwa 14 Tage längerer Zeitraum, der potentiell für die photosynthetische Aktivität nutzbar war. Überprüfen ließen sich diese Ergebnisse mit den potentiellen

Wachstumsperioden der beiden Prüfglieder aus dem Jahr 2022. Zu Beginn wurde deutlich, dass der



Blattaustrieb des Prüfgliedes 123 um etwa vier Wochen früher stattfand als noch 2021 (Abb. 14 + 16). Eine ähnliche aber nicht so starke Verschiebung ließ sich bei der Blattverfärbung feststellen. So fand der Prozess der Blattverfärbung etwa eine Woche früher statt als noch 2021 (Abb. 14 + 16). Vergleicht man nun die Zeiträume 2021 und 2022, in denen die photosynthetisch nutzbare Aktivität stattgefunden hat, so stellt man fest, dass im Jahr 2022 die potentielle Vegetationszeit etwa bei 163 Tagen lag. Dies entspricht einer Erhöhung von 14

Tagen im Vergleich zum selben Zeitraum aus dem Jahr 2021.

Fazit

Bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten nicht nur zeitlich verschobene Wachstumsperioden der Jahre 2021 und 2022 festgestellt werden, auch eine breite Differenzierung zwischen und innerhalb der verschiedenen Herkünfte fiel auf. So erwies sich Prüfglied 123 über beide Betrachtungsjahre und Versuchsflächen stets als das Prüfglied mit dem frühesten Blattaustrieb und der am zeitigsten verlaufenden Blattverfärbung. Im Gegensatz dazu zeigte Prüfglied 137 über beide Betrachtungsjahre und Versuchsflächen stets den spätesten Blattaustrieb und die größte Verzögerung

bei der Blattverfärbung. Unter Bezugnahme der immer unvorhersehbareren Witterungsverhältnisse im Verlauf des Klimawandels zeigt Prüfglied 137 durch den späten Blattaustrieb eine verringerte Spätfrostgefährdung, welche jedoch bei Prüfglied 123 durch den frühen Blattaustrieb über beide Betrachtungsjahre als durchaus erhöht beschrieben werden kann. Generell konnte festgestellt werden, dass der Prozess des Blattaustriebes durchaus dynamisch verläuft. So lassen die ersten beiden Stufen des Blattaustriebes, in denen die Winterknospen allmählich anschwellen, aber noch geschlossen sind, vermuten, dass in dieser Zeit ein Reaktionspotential seitens des Baumes auf plötzliche Temperaturschwankungen vorhanden ist. Im Jahr 2021 wurde dies an den ungewöhnlich niedrigen Temperaturen im April deutlich. So erreichten die angeschwollenen Knospen vieler Bäume ihre maximale Ausprägung (Stufe 2) und verharrten aufgrund der niedrigen Temperaturen daraufhin einige Tage bis Wochen in diesem Stadium. Dieser Prozess wiederholte sich solange, bis fast 90 % aller Bäume im zweiten Stadium des Blattaustriebes angekommen waren und die Temperaturen allmählich milder wurden. Im Jahr 2022 konnte dieser Prozess nicht beobachtet werden, da die Temperaturen im April als nahezu normal beschrieben werden konnten. Bäume, die bereits die maximale Ausprägung der angeschwollenen Knospen erreicht hatten, begannen ohne größere Verzögerung daraufhin mit den weiteren Stufen des Blattaustriebes. Der „Point of no return“ des Blattaustriebes ist erreicht, sobald sich die Knospen öffnen und erstes schemenhaftes Grün zu sehen ist. Danach folgt die vollständige Blattentfaltung ohne Möglichkeiten der situativen Verzögerung von Seiten des Baumes. Zu sehen war dies im Jahr 2021 an einem Baum, der zwischen zwei Kälteperioden im April als einziger mit der allmählichen Blattentfaltung begann und diese bei den darauffolgenden, sinkenden Temperaturen nicht aufhalten konnte.

Verwendung können diese Ergebnisse auch bei der Forschung an alternativen Baumarten im Zuge des Klimawandels finden. Gerade in Bezug auf die Orient-Buche und ihre potentiell höhere Spätfrostgefährdung (aufgrund des früheren Blattaustriebes) wäre es wichtig, Herkünfte in den Ursprungsgebieten zu identifizieren, die einen verzögerten Blattaustrieb aufweisen.

Verwertung

Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die Ergebnisse des Projekts können dazu beitragen, geeignete Herkünfte zur Steigerung der Anpassungsfähigkeit und Ertragsleistung von Wäldern auszuwählen (siehe z.B. Fazit zum Austriebsverhalten im Teilvorhaben 2). Es wurden neue Kenntnisse über die genetische Grundlage von adaptiven und ertragssteigernden Merkmalen gewonnen.

Wissenschaftliche Erfolgsaussichten

Die Ergebnisse des Vorhabens wurden und werden auf verschiedenen Fachkonferenzen vorgestellt (siehe Punkt 3). Wissenschaftliche Publikationen sowie Publikationen in praxisnahen Zeitschriften befinden sich in Vorbereitung. Das Projekt ermöglichte zudem die Heranbildung von wissenschaftlichem Nachwuchs.

Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die Daten des Projektes werden derzeit in Datenbanken hinterlegt und können in weiteren Studien zur Anpassung von Waldbaumarten verwendet werden. Die identifizierten SNPs können in Anschlussprojekten verwendet werden. Beispielsweise wäre die Erstellung eines SNP-Chips sinnvoll, mit dem eine einfache Genotypisierung von Beständen im hohen Durchsatz ermöglicht wird. Dieser könnte neben Fragen zu Anpassungsmechanismen auch zum Monitoring von Beständen oder (Samen-) Plantagen verwendet werden (z.B. genetische Diversität, Inzucht, Differenzierung von Beständen).

Erkenntnisse von Dritten

Die wissenschaftliche Literatur zum Thema wurde laufend gesichtet. Es ließen sich allerdings keine Antworten auf die im vorliegenden Projekt adressierten Fragestellungen aus anderen Untersuchungen ableiten. Während der Projektlaufzeit wurde eine aktualisierte Version des Buchengenoms publiziert, das genutzt wurde um die identifizierten SNPs im Genom zu lokalisieren.

Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Publikationen sowie Publikationen in praxisnahen Zeitschriften befinden sich derzeit in Vorbereitung.

Beiträge zu wissenschaftlichen Konferenzen und Seminaren:

- Vortrag (Forstwissenschaftliche Tagung 2021)
- Vortrag (Hybridworkshop in der NW-FVA Göttingen „Aktuelle Forschungsprojekte zur Vitalität und Bewirtschaftung von Buchenwäldern im Klimawandel“, 2022)
- Vortrag (Forstbotanisches Seminar der Universität Göttingen, 2022)
- Vortrag (7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung „Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen, 2022)
- Vortrag (Internationales Symposium „Wald und nachhaltige Entwicklung“, Universität Brasov, 2022)
- Vortrag und Poster (Waldklimafond-Kongress, 2022)
- Vortrag (AForGeN-Meeting 2023)
- Vortrag (CiBreed Week, Universität Göttingen, 2023)
- Poster (Wissenschaftliche Buchentagung, Würzburg, 2023)

ANHANG

Teilvorhaben 1 (2218WK34A4)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das vorliegende Projekt befasst sich mit der Charakterisierung genetischer Variation für die Anpassung der Rotbuche an unterschiedliche Umweltbedingungen. Mit der Verwendung moderner Technologien der Genomsequenzierung wie GBS und der Nutzung von leistungsstarken statistischen Methoden wie der Assoziationsanalyse zwischen genetischer Variation einerseits und Umwelt- und phänotypischer Variation andererseits soll mit dem vorliegenden Projekt die Basis für unser Verständnis von Anpassungsprozessen bei der Rotbuche erweitert werden. Darüber hinaus sollen Grundlagen für die Identifikation von Genotypen und Herkünften gelegt werden, die am besten für bestimmte Umweltbedingungen geeignet sind und auch zukünftig eine hohe Angepasstheit in Verbindung mit einem hohen Ertragspotential gewährleisten.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

Das Teilprojekt hat die folgenden Arbeitspakete bearbeitet:

Arbeitspaket 1: Beerntung der Altbestände

Probengewinnung in Buchenaltbeständen in Zusammenarbeit mit dem Projekt BEECHLIMITS (Prof. Dr. Christoph Leuschner).

Arbeitspaket 2: Genomweite Untersuchung der Altbestände

Identifizierung genomweiter genetischer Variation mittels Genotyping-by-Sequencing und Assoziation der identifizierten Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) mit Umweltvariablen und baumphysiologischen Parametern.

Arbeitspaket 4: Genetische Analysen - Herkunftsversuch

DNA-Isolierung von 2000 Blattproben aus einem Herkunftsversuch (siehe Teilvorhaben 2), der auf zwei Standorten repliziert wurde. Genotypisierung der 2000 Individuen mit ausgewählten SNPs mittels MassArray-System und Assoziationsanalysen mit aufgenommenen Merkmalen aus Teilprojekt 2 und selbst ermittelten Blattmerkmalen.

Arbeitspaket 5: Abschließende Datenanalyse und Formulierung praktischer Empfehlungen

Zusammenfassung aller Daten und Interpretation hinsichtlich Anpassungsprozesse bei der Rotbuche und Auswahl geeigneter Herkünfte.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Es wurde ein Set von 13.493 hochqualitativen SNPs erstellt, welches die Basis für die durchgeführten Analysen war und in weiteren Studien verwendet werden kann. Es zeigte sich eine geringe Populationsstruktur der Buchenpopulationen. Die Assoziationsanalysen zwischen genetischer Variation und Umweltparametern sowie baumphysiologischen Variablen ergaben insgesamt 22 signifikante SNPs, die potentiell an der Anpassung der Rotbuche an die Umwelt beteiligt sind. Die Analyse der Stomatadichte in dem Herkunftsversuch ergab signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften. Der Vergleich der Stomatadichte der Herkünfte zwischen den beiden Standorten des Herkunftsversuchs (Medingen und Bursfelde) zeigte außerdem, dass sich die Stomatadichte auf beiden Standorten ähnelt. Das Ergebnis deutet auf eine relativ hohe genetische Kontrolle der Stomatadichte bei der Rotbuche hin, sie wird aber auch durch Umweltfaktoren beeinflusst. Die spezifische Blattfläche (aufgenommen in Teilvorhaben 2) unterschied sich deutlich zwischen den beiden Standorten. Die Herkünfte in Medingen wiesen dabei eine höhere spezifische Blattfläche auf als die Herkünfte in Bursfelde. Dies deutet auf einen, im Vergleich zur Stomatadichte, höheren Einfluss der Umweltbedingungen auf die Ausprägung des Merkmals hin. Sowohl die Stomatadichte als auch die spezifische Blattfläche sind Merkmale, die mit der Trockenstressanpassung von Bäumen in Verbindung stehen. Die Assoziationsanalyse in dem Herkunftsversuch ergab insgesamt 5 SNPs, die mit den Merkmalen BHD, spezifische Blattfläche und Stomatadichte assoziiert waren.

ANHANG

Teilvorhaben 2 (2218WK34B4)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Die Ziele des Teilvorhabens der NW-FVA (Arbeitspaket 3) bestehen darin, geeignete Herkunftsversuche zu identifizieren und durch eine Datenaufnahme Erkenntnisse im Bereich der Phänologie der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zu gewinnen. Dabei sollen die Herkunftsversuche aus Herkünften bestehen, die eine möglichst deutschlandweite Abdeckung aufweisen sowie auf verschiedenen Standorten repliziert worden sind. Dies kann eine Unterscheidung zwischen genetischen und Umwelteffekten auf die Merkmalsausprägung ermöglichen. Im weiteren Verlauf des Projektes soll eine Sammlung von Blattproben in den Herkunftsversuchen erfolgen. Die Blattproben werden in Kooperation mit dem Projektpartner (Universität Göttingen, Oliver Gailing) genetischen Analysen unterzogen, um anpassungsrelevante Merkmale identifizieren zu können.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

Das Arbeitspaket 3 des Teilvorhabens der NW-FVA gliedert sich in drei Meilensteine unterschiedlicher Laufzeiten auf. Mit dem Meilenstein 7, Identifizierung geeigneter Herkunftsversuche, konnte im Dezember 2020 begonnen werden. Ein geeigneter Herkunftsversuch charakterisiert sich durch eine möglichst deutschlandweite Abdeckung der verwendeten Herkünfte, welche in ausreichender Anzahl auf mindestens zwei Standorten repliziert wurden. Ausschlaggebend sind ebenfalls die Anzahl beprobbarer Individuen, der allgemeine Zustand der Fläche und bereits verfügbare langjährige Datenreihen. Mit dem Meilenstein 8, Sammlung von Pflanzenmaterial aus den Herkunftsversuchen, konnte im Mai 2021 begonnen werden. Dabei ging es zu Beginn um die Auswahl und Markierung geeigneter Bäume in den beiden Herkunftsversuchen. Es konnten 13 identische Prüfglieder ausgewiesen werden. Dies entspricht einer Probenentnahme von 77 Bäumen pro Prüfglied, um auf die festgelegte Summe von etwa 1000 beprobten Bäumen pro Herkunftsversuch zu kommen. Der Meilenstein 9, Messung phänotypischer Merkmale im Herkunftsversuch, gliedert sich in mehrere Teilbereiche unterschiedlicher Laufzeiten auf. Im März 2021 konnte mit der Messung des Brusthöhendurchmessers (BHD) und der Baumhöhe begonnen werden. Dafür wurden die Handlungsanweisungen der vorherigen Bonituren der Flächen aus dem Jahr 2018 verwendet. Der BHD ließ sich mittels Umfangbandmaß auf 1,3 m Höhe feststellen. Größtenteils konnten dieselben Messpunkte vergangener Bonituren genutzt werden, da diese mit einem Farbpunkt markiert waren. Parallel dazu wurde im März 2021 und 2022 mit der Aufnahme des Austriebsverhaltens begonnen. Nach der Ernte des gewonnenen Pflanzenmaterials konnte im Juni 2021 mit der Berechnung der spezifischen Blattfläche begonnen werden. Es folgten im September 2021 und 2022 die Blattverfärbungsaufnahmen während des Vegetationsabschlusses.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Auswahl und Markierung geeigneter Bäume zur Sammlung von Blattproben.
- Erfolgreiche Beerntung des Pflanzenmaterials in den Herkunftsversuchen.
- Bestimmung der spezifischen Blattfläche der gewonnenen Blattproben.
- Aufnahme des Austriebsverhaltens und des Verlaufes der Blattfärbung an definierten Bäumen.
- Messung des BHD und der Baumhöhe in den Herkunftsversuchen.