

Naturschutzgenetik und Ökologie von Wildpflanzen

Populationsgenetik von Regiosaatgut

Walter Durka

SICONA-Tagung Naturnahe Begrünungen zur Förderung der Biodiversität im Siedlungsbereich und der freien Landschaft
20. April 2023, Olm, Luxemburg

Gliederung

- Naturschutz-Genetik
- RegioDiv: Genetische Differenzierung von Wiesenpflanzen in Deutschland

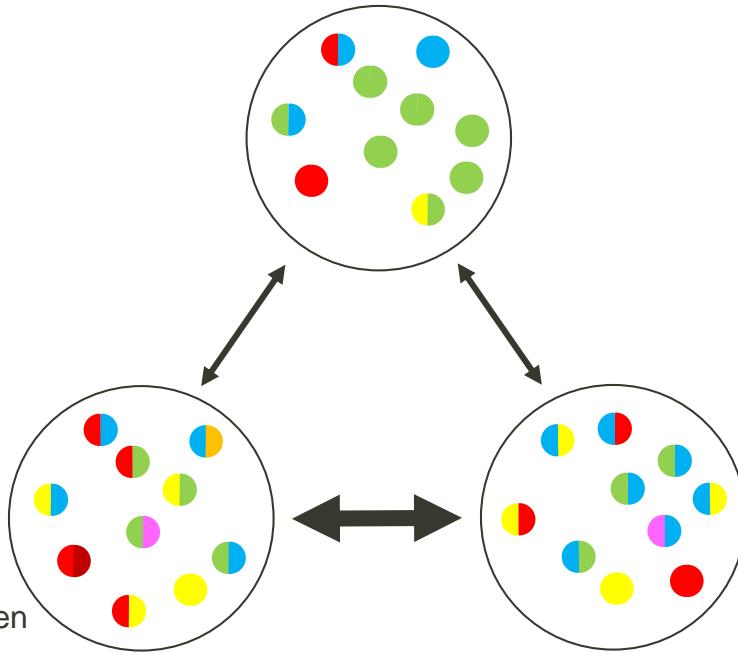
RegioDiv ^{deLUX}

- Regiosaatgut: Evolution während der Saatgutproduktion ?

Naturschutz-Genetik

Genetische Identität

- Art-Identität
- Hybridisierung
- Kryptische Arten
- Cytotypen (Ploidie-Stufen)
- Innerartliche Gruppen
- Populations-Differenzierung (F_{ST})



Relevante Prozesse

- Genfluss / Drift
- Samen-/Pollenaustausch
- Populationsgröße
- Metapopulation
- Historische Wanderungsbewegungen
- Phylogeographie

Genetische Vielfalt

- Klonale Vielfalt
- Allelische Vielfalt
- Beobachtete Heterozygotie (H_o)
- Erwartete Heterozygotie (H_e)
- Inzucht-Koeffizient (F_{IS})

Naturschutz-Genetik

Genetische Identität

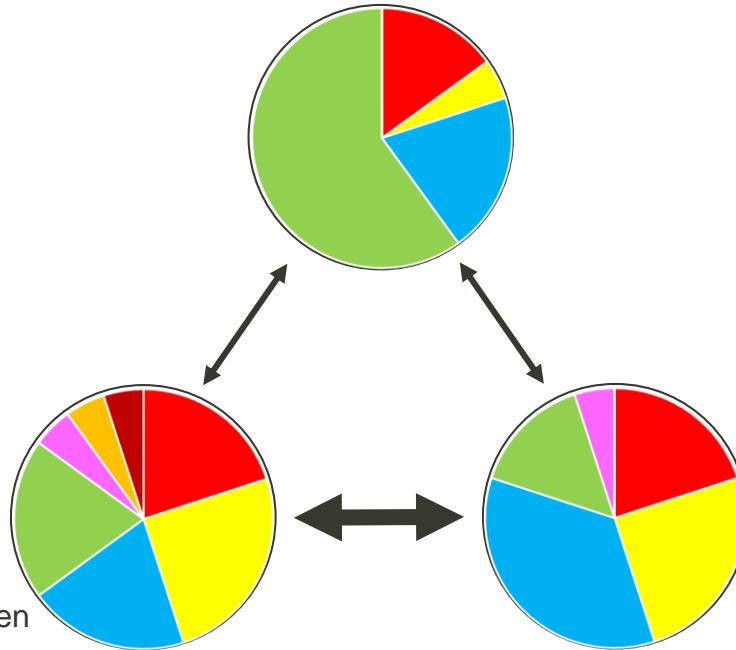
- Art-Identität
- Hybridisierung
- Kryptische Arten
- Cytotypen (Ploidie-Stufen)
- Innerartliche Gruppen
- Populations-Differenzierung (F_{ST})

Genetische Vielfalt

- Klonale Vielfalt
- Allelische Vielfalt
- Beobachtete Heterozygotie (H_o)
- Erwartete Heterozygotie (H_e)
- Inzucht-Koeffizient (F_{IS})

Relevante Prozesse

- Genfluss / Drift
- Samen-/Pollenaustausch
- Populationsgröße
- Metapopulation
- Historische Wanderungsbewegungen
- Phylogeographie



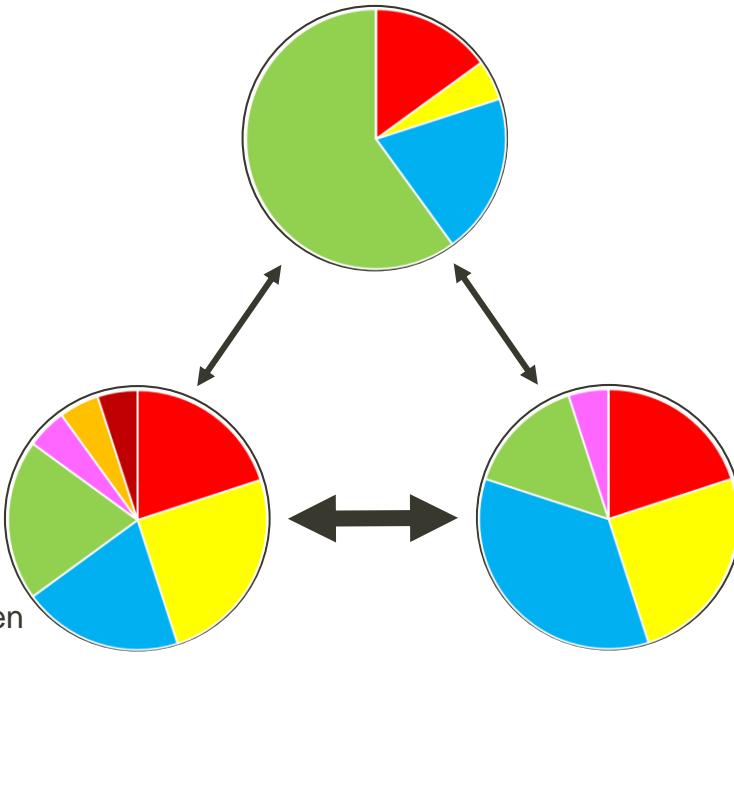
Naturschutz-Genetik

Genetische Identität

- Art-Identität
- Hybridisierung
- Kryptische Arten
- Cytotypen (Ploidie-Stufen)
- Innerartliche Gruppen
- Populations-Differenzierung (F_{ST})

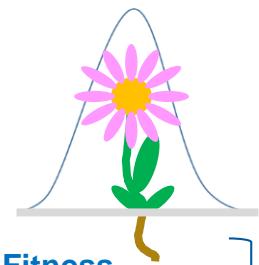
Relevante Prozesse

- Genfluss / Drift
- Samen-/Pollenaustausch
- Populationsgröße
- Metapopulation
- Historische Wanderungsbewegungen
- Phylogeographie



Genetische Vielfalt

- Klonale Vielfalt
- Allelische Vielfalt
- Beobachtete Heterozygotie (H_o)
- Erwartete Heterozygotie (H_e)
- Inzucht-Koeffizient (F_{IS})

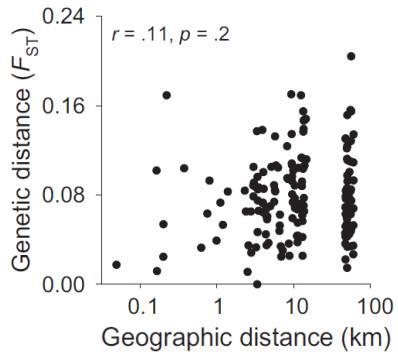


Anpassung und Fitness

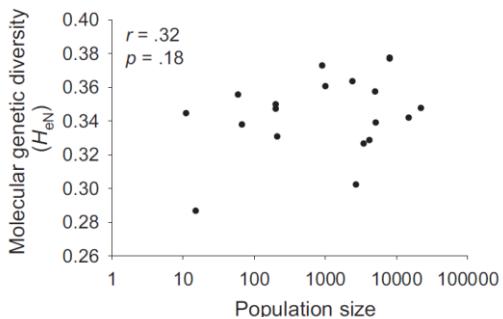
- Selektion
- Lokale/Regionale Anpassung
- Erblichkeit (H)
- Evolutionspotential



Populations-Differenzierung (F_{ST})

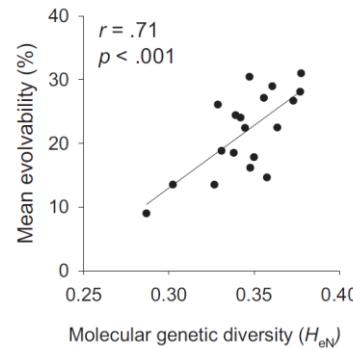


Genetische Vielfalt



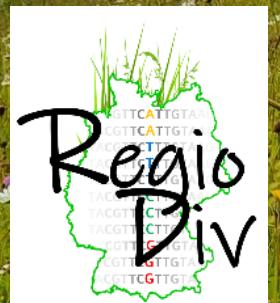
Anpassung und Fitness

Anpassungsfähigkeit



Relevante Prozesse

- Drift > Genfluß
- Populationsgröße: kein starker Effekt
- Anpassungsfähigkeit vorhanden
- Anpassungsfähigkeit $\sim H_e$



Adaptation – Restoration – Seed transfer zones

Ecology
Evolution

Environmental variation

+

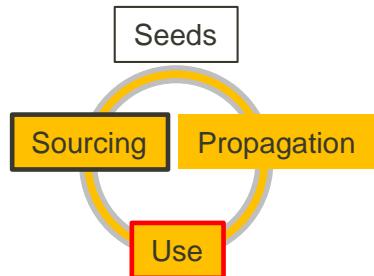
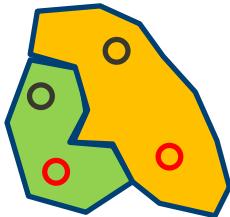
Genetic variation



Adaptation

Conservation
Management

Seed transfer zones are a tool to produce regionally adapted seed material



Overall
goal



Conserve ... genetic variation

Restore ... local context and larger landscape



UNITED NATIONS DECADE ON
ECOSYSTEM RESTORATION
2021-2030



© 2022 ATL Begrünungs GmbH



„Regiosaatgut“ - Fitnessvorteile durch regionale Anpassung

Tab. 1: Genetische Differenzierung und regionale Anpassung von sieben Graslandarten für (A) molekulare Marker, (B) Fitness-Merkmale und (C) Blüh-Phänologie.

								ARR	CEN	DAU	GAL	HYP	KNA	LYC
(A) Molekulare Marker														
Herkünfte sind differenziert	**	***	**	***	***	***	***							***
Differenzierung steigt mit geographischer Distanz	*				***	**						** (Polyploide)		
Differenzierung steigt mit klimatischer Distanz	*				*	*								
(B) Fitness-Merkmale														
Biomasse														
Herkünfte unterscheiden sich		***	***	**	***	***	***							***
Regionale Pflanzen sind produktiver	-0,4 %	+14 %	-1 %	+39 % ***	+12 % (*)	-3 %	+16 % **							
Veränderung je 100 km Distanz	+2 %	-5 % (*)	-4 %	-9 % **	-3 % *	-0,6 %	+2 %							
Veränderung je 1 °C klimatischer Distanz	-0,05 %	-17 % *	+9 %	-8 % **	+3 %	+35 %	-3 %							
Anzahl Blütenstände														
Herkünfte unterscheiden sich	**	***	***	***	***	***	***							***
Regionale Pflanzen sind produktiver	+5 %	+34 % *	+1 %	-19 %	+18 %	-3 %	+37 % *							
Veränderung je 100 km Distanz	0 %	-10 % **	-8 % *	+9 %	-2 %	+6 %	+4 %							
Veränderung je 1 °C klimatischer Distanz	-8 % (*)	-13 % *	+8 %	+26 %	-1 %	+74 %	-20 % **							
(C) Blüh-Phänologie														
Blüh-Wahrscheinlichkeit														
Herkünfte unterscheiden sich		***	**	***			***							***
Veränderung je 100 km Distanz	+3 %	+3 % *	+3 % *	+3 %	+3 % (*)	-16 % **	+2 %							
Veränderung je 1 °C klimatischer Distanz	-1 % *	+3 %	+3 %	+4 %	0 %	+9 %	-4 %							
Blüh-Zeitpunkt														
Herkünfte unterscheiden sich	***	***	***	***	***	(*)	***							
Verschiebung (Tage) je 100 km Distanz	+0,1	+0,3	+0,8	+0,5	-0,1	-0,4	+0,0							
Verschiebung (Tage) je 1 °C klimatischer Distanz	+1,1 (*)	-2,4	+1,3	-5,5 **	+1,9 *	+0,5	+1,7 *							

Die Farben der Zellen zeigen an: signifikante Effekte (blau), signifikante Effekte in der erwarteten Richtung (grün), nicht signifikante Effekte in der erwarteten Richtung (hellgrün) und nicht signifikante Effekte entgegen der erwarteten Richtung (hellrot).

Signifikanzniveaus: *** < 0,001, ** < 0,01, * < 0,05, (*) < 0,1

Die Zahlen in den Zellen zeigen die Effektstärke.

ARR = *Arrhenatherum elatius*, CEN = *Centaurea jacea*, DAU = *Daucus carota*, GAL = *Galium album*, HYP = *Hypochaeris radicata*, KNA = *Knautia arvensis*, LYC = *Lychnis flos-cuculi*

„Regiosaatgut“ - Seed transfer zone system in Germany



Generalised system of seed transfer zones for **all grassland** plants (Prasse et al. 2010)

22 regions

... based on ecoregions („Naturräume“, Meynen & Schmithüsen 1953-1962)

... considering climate, soils, geology, landscape structure

Legally binding

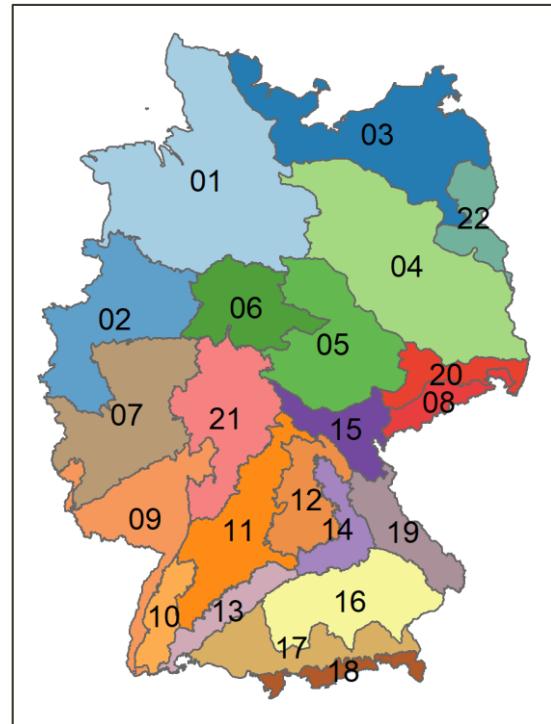
... for restoration: BNatSchG §40

... for production of preservation mixtures: ErMiV
(EU Directive 2010/60)

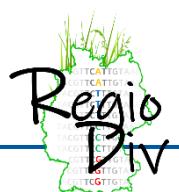
Economically relevant

- Seed producers
- Certification systems: RegioZert®, VWW-Regiosaaten®
- Market volume: 200 t, € 12 Mio (Mainz & Wieden 2018)

Current seed transfer zones



RegioDiv – Objectives



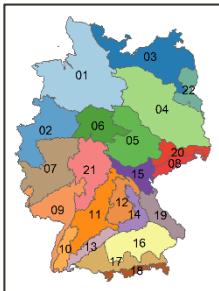
Seed zones are questioned

- Lack of knowledge of genetic or phenotypic adaptation
- Systems applies uniformly to all grassland species
- „zones are **too small ... economically**“ (Mainz & Wieden 2018)

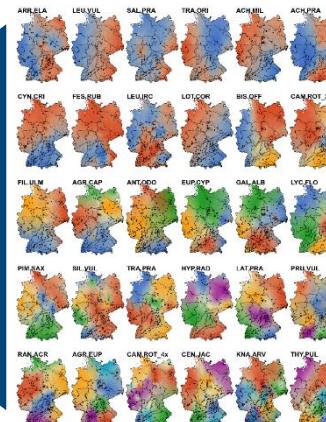
RegioDiv objectives

- Empirical knowledge of genetic variation
- Species groups ? E.g. grasses vs. herbs
- Suggest revised seed zones

Current seed transfer zones

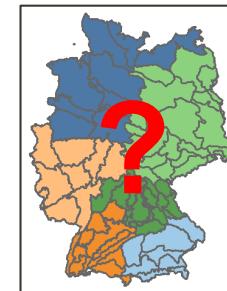


Multi species
analysis



Multi species
synthesis

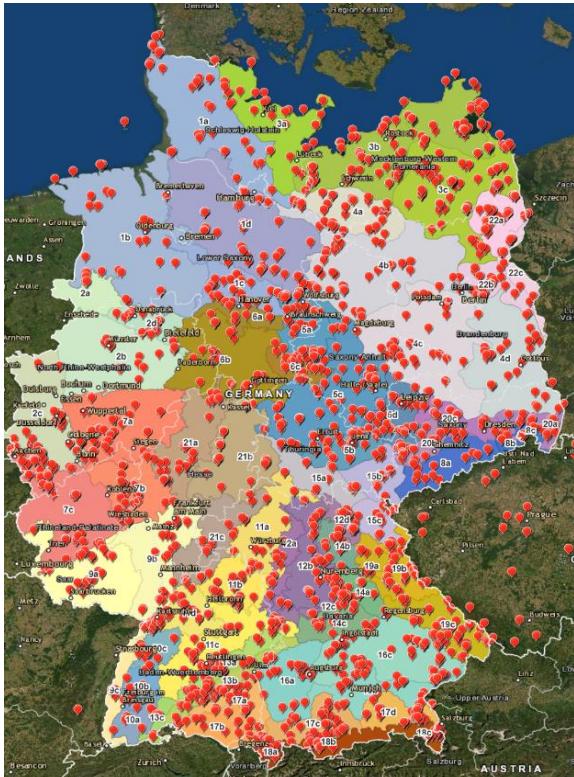
Future seed transfer zones



RegioDiv – Species selection, sampling, genotyping



Species	sites
<i>Achillea millefolium</i>	699
<i>Agrimonia eupatoria</i>	410
<i>Agrostis capillaris</i>	508
<i>Anthoxanthum odoratum</i> [#]	418
<i>Arrhenatherum elatius</i>	605
<i>Bistorta officinalis</i>	222
<i>Bromus erectus</i>	249
<i>Campanula rotundifolia</i> ^P	422
<i>Centaurea jacea</i>	550
<i>Corynephorus canescens</i>	158
<i>Cynosurus cristatus</i>	290
<i>Euphorbia cyparissias</i>	385
<i>Festuca rubra</i>	532
<i>Filipendula ulmaria</i>	442
<i>Galium album</i>	642
<i>Hypochaeris radicata</i>	422
<i>Knautia arvensis</i> ^{P#}	579
<i>Lathyrus pratensis</i>	484
<i>Leucanthemum vulgare</i> [*]	498
<i>Lotus corniculatus</i>	555
<i>Lysimachia flos-cuculi</i>	314
<i>Pimpinella saxifraga</i> ^P	473
<i>Prunella vulgaris</i>	440
<i>Ranunculus acris</i>	528
<i>Salvia pratensis</i>	281
<i>Silene vulgaris</i>	314
<i>Thymus pulegioides</i>	404
<i>Tragopogon pratensis</i> s.l.*	409



Sampling

160 skilled volunteers
22 seed zones = 72 subregions
28 plant taxa
5 samples per subregion in „natural grassland“

Samples

19,000 samples
>2,500 sites
+ reference samples

SNP genotyping

1 sample/site/species*
~12,000 samples
ddRAD protocol
~6000 SNP markers/species

RegioDiv – Why study SNP markers ?

SNPs = Single nucleotide polymorphisms

- Random subset of genome wide genetic variation
 - encompassing **neutral** variation
 - encompassing **adaptive** variation

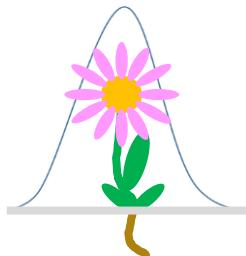
Basic assumption

Genetic population differentiation ...

- ... maintained by lack of gene flow ...
- ... allows for adaptive divergence

SNP variation ~ neutral variation ~ adaptive variation

.. CGTAATGCC**C**GTACTGAT..
.. CGTAATGCC**G**GTACTGAT..



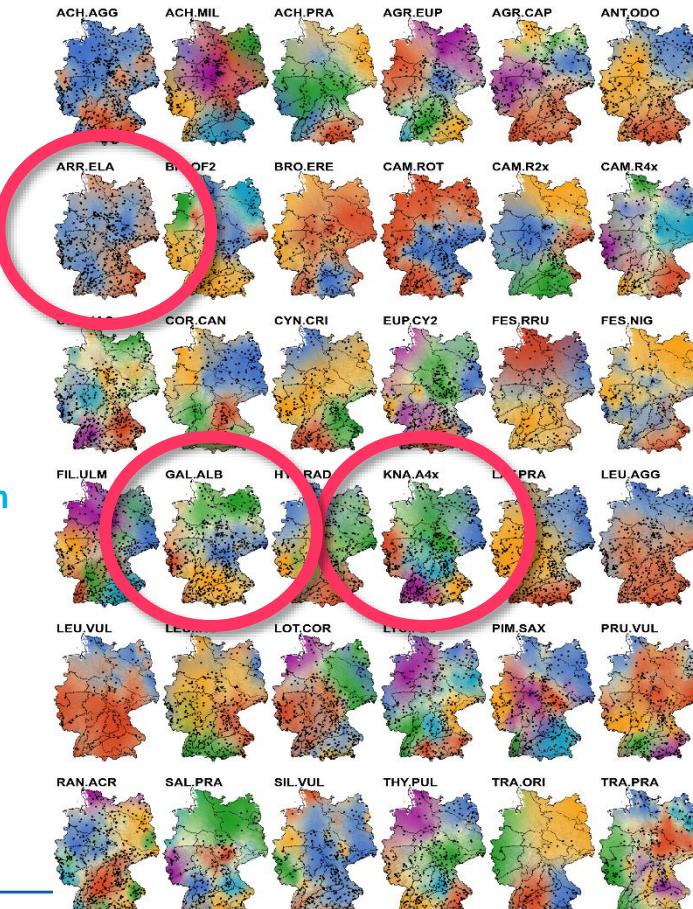
Single nucleotide polymorphism

Ind 1	.. CGTAATGCC C GTACTGAT ..
	.. CGTAATGCC G GTACTGAT ..
Ind 2	.. CGTAATGCC C GTACTGAT ..
	.. CGTAATGCC C GTACTGAT ..
Ind 3	.. CGTAATGCC G GTACTGAT ..
	.. CGTAATGCC G GTACTGAT ..

RegioDiv – Species level results



Arrhenatherum elatius



Galium album

Knautia arvensis 4x



RegioDiv – Species level results – pronounced structure



Knautia arvensis 4x

Differentiation among zones:

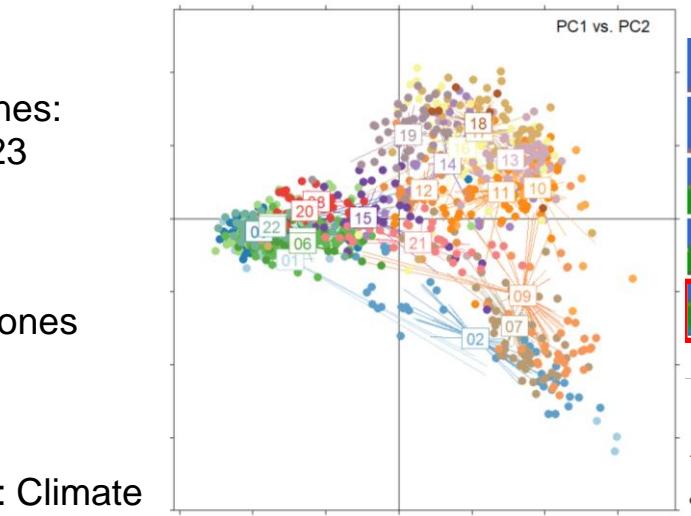
AMOVA: 2.3%, $F_{ST} = 0.023$

Intraspecific groups: K=6

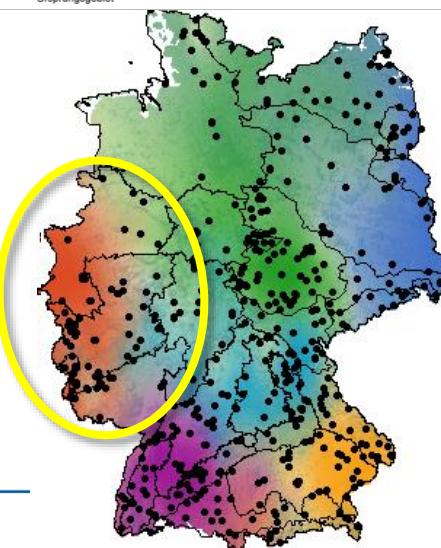
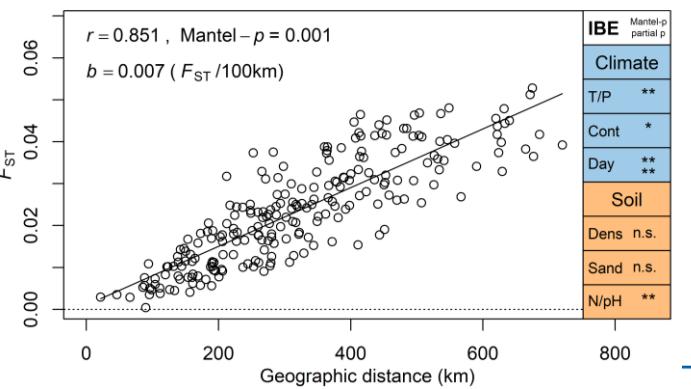
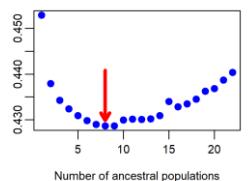
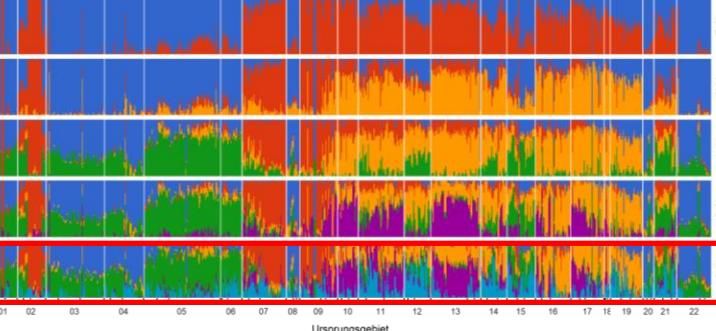
„Pure“ zones + „Mixed“ zones
+ dissected zones

Isolation-by-distance !

Isolation-by-environment: Climate



Population structure analysis: Admixture



RegioDiv – Species level results – weak structure



Galium album

Differentiation among seed zones:

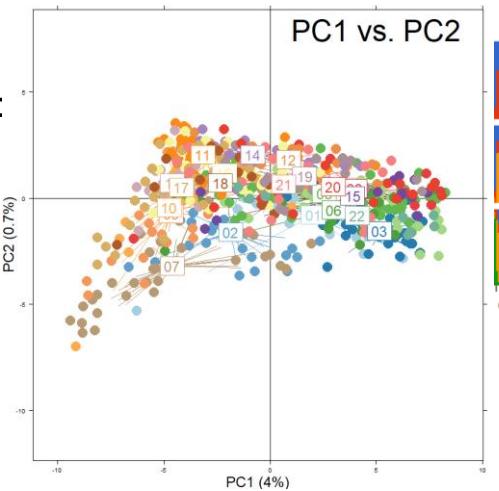
AMOVA: 1.79%, $F_{ST} = 0.018$

Intraspecific groups: K=4

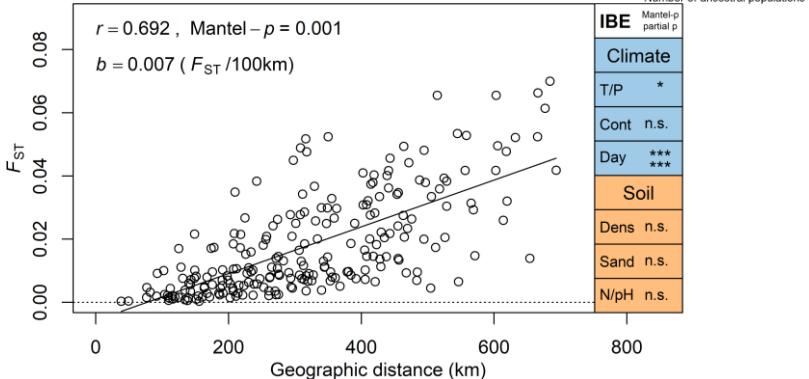
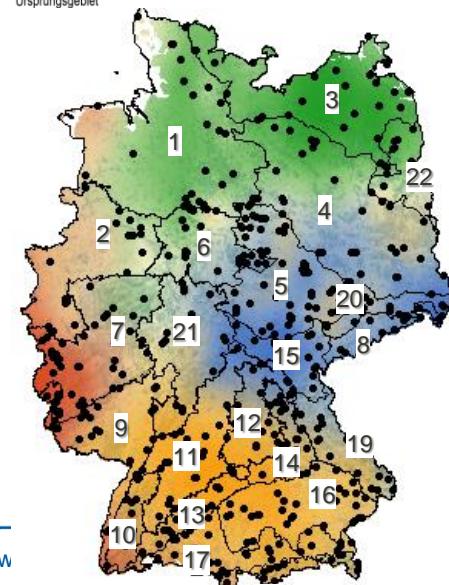
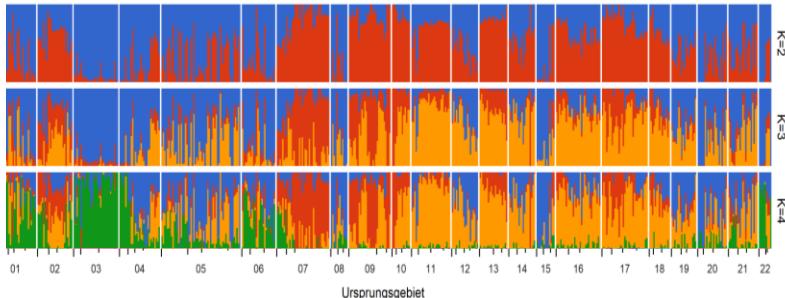
„Pure“ zones + „Mixed“ zones

Isolation-by-distance !

Isolation-by-environment: climate



Population structure analysis: Admixture



RegioDiv – Species level results – no structure



Arrhenatherum elatius

Differentiation among seed zones:

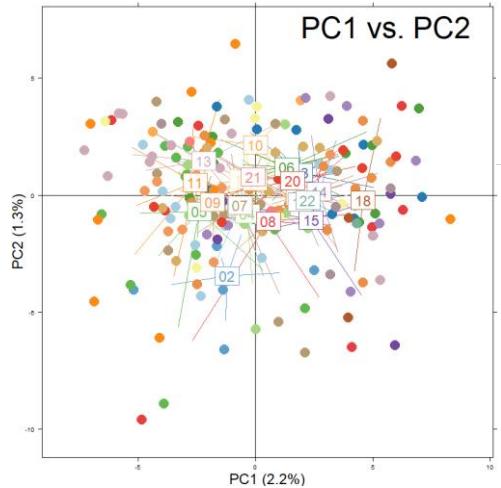
AMOVA: 0.23%, $F_{ST} = 0.0023$

Intraspecific groups: K=2

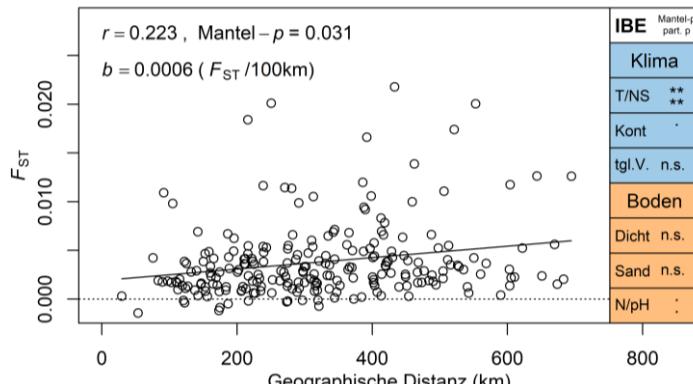
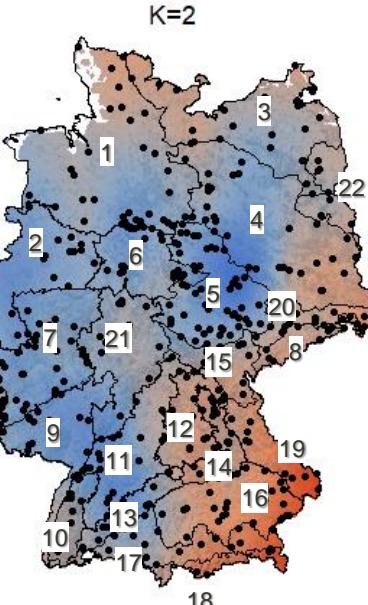
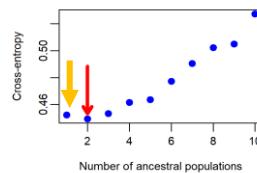
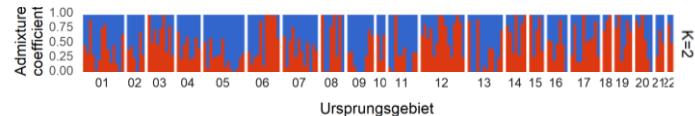
Many „Mixed“ zones

Weak isolation-by-distance

Isolation-by-environment: T/prec.



Population structure analysis: Admixture



RegioDiv^{deLUX} Nutzung von Regiosaatgut aus Deutschland ?

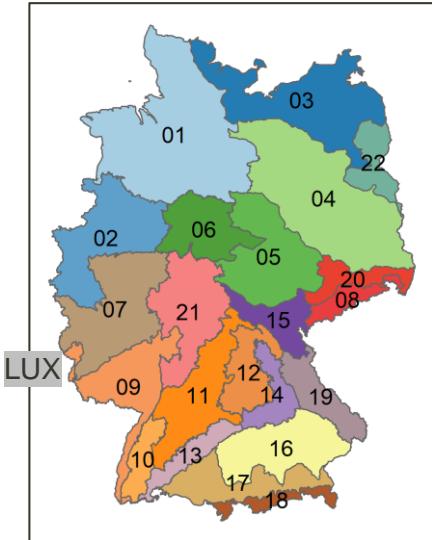
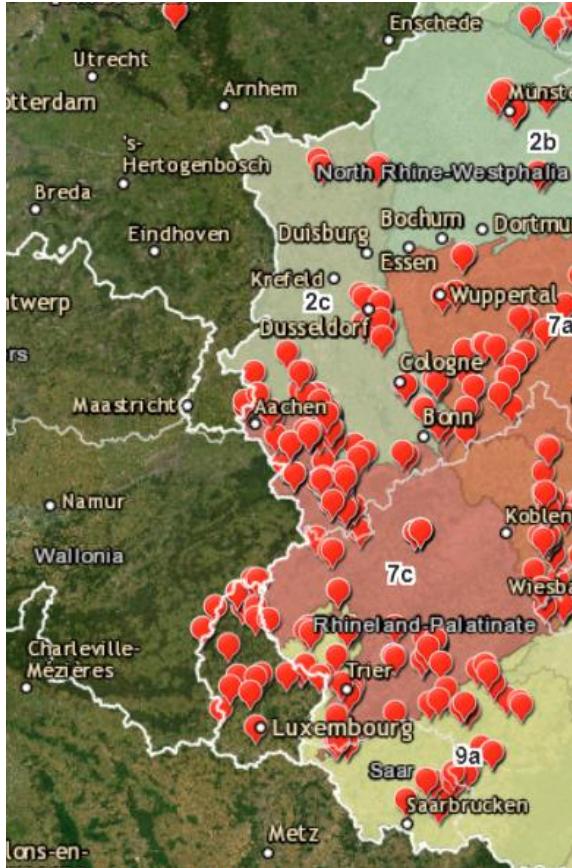
Welche Ursprungsregionen sind geeignet ?

SNP-Analyse von 12 Arten

Je 9 Proben aus...

... Lux-Gutland

... Lux-Ösling

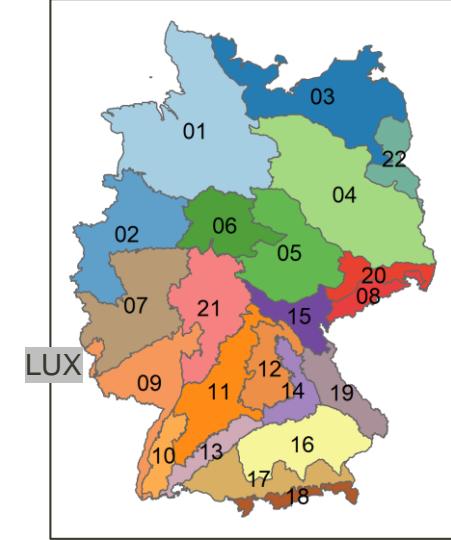
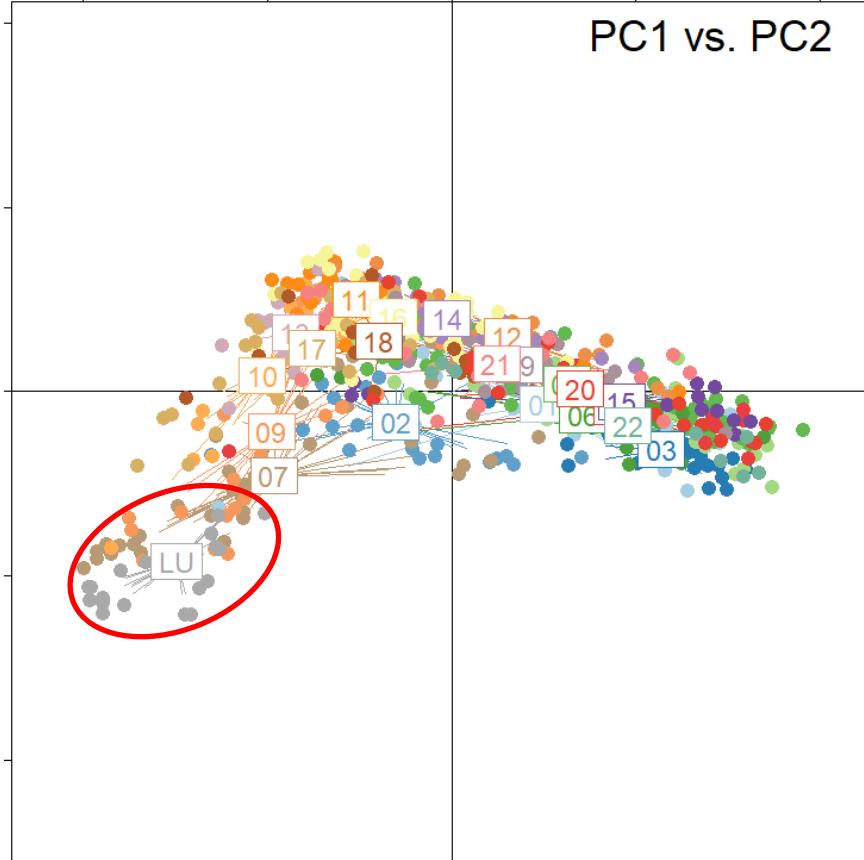




12 Arten
Je 9 Proben aus...
... Lux-Gutland
... Lux-Ösling

Genetisch ähnlich zu...

UG 07 West
UG 09 West

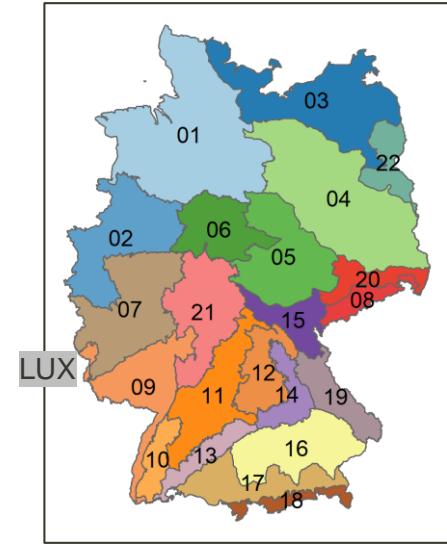
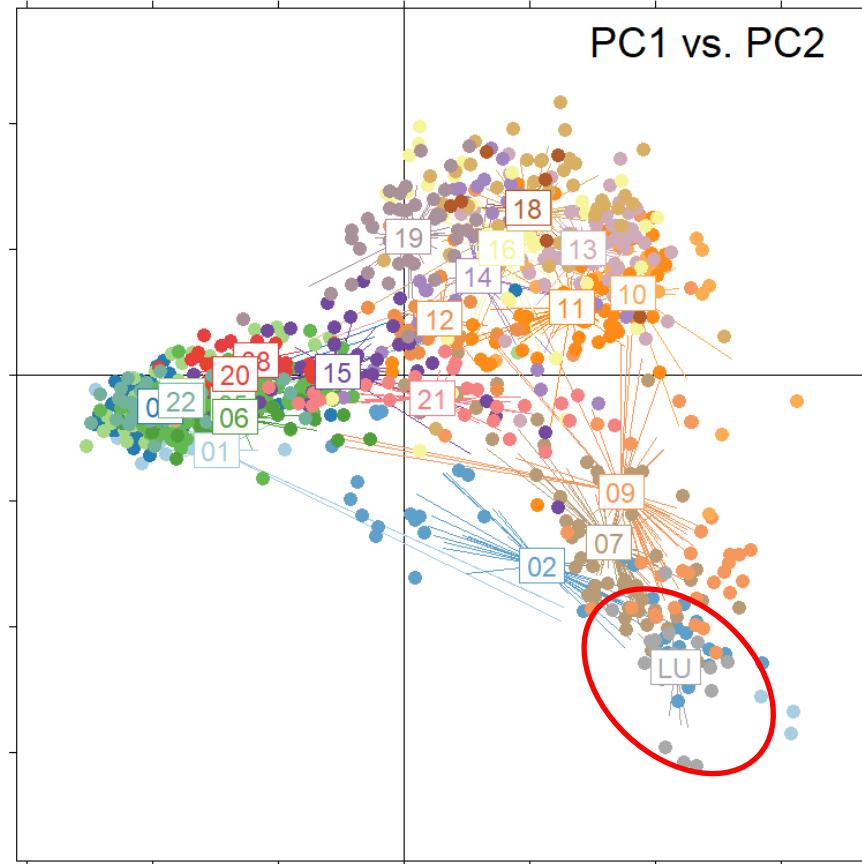




12 Arten
Je 9 Proben aus...
... Lux-Gutland
... Lux-Ösling

Genetisch ähnlich zu...

UG 07 West
UG 09 West
UG 02 West



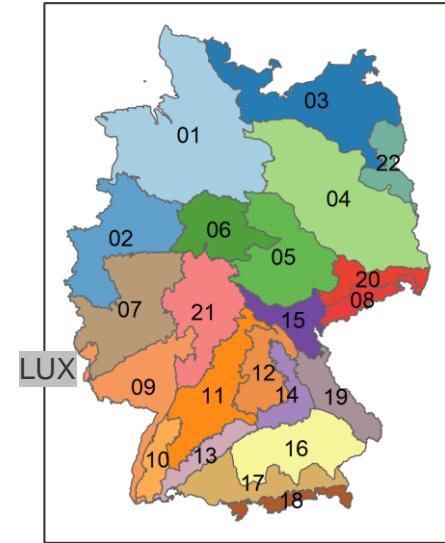
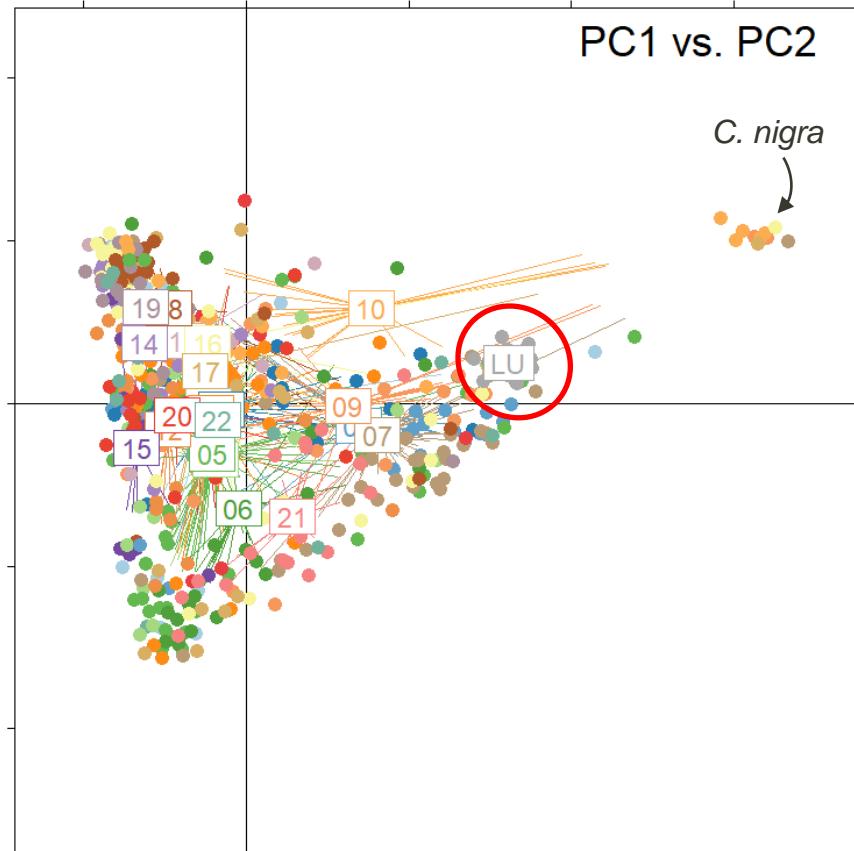


12 Arten
Je 9 Proben aus...
... Lux-Gutland
... Lux-Ösling

Centaurea jacea:

Hybrid-Schwarm
C. nigra
– *C. x pratensis* –
C. jacea

Genetisch ähnlich zu...
~UG 07 West
~UG 09 West
~UG 02 West



RegioDiv^{deLUX} Nutzung von Regiosaatgut aus Deutschland ?

Welche Ursprungsregionen sind geeignet ?

SNP-Analyse von 12 Arten

Je 9 Proben aus...

... Lux-Gutland

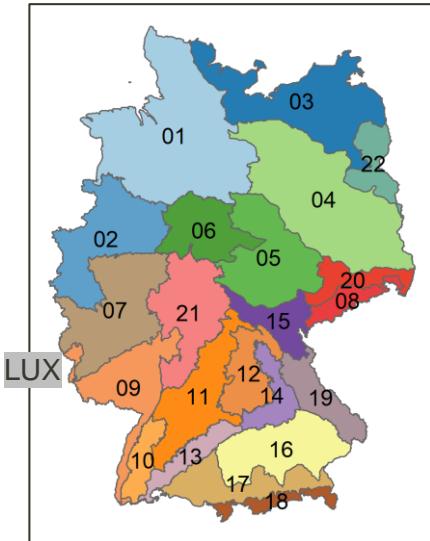
... Lux-Ösling

Zwischen-Ergebnis

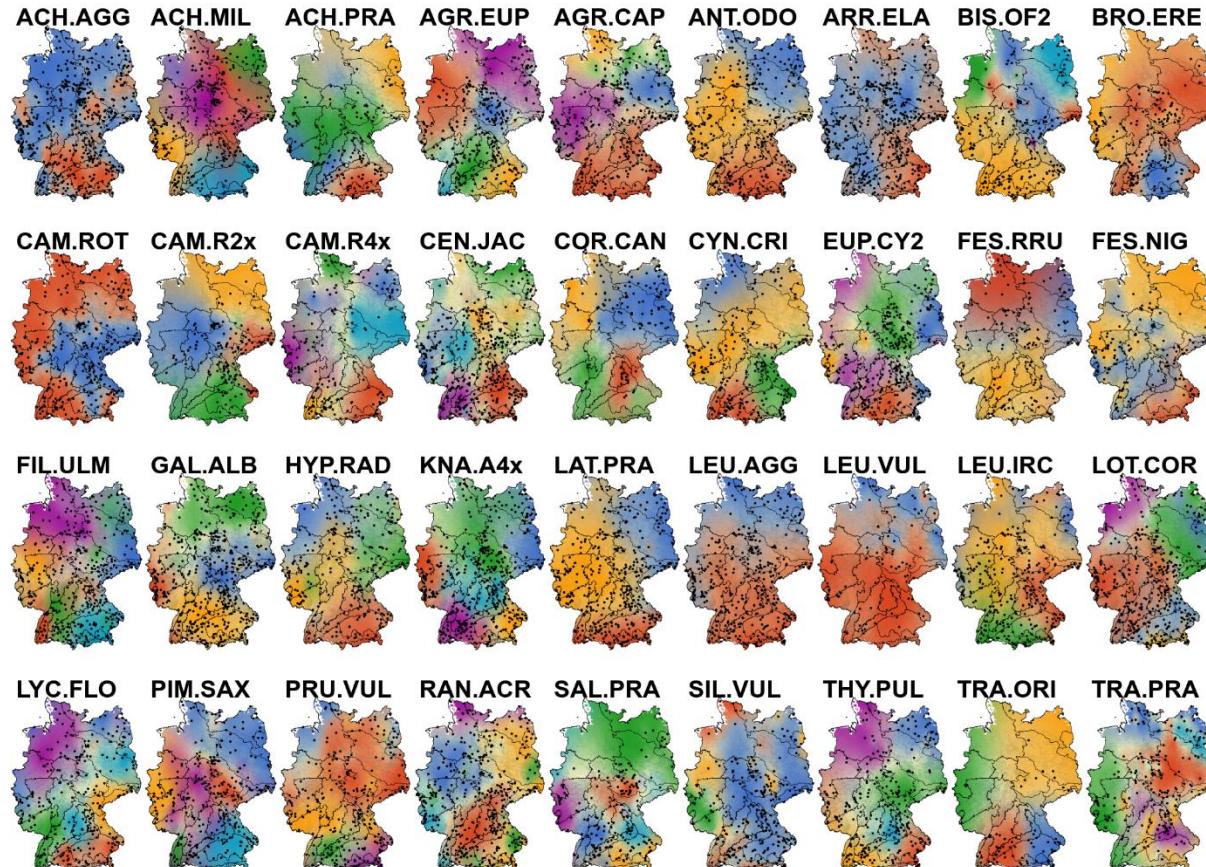
→ *Cen.jac, Gal.alb, Kna.arv:*

→ *Große Ähnlichkeit mit UG 02, 07, 09*

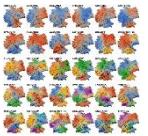
→ *ABER: UG 02, 07, 09 nicht homogen !*



RegioDiv – Multi species level



RegioDiv – Synthesis: designing generalized seed zones



Data driven assessment

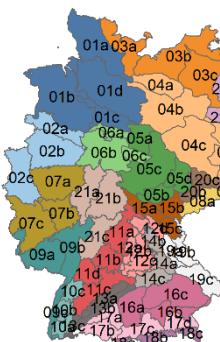
- Clustering of 72 subregions x intraspecific genetic groups across 30 species
- Develop indicators of match between zones and genetic structure

+

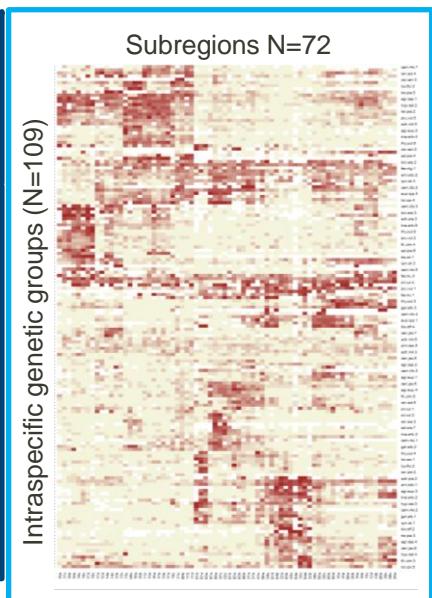
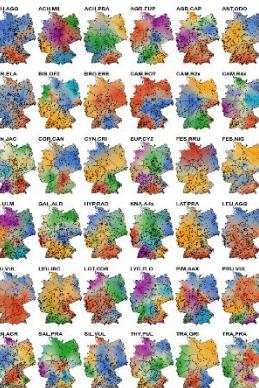
Stakeholder interests

- size
- maximum number
- predefine particular regions (e.g. mountain ranges)

22 seed zones
72 subregions



Multi species analysis



- Cluster subregions into seed zones
- Develop indicators of congruence between seed zones and genetic structure
- Stakeholder involvement

Future seed zones



RegioDiv – Summary

Take home message

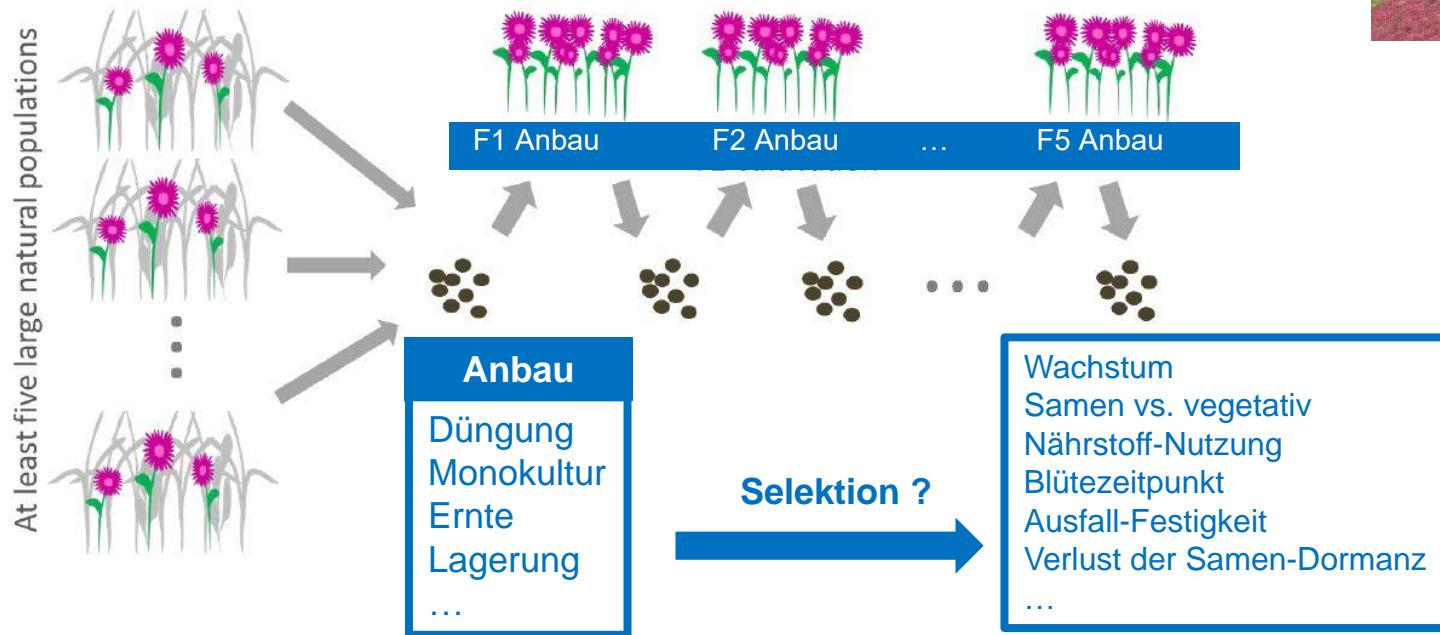
- Art-Ebene: 1-8 innerartliche Gruppen + Übergangszonen
- Dominantes Muster: Isolation-durch-Distanz
- Art-übergreifende Ursprungsregionen werden durch Clusteranalysen und anschließende Diskussion mit Interessenvertretern erarbeitet. Es ist davon auszugehen, dass weder die Zahl noch der Zuschnitt mit den aktuellen 22 UG übereinstimmt.

Wildsamenproduktion: Evolution?



Pflanzenanzucht aus Basis-Saatgut

Wildsamenproduktion: Evolution während der Produktion ?



Nagel et al. 2019 Plant Biology 21:551

Wildsamenproduktion: Evolution während der Produktion ?

Malte Conrady, Walter Durka, Oliver Bossdorf, Christian Lampei, Norbert Hölzel, Anna Bucharova

Material

22 Arten

2 Produzenten

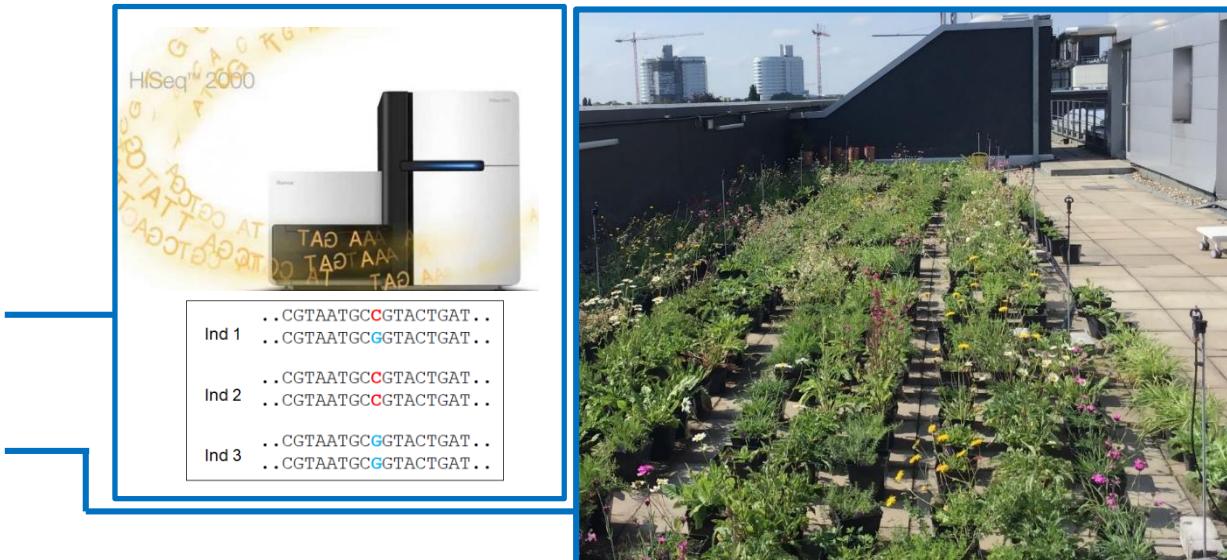
Bis zu 5 Generationen (F0...F5)

Verändert sich genetische Vielfalt?

- Molekulare Marker (SNPs)

Verändern sich die Merkmale?

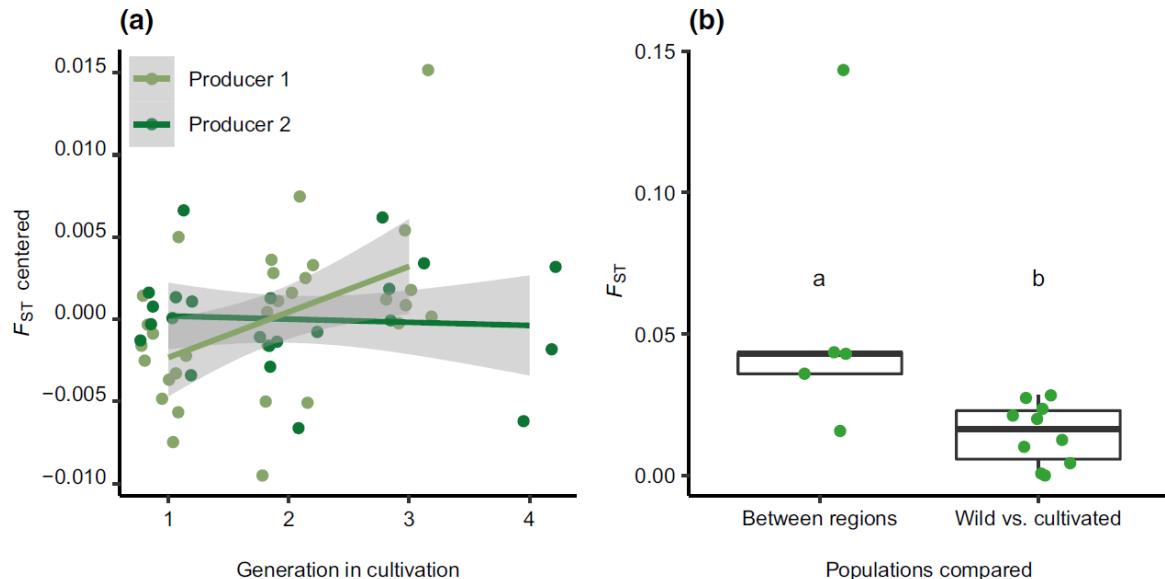
- Common garden



Wildsamenproduktion: Evolution während der Produktion ?

Genetische Distanz zwischen Generationen

- Produzent 1: geringe kontinuierliche genetische Veränderung über die Generationen
- Produzent 2: nur zufällige Veränderungen
- Veränderung zwischen F0 und Fx sind kleiner als zwischen Regionen



Wildsamenproduktion: Evolution während der Produktion ?

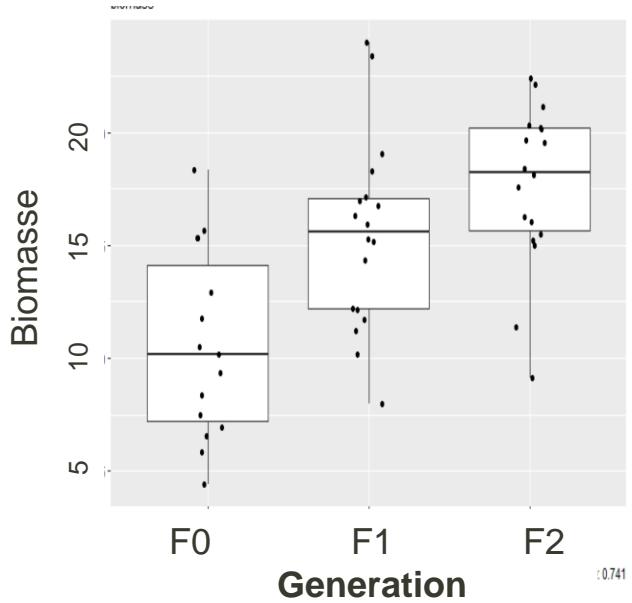
Lychnis flos-cuculi:

Zunahme der Biomasse
um 60% von F0 zu F2

→ Selektion auf Größe



Lychnis flos-cuculi



Wildsamenproduktion: Evolution während der Produktion ?

Generelles Muster

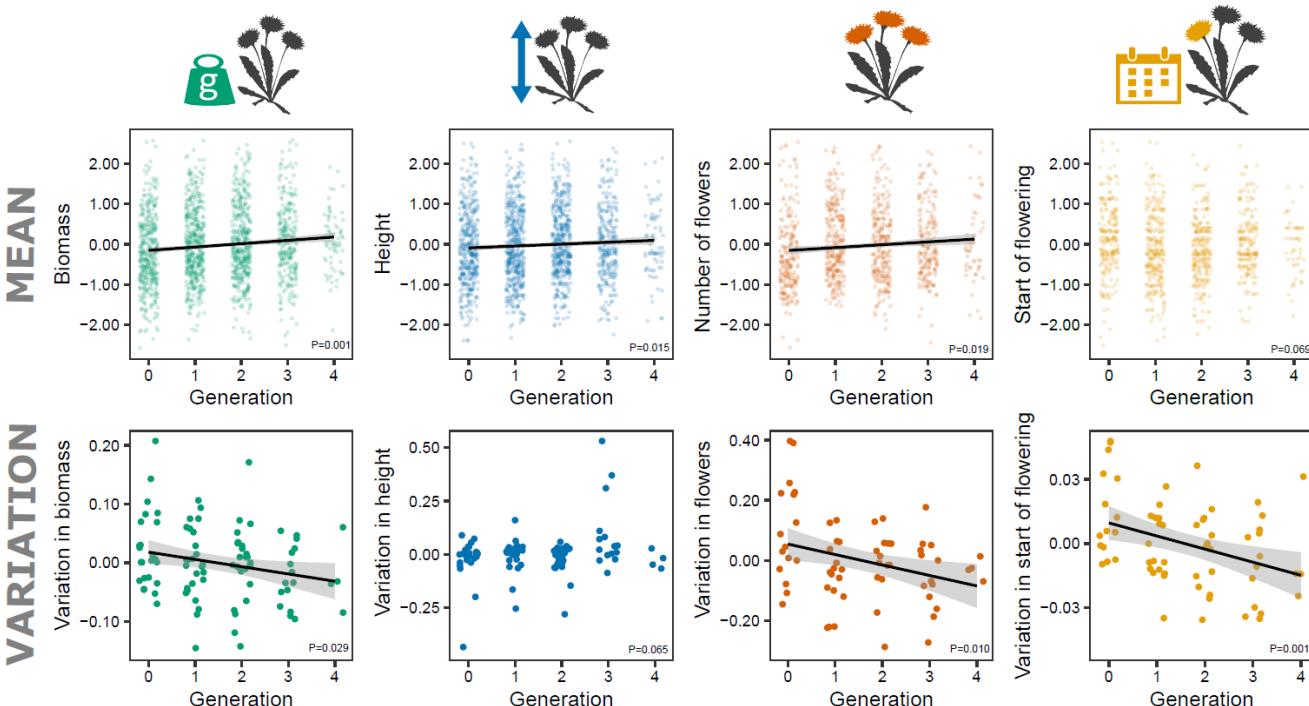
Zunahme von ...

- Biomasse
- Größe
- Anzahl Blüten

Abnahme der Variation ...

- Biomasse
- Anzahl Blüten
- Blühzeitpunkt

- **Selektion** auf Größe, Höhe, Samenproduktion
- **Einengung der Variationsbreite**



31

Wildsamenproduktion: Evolution ist Art-spezifisch

Artspezifische Effekte

Zunahme der Höhe bei ...

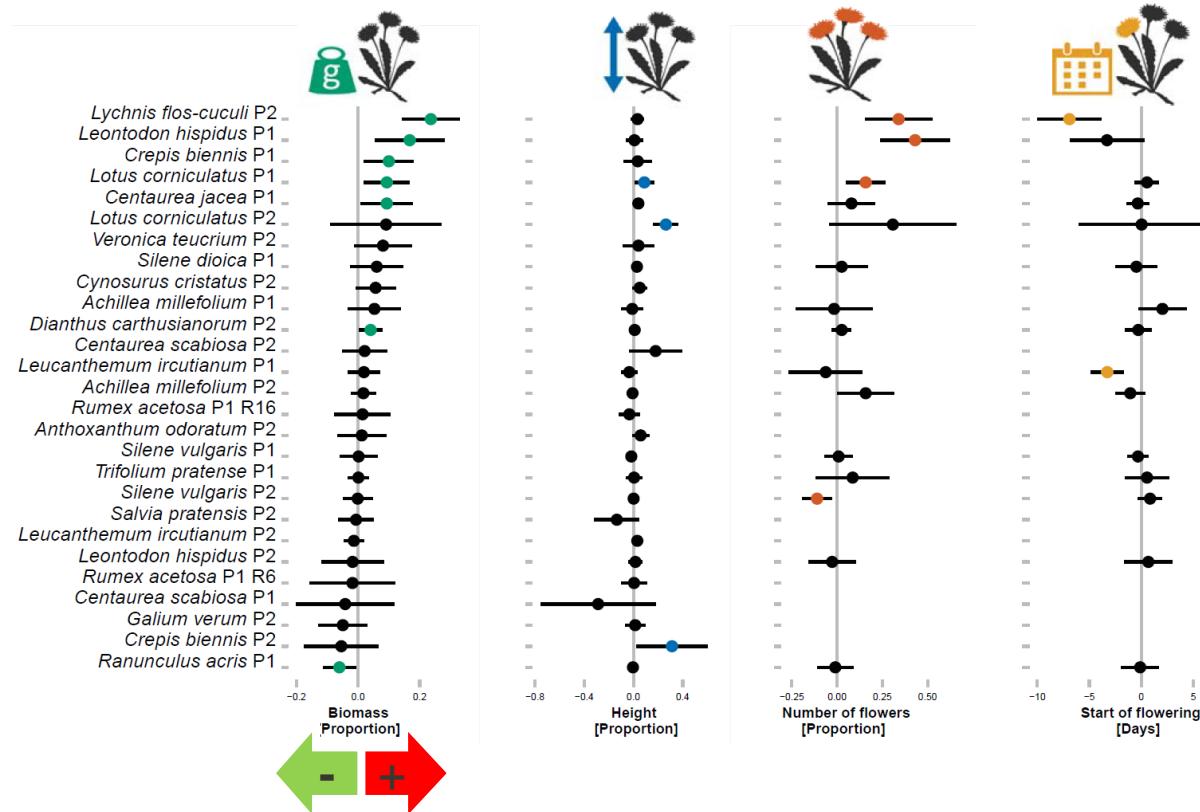
- *Lotus corniculatus*
- *Crepis biennis*

Zunahme der Biomasse bei...

den meisten Arten

Abnahme der Biomasse bei...

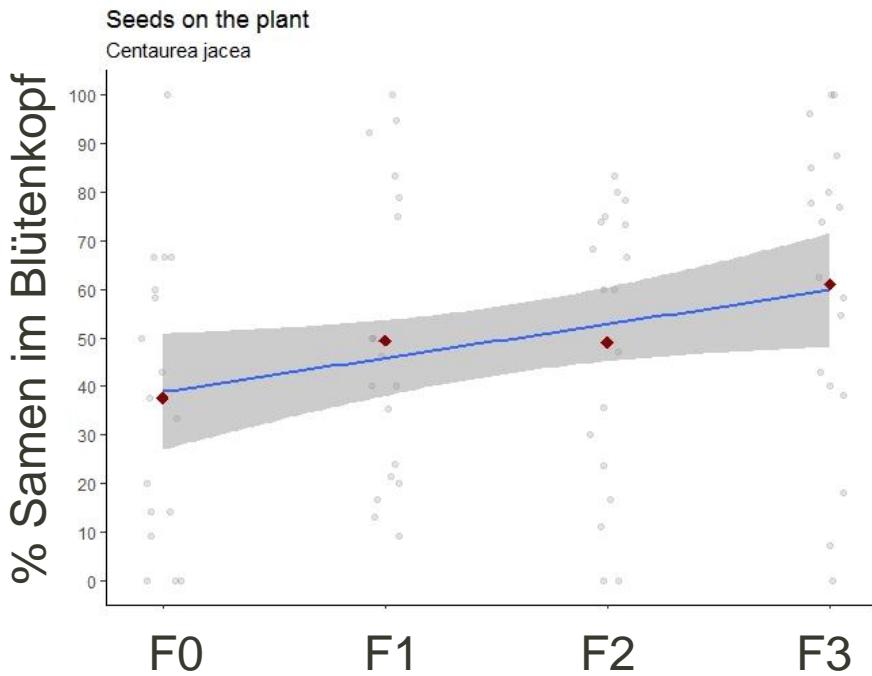
- *Ranunculus acris*



Wildsamenproduktion: Domestikations-Syndrom

Evolution der Ausfallfestigkeit

Centaurea jacea



Zwischen-Fazit – Saatgutproduktion und Evolution

Bei den meisten Arten sehr geringe Merkmals-Veränderungen !

Aber: bei einzelnen Arten gerichtete Merkmals-Veränderungen

- Mehr Biomasse, mehr Blüten
- Phänologie: Frühere Blüte



Mögliche Selektionsmechanismen

- Sexuell produktive Genotypen überproportional vermehrt
- Unter Anbaubedingungen produktive Genotypen überproportional vermehrt
- Erntezeitpunkt selektiert auf Blütezeitpunkt
- Methode der Samenernte selektiert auf Ausfallfestigkeit

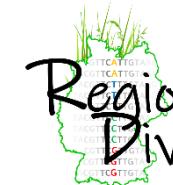
Konsequenzen

- Diversifizierung der Anbau-/Erntebedingungen
- Kleine/Späte Pflanzen nicht vergessen !!
- Nach 5 Generationen neues Primärsaatgut

Dank

RegioDiv

- 160 freiwillige SammlerInnen !!!
- Labor Team: Ina Geier, Martina Herrmann
- Wissenschafts Team: Stefan Michalski, Johannes Höfner
- Geldgeber: BfN, Bundesamt für Naturschutz



Bundesamt für
Naturschutz

Evolution während Samenproduktion

- Fa. Saaten-Zeller
- Wilhem Graiss, Bernhard Krautzer, HBFLA, Rumberg-Gumpenstein
- Geldgeber: DFG