

## Genetische Erhaltungsgebiete für *Helosciadium inundatum*

*Genetic reserves for Helosciadium inundatum*

**Marion Nachtigall\*, Uta Schirmak, Maria Bönisch, Lorenz Bülow, Lothar Frese**

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

\*Korrespondierende Autorin, marion.nachtigall@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/jka.2020.466.012

### Zusammenfassung des Posters von NACHTIGALL et al. (2019)

Mit der Unterzeichnung des Internationalen Vertrages über pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft (IT) verpflichtete sich Deutschland, wildvorkommende Verwandte der Kulturpflanzen (WVK) in ihren natürlichen Lebensräumen (in situ) zu erhalten und lebensfähige Populationen wiederherzustellen. Zu diesem Zweck sollen die Bemühungen ortsansässiger Gemeinschaften zur Erhaltung der biologischen Vielfalt im Rahmen des Modell- und Demonstrationsvorhabens GE-Sell gefördert und unterstützt werden. Das GE-Sell-Projekt wird gefördert vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (FKZ 2814BM110 bis 112).

Der Flutende Sellerie (*H. inundatum* (L.) W. D. J. KOCH) ist eine von insgesamt vier in Deutschland vorkommenden Wildselleriearten und wird als „stark gefährdet“ (METZING et al., 2018) eingestuft. In Deutschland wird insbesondere das nordwestdeutsche Tiefland (Niedersachsen) vom Flutenden Sellerie besiedelt. *H. inundatum* bevorzugt nährstoffarme, lichte Stillgewässer, welche oft durch schwankende Wasserstände bzw. Austrocknungsphasen charakterisiert sind. Die Erhaltung der noch vorhandenen intraspezifischen genetischen Vielfalt ist das Ziel der Einrichtung genetischer Erhaltungsgebiete. Von 54 bestätigten *H. inundatum*-Standorten wurden 21 Vorkommen ausgewählt, die unterschiedliche Naturräume 3. Ordnung und Habitattypen repräsentieren. Die Firma SGS Trait Genetics (Gatersleben) entwickelte mit NGS (MiSeq Illumina) ein SSR-Marker-Set für *H. inundatum*. Je Vorkommen wurden bis zu 30 *H. inundatum*-Individuen beprobt und mit 15 polymorphen SSR Markern untersucht. Mit dem ProcAllele-Verfahren (SAS 9.4) wurden deskriptive genetische Parameter (Polymorphic Information Content, PIC; erwartete Heterozygotie,  $H_e$ ; beobachtete Heterozygotie,  $H_o$ ) berechnet. Auf der Grundlage der Allelgrößen wurde eine Diskriminanzanalyse der Hauptkomponenten (DAPC) durchgeführt (JOMBART, 2008). Um die räumlichen genetischen Strukturen der Vorkommen zu untersuchen wurde unter R (Version 3.5.1) die Funktion dapc aus dem Paket adegenet (Version 2.1.1) verwendet. Einzelne Individuen und Cluster wurden mittels der Funktion scatter.dapc visualisiert. Die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Prinzip (HWP) wurde mit dem Chi<sup>2</sup>-Test ( $p = 0,05$ ) für alle Marker-Vorkommen-Kombinationen überprüft. Mit dem Distanzmaß  $\Delta$  (GREGORIUS et al., 2003) und dem Programm DifferInt (GILLET, 2013) wurden die genetische Diversität innerhalb des gesammelten Materials sowie Unterschiede in der genetischen Zusammensetzung der Vorkommen ermittelt.

Die Anzahl detektierter Allele schwankt zwischen 5 (ARM0015) und 17 (ARM0021) und der PIC-Wert zwischen 0,156 und 0,809. Die DAPC ergab keine Aufteilung aller Individuen in deutlich unterscheidbare Gruppen, mit Ausnahme von sechs der 21 Vorkommen. Die Abweichungen vom HWP belegen, dass es sich bei den Vorkommen nicht um ideale panmiktische Populationen handelt. Deshalb wurde die weitere genetische Analyse mit  $\Delta$  ausgeführt. Die mittlere genetische Differenzierung im Material ist mit  $\Delta_{SD} = 0,3883$  unterdurchschnittlich. Das Vorkommen HiBH bei Oldenburg (Niedersachsen) weist mit  $\Delta_{SD(HiBH)} = 0,2782$  die geringste genetische Distanz zu seinem Komplement auf und repräsentiert die genetische Zusammensetzung der gepoolten übrigen Vorkommen am besten, während sich das Vorkommen HiAM auf Amrum (Schleswig-Holstein) mit  $\Delta_{SD(HiAM)} = 0,5415$  am stärksten vom Komplement unterscheidet. Die Differenzierung der Vorkommen lässt an einzelnen Loci große Unterschiede erkennen. Am Locus ARM0009 mit  $\Delta_{SD} = 0,6643$  sind die Vorkommen überdurchschnittlich stark differenziert. Im Gegensatz dazu differenziert der Locus ARM0015 mit  $\Delta_{SD} = 0,1118$  die Vorkommen nur geringfügig. Die Vorkommen HiAHT, HiSOH und HiWA bestehen zu einem großen Teil (10, 19, 12) aus identischen Multi-Locus-Genotypen, welche zudem an den meisten Loci homozygot waren. Bei diesen Individuen handelt es sich vermutlich um Selbstungsnachkommen. Für die Einrichtung genetischer Erhaltungsgebiete (GenEG) wurde zunächst das Vorkommen mit dem kleinsten bzw. größten  $\Delta_{SD(i)}$  ausgewählt. Danach wurde für jeden Naturraum jeweils ein Vorkommen mit großem  $\Delta_{SD(i)}$  und weiteren Kriterien ausgewählt, um möglichst viel adaptive genetische Variation zu erfassen. Für 11 Vorkommen wird die Einrichtung eines Netzwerkes von GenEG empfohlen.

**Stichwörter:** Genetisches Erhaltungsgebiet, *Helosciadium inundatum*, Mikrosatelliten Marker, genetische Diversität, In-situ-Erhaltung

### Abstract of the poster by NACHTIGALL et al. (2019)

By signing the International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, Germany is committed to conserve crop wild relatives *in situ* and to re-establish viable populations by supporting local communities engaged in the conservation of biological diversity. Activities are to be promoted in the model and demonstration project GE-Sell, which is financially supported by the German Federal Ministry of Food and Agriculture through the Federal Office for Agriculture and Food (grant number 2814BM110 to 112).

The Flooding Celery (*Helosciadium inundatum* (L.) W. D. J. KOCH) is one of four species of wild celery found in Germany and is classified as "highly endangered" (METZING et al., 2018). In Germany, *H. inundatum* occurs particularly in the northwestern lowland. The species prefers nutrient-poor, light puddles with changing water levels and drought periods. The objective of the establishment of genetic reserves is to maintain the current status of intraspecific genetic diversity.

Out of 54 confirmed *H. inundatum* sites, 21 sites located in differing ecogeographic units were selected. SGS Trait Genetics (Gatersleben) developed an SSR marker set for *H. inundatum* by using NGS (MiSeq Illumina). Within the 21 sites up to 30 individuals were sampled and genotyped with fifteen polymorphic SSR markers. The SAS procedure ProcAllele (SAS 9.4) was employed to calculate descriptive genetic parameters (Polymorphic Information Content, PIC; expected heterozygosity,  $H_e$ ; observed heterozygosity,  $H_o$ ). The deviation from the Hardy-Weinberg principle (HWP) was tested with the Chi<sup>2</sup> test ( $p = 0.05$ ). The distance measure  $\Delta$  (GREGORIUS et al., 2003) and the program DifferInt (GILLET, 2013) was used to establish the genetic diversity within the collection as well as differences in the genetic composition among the *H. inundatum* occurrences. To investigate the genetic structure within the research material, a Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) was performed by using R version 3.5.1 and the package adegenet version 2.1.1. The scatter.dapc function was employed to visualize the individuals and occurrences on a scatter plot.

The number of detected alleles varies between 5 (ARM0015) and 17 (ARM0021), the lowest PIC value is 0.156 and the highest is 0.809. With the exception of six of the 21 occurrences the DAPC analysis did not separate the material into clearly distinguishable groups. The deviations from HWP show that the occurrences are not ideal random mating populations. The measure  $\Delta$  ranges between 0 and 1, where  $\Delta_{SD(ij)} = 0$  means complete and  $\Delta_{SD(ij)} = 1$  represents no agreement with the complement. Mean genetic differentiation  $\Delta_{SD}$  is 0.3883 and is below average. The occurrence HiBH ( $\Delta_{SD(HiBH)} = 0.2782$ ) near Oldenburg (Lower Saxony) shows the smallest distance to its complement and represents the genetic composition of the pooled remaining 20 occurrences best while the genetic composition of HiAM ( $\Delta_{SD(HiAM)} = 0.5415$ ) on Amrum (Schleswig-Holstein) differs most from its complement. The degree of mean differentiation depends on the loci. In the case of locus ARM0009 the differentiation among occurrences is above average and with  $\Delta_{SD} = 0.6643$  quite high as compared to locus ARM 0015 with  $\Delta_{SD} = 0.1118$ . Here, only a weak differentiation among occurrences can be observed.

The occurrences HiAHT, HiSOH and HiWA contain a large number (10, 19 and 12) of duplicated multi-locus genotypes. Since the multi-locus genotypes are homozygous at most loci, these individuals are likely the result of repeated self-fertilisation. For the establishment of the network of genetic reserve, first the occurrence with the smallest as well as largest  $\Delta_{SD(ij)}$  was selected. Secondly, for each ecogeographic units an occurrence with a large  $\Delta_{SD(ij)}$  was selected to capture as much adaptive genetic variation as possible. Additional selection criteria were used and the establishment of genetic reserves for 11 occurrences recommended.

**Keywords:** genetic reserve, *Helosciadium inundatum*, microsatellite marker, genetic distance, *in situ* conservation

### Literatur

- GILLET, E.M., 2013: DifferInt: compositional differentiation among populations at three levels of genetic integration. *Molecular Ecology Resources* **13**, 953–964.
- GREGORIUS, H.-R., E.M. GILLET, M. ZIEHE, 2003: Measuring Differences of Trait Distributions between Populations. *Biometrical Journal* **45**, 959–973.
- JOMBART, T., S. DEVILLARD, F. BALLOUX, 2010: Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* **11**, 94.
- JOMBART, T., 2008: adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24**, 1403–1405.
- METZING, D., E. GARVE, G. MATZKE-HAJEK, J. ADLER, W. BLEEKER, T. BREUNIG, S. CASPARI, F. G. DUNKEL, R. FRITSCH, G. GOTTSCHLICH, T. GREGOR, R. HAND, M. HAUCK, H. KORSCH, L. MEIEROTT, N. MEYER, C. RENKER, K. ROMAHN, D. SCHULZ, T. TÄUBER, I. UHLEMANN, E. WELK, K. VAN DE WEYER, A. WÖRZ, W. ZAHLHEIMER, A. ZEHR, F. ZIMMERMANN, 2018: Rote Liste und Gesamtartenliste der Farn- und Blütenpflanzen (Tracheophyta) Deutschlands. *Naturschutz und Biologische Vielfalt* **70** (7), 13–358.
- NACHTIGALL, M., U. SCHIRMAK, M. BÖNISCH, L. BÜLOW, L. FRESE, 2019: Genetische Erhaltungsgebiete für *Helosciadium inundatum*. Quedlinburg. <https://doi.org/10.5073/20190508-130359>.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.  
<https://www.R-project.org/> version 3.5.1. (aufgerufen am 08.08.2018).