



Doctoral Thesis

Molecular and phenotypic diversity of Swiss *Festuca pratensis* Huds. and *Lolium multiflorum* Lam. ecotype populations from contrasting permanent grassland habitats

Author(s):

Peter-Schmid, Madlaina

Publication Date:

2008

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005593932> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 17722

**MOLECULAR AND PHENOTYPIC DIVERSITY OF SWISS
FESTUCA PRATENSIS HUDS. AND *LOLIUM MULTIFLORUM*
LAM. ECOTYPE POPULATIONS FROM CONTRASTING
PERMANENT GRASSLAND HABITATS**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of
DOCTOR OF SCIENCES

presented by

MADLAINA PETER-SCHMID

Dipl. Ing.-Agr. ETH

born 14.6.1977

citizen of

Zurich ZH and Chur GR

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Nina Buchmann, examiner

Prof. Dr. Peter Stamp, co-examiner

Dr. Beat Boller, co-examiner

Zurich 2008

SUMMARY

Natural and semi-natural permanent grasslands are reservoirs of plant genetic resources. Ecotype populations have traditionally been collected in these habitats, since differences in environmental conditions result in divergent selection pressures and consequently well adapted ecotype populations may be formed. Such populations are usually highly variable and therefore interesting to broaden the variability of breeding pools and to improve specific morphological traits in cultivars. The intensification of agriculture during the last decades has led to replacement of permanent grassland by more productive leys and to loss of biodiversity. To stop genetic erosion and to ensure a long-term supply of valuable germplasm for breeding purposes, appropriate collection and conservation strategies have to be defined. Besides the *ex-situ* conservation of germplasm in gene banks, the need to conserve biodiversity in its natural habitats (*in-situ* conservation) has been emphasised in the Convention on Biological Diversity and in the global action plan on plant genetic resources for food and agriculture (PGRFA).

Within the framework of the Swiss national action plan (NAP), this study focused on the evaluation of different permanent grassland sites to determine their potential for providing useful genetic resources of the widespread *Lolium multiflorum* Lam. (Italian ryegrass) and the less abundant *Festuca pratensis* Huds. (meadow fescue). An important prerequisite for the identification of valuable collection and conservation sites is a detailed knowledge about the prevailing environmental factors and their relationship with phenotypic and genetic diversity of their ecotype populations. Therefore, this project aimed first at providing information about the extent of morphological and genetic variation within and among ecotype populations from contrasting habitats as compared to cultivars and second, it assessed the influence of site-related factors on the genetic structure of the ecotype populations.

In total, nineteen ecotype populations per species were collected from different sites in Switzerland varying mainly in terms of geographical region, altitude and management intensity. For the phenotypic characterisation, a field experiment containing all ecotype populations and additionally four reference cultivars per species was established in spring 2004. Each population consisted of sixty single plants which were individually assessed by means of sixteen morphological descriptors according to the UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) guidelines. The genetic characterisation was performed on a subset of twelve ecotype populations per species and on the four respective cultivars. Twenty-three plants per population were analysed by means of 22 (*F. pratensis*) and 24 (*L. multiflorum*) simple sequence repeats (SSR) markers, respectively. All habitats were

fully described in terms of management intensity, geographical and topological parameters, soil characteristics and botanical composition.

Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed differences between the two species with regards to the extent of variation within and among populations. In *F. pratensis*, 96 % of the total variance occurred within populations and 4 % between populations. Less variation was found between *L. multiflorum* populations with only 1.6 % of the total variance explained. According to a cluster analysis of genetic distances, *F. pratensis* cultivars and ecotype populations appeared as two clearly separate groups and ecotype populations were further subdivided according to the geographical regions they were sampled from. A similar grouping was confirmed by a factor analysis of the morphological data and by a significant overall Mantel correlation ($r = 0.25$, $P = 0.04$) between the matrices of Euclidean distances based on genetic and phenotypic data. Despite the clear grouping of *F. pratensis* ecotype populations, genetic diversity within the populations, expressed as expected heterozygosity, was very similar across all populations. Nevertheless, significantly more rare alleles were found in intermediately managed grassland habitats compared to more extensively managed grasslands. In contrast to *F. pratensis*, the populations of *L. multiflorum* differed significantly according to their phenotype but the genetic as well as the morphological characterisation identified no clear groups and even the cultivars could not be separated.

The results of this study indicate that habitat and management affect *F. pratensis* to a much greater extent than *L. multiflorum* ecotype populations. Reasons may be that *F. pratensis* occurs in locally rather isolated areas and in more contrasting climates than *L. multiflorum*. Moreover, the extremely low population differentiation of widespread *L. multiflorum* suggests the existence of a single gene pool, possibly influenced by gene flow between cultivars and ecotype populations in adjacent leys. As a consequence, collection and conservation of only a few, selected ecotype populations may be sufficient to capture high amounts of variability. However, to detect novel genes affecting specific morphological traits which could be interesting for breeding purposes, laborious phenotyping experiments containing ecotype populations from grassland sites without influence of temporary leys, are inevitable. According to the observed differentiation of *F. pratensis* populations, conservation strategies should focus on ecotype populations from contrasting management regimes in different geographical regions. However, as a consequence of the conflict of aims between the conservation of species diversity and of genetic diversity (e.g. number of rare alleles) very extensively managed grassland sites are less suitable for targeted *in-situ* conservation than sites with an intermediate management.

ZUSAMMENFASSUNG

Naturwiesen bilden seit jeher ein Reservoir für pflanzengenetische Ressourcen. Entsprechend werden auch seit Beginn der Futterpflanzenzüchtung Ökotypenpopulationen aus solchen Beständen als Ausgangsmaterial für die Züchtung gesammelt. Als Folge der selektiven Umweltbedingungen an den jeweiligen Standorten können sich diese Ökotypenpopulationen in bestimmten Merkmalen stark voneinander unterscheiden, was sie für die Verbesserung bestimmter morphologischer Merkmale in Sorten interessant macht.

Die Intensivierung der Futterproduktion der letzten Jahrzehnte hat allerdings vielfach zum Verlust an Biodiversität geführt, verursacht unter anderem auch durch die vermehrte Ansaat von Kunstwiesen auf Kosten der artenreichen Naturwiesen. Um den Verlust der Artenvielfalt zu stoppen und um die langfristige Versorgung der Züchtung mit neuer Ausgangsvariabilität zu sichern, müssen geeignete Sammel- und Erhaltungsmaßnahmen festgelegt werden. In der Biodiversitätskonvention und im darauf folgenden globalen Aktionsplan für die Erhaltung und nachhaltige Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft (PGRFA) wird neben der *ex-situ* Erhaltung in Genbanken auch der Nutzen einer Erhaltung genetischer Diversität am natürlichen Standort (*in-situ*) hervorgehoben.

Die hier vorgestellte als Projekt im Rahmen des Nationalen Aktionsplanes (NAP) der Schweiz durchgeführte Arbeit bezweckt die Bewertung von unterschiedlichen Naturwiesenstandorten um Hinweise über deren Potential zur Erhaltung von genetischen Ressourcen von Italienischem Raigras (*Lolium multiflorum* Lam.) und Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) zu erhalten. Eine wichtige Voraussetzung um wertvolle Sammel- und Erhaltungsstandorte zu erkennen ist eine detaillierte Kenntnis über die vorherrschenden Umweltbedingungen und über deren Beziehung zur phänotypischen und genetischen Diversität der Ökotypenpopulationen. Somit war das Ziel dieser Studie, die morphologische und genetische Variation innerhalb und zwischen den Ökotypenpopulationen von unterschiedlichen Habitaten zu bestimmen und mit Sorten zu vergleichen, sowie den Einfluss bestimmter Standortfaktoren auf die genetische Struktur der Ökotypenpopulationen abzuschätzen.

Insgesamt wurden je Art neunzehn Ökotypenpopulationen an Standorten unterschiedlicher Regionen, Höhenlagen und Bewirtschaftungsintensitäten gesammelt. Im Frühjahr 2004 wurde für jede Art, zur Bestimmung morphologischer Parameter, ein Feldversuch mit den je 19 Ökotypenpopulationen und zusätzlich je vier Standardsorten angelegt. Jede Population wurde durch 60 Einzelpflanzen repräsentiert, die separat mit Hilfe von sechzehn Merkmalen gemäss UPOV (Internationaler Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen) Richtlinien

beschrieben wurden. Die genetischen Analysen wurden für jede Art an einer Auswahl von 12 Ökotypenpopulationen sowie den vier Sorten durchgeführt. Dreiundzwanzig Pflanzen jeder Population wurden mit 22 (Wiesenschwingel) beziehungsweise 24 (Italienisch Raigras) SSR Markern analysiert. Alle Habitate wurden vollständig bezüglich Bewirtschaftungsintensität, geographischer und topographischer Lage, Bodeneigenschaften und botanischer Zusammensetzung beschrieben.

Die Resultate dieser Studie zeigen deutliche Unterschiede zwischen den Arten bezüglich ihrer genetischen Variabilität innerhalb und zwischen den Ökotypenpopulationen. So entfallen 96% der Gesamtvarianz vom Wiesenschwingel auf die Varianz innerhalb der Ökotypenpopulationen und 4 % auf die Varianz zwischen den Populationen. Beim Italienischen Raigras kann jedoch nur 1.6 % der totalen Varianz durch Unterschiede zwischen den Ökotypenpopulationen erklärt werden. Eine Clusteranalyse der genetischen Distanzen zeigte eine klare Trennung der Wiesenschwingel Sorten von den Ökotypenpopulationen, während sich die Ökotypenpopulationen weiter aufgrund der geographischen Region ihrer Herkunft aufspalteten. Eine ähnliche Gruppierung wurde durch eine Faktorenanalyse basierend auf den morphologischen Daten bestätigt. Eine ähnliche Datenstruktur konnte zudem mit einer signifikanten Mantelkorrelation ($r = 0.25$, $P = 0.04$) zwischen den euklidischen Distanzmatrizen der genetischen und morphologischen Daten belegt werden. Trotz der deutlichen Gruppierung der Wiesenschwingel Ökotypenpopulationen zeigte jede einzelne Population eine ähnliche genetische Diversität innerhalb der Population. Dennoch wurden im Vergleich zu extensiv bewirtschafteten Beständen signifikant mehr seltene Allele in mittelintensiv bewirtschaftetem Grassland gefunden. Im Gegensatz zu Wiesenschwingel zeigte die genetische wie auch die morphologische Charakterisierung von Italienischem Raigras keine Gruppierungen und sogar eine fehlende Trennung zwischen Sorten und Ökotypenpopulationen; dennoch unterschieden sich die einzelnen Populationen morphologisch signifikant voneinander.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass sich Standort und Bewirtschaftung stärker auf Wiesenschwingel als auf Italienisch Raigras Ökotypenpopulationen auswirken. Gründe dafür sind das Vorkommen von Wiesenschwingel in lokal stärker isolierten Gebieten und in variableren Klimata als Italienisch Raigras. Die sehr geringe Populationsdifferenzierung des stark verbreiteten Italienisch Raigras deutet auf das Vorhandensein eines einzigen grossen Genpools hin, möglicherweise als Folge von beträchtlichem Genfluss zwischen Ökotypenpopulationen und Sorten benachbarter Kunstwiesen. Folglich wäre unter Umständen die Sammlung und Erhaltung einiger weniger ausgewählter Ökotypenpopulationen

ausreichend, um eine genügende Variabilität zu erfassen. Allerdings, um züchterisch nutzbare Variabilität an Genloci zu identifizieren welche monogenetisch oder quantitativ genetisch kontrollierte Eigenschaften des Phänotyps beeinflussen, und somit für die Züchtung interessant sein könnten, sind aufwändige, phänotypische Feldexperimente mit Ökotypenpopulationen gesammelt in Wiesenbeständen ohne Kunstwieseneinfluss unvermeidlich. Aufgrund der beobachteten Populationsdifferenzierung von Wiesenschwingel sollten Erhaltungsmaßnahmen auf Ökotypenpopulationen aus unterschiedlichen geographischen Regionen und verschiedener Bewirtschaftungsformen abzielen. Bezüglich des Vorkommens seltener Allele eignen sich sehr extensiv bewirtschaftete Naturwiesenstandorte weniger zur gezielten *in-situ* Erhaltung als mittelintensiv bewirtschaftete Standorte, was auf einen möglichen Zielkonflikt hindeutet.