



Doctoral Thesis

The assessment of genetic diversity in agricultural production systems

Author(s):

Last, Luisa

Publication Date:

2013

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010069267> →

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. 21325

THE ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY IN AGRICULTURAL PRODUCTION SYSTEMS

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

LUISA MARIA SOPHIE LAST

Master of Science, University of Zurich

born September 5, 1985

citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Alex Widmer, examiner

Prof. Dr. Achim Walter, co-examiner

Dr. Roland Kölliker, co-examiner

2013

Für Thomas

Contents

Summary	1
Zusammenfassung	7
1 General introduction	9
1.1 Biodiversity and agriculture	11
1.1.1 Agrobiodiversity	11
1.1.2 Agrobiodiversity and ecosystem services	12
1.2 Levels of agrobiodiversity	13
1.2.1 Habitat or ecosystem diversity	13
1.2.2 Species diversity	14
1.2.3 Genetic diversity	14
Crop species cultivars	15
Livestock breeds	15
Crop and livestock landraces	15
Crop wild relatives (CWR)	15
1.3 Loss of agrobiodiversity	16
1.3.1 Agricultural intensification	16
1.3.2 Economic and socio-economic change	17
1.3.3 Climatic change	18
1.4 Genetic diversity – The fundament of agricultural production systems . . .	19
1.4.1 Planned and associated genetic diversity	20
1.4.2 Genetic diversity and ecosystem services	21
1.5 Loss of genetic diversity in agriculture	22
1.5.1 Loss of crop accessions	23
1.5.2 Loss of livestock breeds	23
1.6 Conservation of crop and livestock genetic diversity	24
1.6.1 <i>Ex situ/in vitro</i> conservation	24
1.6.2 <i>In situ/in vivo</i> conservation	25

1.7	The assessment of genetic diversity	25
1.7.1	Concepts of diversity measurement	26
1.7.2	Molecular-marker approach	27
1.7.3	Morphological-marker approach (phenotypic assessments)	28
1.7.4	Survey-based approach	29
1.7.5	Pedigree-based approach	29
1.8	Genetic diversity indicators	30
1.8.1	Indicators proposed for crop and livestock genetic diversity	30
1.9	Objectives and outline of the thesis	31
1.9.1	Background and objectives of the framing project	31
1.9.2	Objectives of the thesis	32
1.9.3	Outline of the thesis	32

2 Indicators for the on-farm assessment of crop and livestock genetic diversity: A survey-based participative approach **35**

2.1	Abstract	37
2.2	Introduction	38
2.3	Material and methods	40
2.3.1	Indicator review and evaluation by scientific experts and stakeholders	41
2.3.2	Questionnaire development and completion	42
2.3.3	Evaluation of indicators	43
2.4	Results and discussion	43
2.4.1	Recommended indicators	44
2.4.2	Indicators for further research	50
2.4.3	Discarded indicators	51
2.5	Conclusions	52
2.6	Acknowledgements	52

3 Genetic diversity of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations in three regions in Europe **53**

3.1	Abstract	55
3.2	Introduction	56
3.3	Material and methods	57
3.3.1	Sampling sites and plant material	57
3.3.2	DNA extraction and SSR analysis	59
3.3.3	Statistical analysis	60
3.4	Results	63

3.4.1	Ploidy level and genetic diversity within populations	63
3.4.2	Genetic distances among populations	64
3.4.3	Population structure	65
3.5	Discussion	69
3.5.1	Ploidy level of <i>D. glomerata</i> populations	69
3.5.2	Genetic and allelic diversity within populations	70
3.5.3	Genetic diversity among populations	71
3.6	Conclusions	73
3.7	Authors' contributions	73
3.8	Acknowledgements	74

4 Indicators for genetic and phenotypic diversity of *Dactylis glomerata* in

	Swiss permanent grassland	75
4.1	Abstract	77
4.2	Introduction	78
4.3	Material and methods	81
4.3.1	Selection and characterization of sampling sites	81
4.3.2	Plant material	81
4.3.3	DNA isolation and SSR analysis	83
4.3.4	Phenotypic assessment	84
4.3.5	Plant species diversity, ecological conditions and habitat parameter	84
4.3.6	Data analysis and statistics	87
	Explanatory variables	87
	Genetic diversity	87
	Phenotypic diversity	88
	Population structure	88
	Correlations	88
4.4	Results	89
4.4.1	Genetic and phenotypic diversity within and among populations . .	89
4.4.2	The influence of management intensity and farming system	92
4.4.3	Influence of plant species diversity at collection sites on genetic and phenotypic diversity	95
4.4.4	The influence of ecological and habitat parameters	96
4.5	Discussion	96
4.5.1	Genetic diversity of <i>D. glomerata</i>	96
4.5.2	Phenotypic diversity of <i>D. glomerata</i>	97

4.5.3	The impact of farming system and management intensity	98
4.5.4	The impact of plant species diversity at sampling sites	99
4.6	Conclusions	100
4.7	Acknowledgements	101
5	General discussion	103
5.1	Overview	105
5.2	Genetic diversity estimation using a survey-based approach	106
5.3	Genetic diversity estimation using marker-based approaches	107
5.4	Indirect detection of genetic diversity	109
5.5	Conclusion	111
	Appendix	125
	List of figures	125
	List of tables	125
	Supplement I, Guidebook chapter 7	125
	Supplement II, Genetic diversity indicators (Summary, 2001 - 2012)	125
	References	156
	Acknowledgement	158
	Publications	160
	Presentations, poster presentations and awards	162

Summary

Genetic diversity, i.e. the variability of alleles and genotypes occurring within a species, is the fundamental level of biodiversity. Within the organizational structure of agrobiodiversity, itself a subset of biological diversity, genetic diversity comprises the variability within domesticated crop and livestock species as well as corresponding genetic resources and resources occurring on a farm or within associated farmland. The utilization of genetic diversity and the conservation of genetic resources is crucial for a sustainable development of agricultural production while facing upcoming challenges such as changing climatic conditions and an increasing demand for food. However, estimations on the *status quo* or the detection of general trends of genetic diversity in agricultural production are complex and difficult to make. Consequently, management and conservation strategies remain unspecific and less targeted.

The general aim of this thesis was to contribute to the testing and evaluation of different data-survey approaches, i.e. the use of questionnaire and interviews, of molecular and morphological marker or pedigree analysis, to assess genetic diversity within agricultural production systems in Europe and beyond. Specific aims of this thesis were: 1.) The development and evaluation of data-survey methods and indicators for the estimation of crop and livestock genetic diversity in production systems, i.e. arable, vegetable, tree, forage crop and livestock systems. 2.) The direct assessment and evaluation of genetic diversity within the model grass species *Dactylis glomerata* using molecular markers within natural and semi-natural grassland in three European regions. And 3.) The estimation of genetic diversity using molecular and morphological markers while considering management intensity, species diversity or habitat characteristics as indirect indicators for genetic diversity of *D. glomerata* in Swiss permanent grassland. This thesis was part of the European project BioBio, which aimed at the selection, testing and validation of farmland biodiversity indicators for assessing on-farm biodiversity (<http://www.biobio-indicator.org/>).

With regard to aim one, survey-based approaches such as questionnaires and interviews

were used to record demographic data of crop accessions (cultivars and landraces) and livestock breeds at farm-level. After the development of a questionnaire, applicable for arable, vegetable, tree and forage crops as well as for the survey of livestock (cattle, sheep), data was collected during on-farm interviews. Altogether, 203 questionnaires have been completed in 13 case study regions. The number of crop accessions per species ranged from one accession per farm, i.e. in case study regions where predominantly arable crops were cultivated, up to 15 accessions per crop species on a Italian farm, i.e. *Vitis vinifera*. In total, the median of cattle and sheep breeds ranged between one and two per case study region. In the European case study regions, the use of farmers' varieties played a minor role, whereas in Uganda they are dominant and of great economic and social importance.

Addressing aim two, a molecular SSR-approach was used to investigate genetic diversity and population genetic patterns of the model grass species *D. glomerata* which were investigated in grassland regions in Switzerland, Norway and Bulgaria. In total, 1'861 individuals from 59 populations were analysed using 29 SSR markers. All three grassland regions contained tremendous genetic diversity within populations of *D. glomerata*. The average expected heterozygosity ($H_{E,C}$) ranged from 0.44 to 0.59. They represented valuable genetic resources due to the occurrence of numerous rare and localized alleles accounting for 80.82 % of all amplified alleles. The genetic distance was low ($D = 0.09$ to 0.29), but revealed clear separation pattern among geographically distinct regions.

Addressing aim three, SSR and morphological markers were used to identify correlations between genetic diversity (molecular, morphological) of *D. glomerata* and environmental parameters, e.g. management intensity levels, species diversity and habitat characteristics. In total, 20 Swiss populations of *D. glomerata*, revealed significant correlations between genetic diversity indices, i.e. 'Gene Diversity ($H_{E,C}$)', 'Genotype Shannon (H_G)' and 'Genotype Simpson (D_G)' and management (intensive/extensive). Management intensity has been shown to be a promising indirect indicator for genetic diversity in Swiss permanent grassland, while no correlation was detected with environmental parameters such as species diversity or habitat characteristics.

Both, the survey and marker-based approaches, represented valuable tools for the detection of genetic diversity within agricultural production systems. The survey-based approach represents a simple tool to detect inter-specific and inter-varietal diversity at local (farm, region) and global scale. The spatial and temporal loss of crop accessions and livestock breeds can be estimated and monitored. A well prepared survey can provide insights to actual farming practices or the perception of farmers towards genetic

diversity in farming systems. Moreover it reveals details on farmers' consideration of genetic diversity for sustainable agriculture as well as the conservation of crop accessions and livestock breeds as cultural heritage on a farm. However, due to scarce reference data of accession and breed diversity at farm level, a general conclusion on the extend or the erosion of genetic diversity cannot be made based on this study. Nevertheless, received data and experiences about questionnaire and indicator development will provide an important baseline for subsequent studies investigating genetic diversity at farm level within European agricultural production systems. On contrary, marker-based approaches support the fundamental understanding of genetic diversity and population patterns of organisms. They directly assess intra-specific diversity at gene level and provide major and detailed insights to natural and anthropogenic impacts on intra-specific diversity. Moreover, molecular and morphological markers represent an important basis for the detection and conservation of valuable populations, genes or alleles as a fundament for crop and livestock genetic diversity.

Zusammenfassung

Genetische Vielfalt, d.h. die Variabilität der Gene, Allele und Genotypen innerhalb einer Art, ist die grundlegendste Ebene der biologischen Vielfalt – der Biodiversität. Die Biodiversität innerhalb landwirtschaftlich genutzter Systeme und Lebensräume bildet einen Teil(bereich) der biologischen Vielfalt. Diese wird als Agrobiodiversität bezeichnet und bezieht sich auf die Vielfalt von domestizierten Pflanzenkulturen und Tierbeständen sowie deren genetische Ressourcen. Sie beinhaltet sowohl die durch Züchtung entstandenen Formen von Pflanzen und Tieren als auch die in der Agrarlandschaft angesiedelten und mit den Kulturarten verwandten Wildarten.

Insbesondere im Hinblick auf neue Herausforderungen, wie klimatische Veränderungen und eine steigende Nachfrage nach Nahrungsmitteln, ist die Nutzung und der Erhalt von genetischen Ressourcen entscheidend für eine nachhaltige Entwicklung innerhalb der landwirtschaftlichen Produktion. Die Beurteilung des derzeitigen Zustandes sowie Prognosen über die zukünftige Entwicklung der genetischen Vielfalt in landwirtschaftlichen Systemen sind sehr komplex und schwierig. Infolgedessen sind auch heutige Strategien zur Nutzung und dem Erhalt von genetischen Ressourcen unspezifisch und wenig zielgerichtet.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Beitrag zur Prüfung und Bewertung von verschiedenen Datenerhebungsansätzen zur Bestimmung genetischer Vielfalt in der Landwirtschaft zu leisten. Hierfür wurden verschiedene Erhebungs- und Messmethoden, z.B. die Nutzung von Fragebögen und Interviews, molekularer und morphologischer Markersysteme sowie die Stammbaumanalyse zur Bestimmung genetischer Vielfalt in der landwirtschaftlichen Produktion, angewendet. Diese Arbeit war Teil des EU-Projektes „BioBio“, welches sich mit der Auswahl, Untersuchung und Validierung von Indikatoren zur Bestimmung von Biodiversität in der Landwirtschaft auseinandersetzte (<http://www.biobio-indicator.org/>).

Spezifische Ziele dieser Arbeit waren: 1.) Die Entwicklung und Evaluierung von Datenerhebungsansätzen und Indikatoren für die Bestimmung genetischer Vielfalt in landwirtschaftlichen Systemen in Europa und darüber hinaus. 2.) Die direkte Bestimmung

und Beurteilung der genetischen Vielfalt der Modelart *Dactylis glomerata* mittels molekularer und morphologischer Marker. Untersucht wurden Populationen von natürlichen und halbnatürlichen Graslandflächen in drei europäischen Graslandregionen. Und 3.) die Bestimmung genetischer Vielfalt von *D. glomerata* mittels indirekter Indikatoren. Diese resultieren aus möglichen Zusammenhängen zwischen genetischer Vielfalt und Umweltparametern wie Bewirtschaftungsintensität, Artenvielfalt oder Habitateigenschaften im schweizer Dauergrasland.

In Bezug auf Ziel 1 wurden Erhebungsansätze wie Fragebögen und Betriebsinterviews genutzt um demographische Daten über angebaute Sorten von Pflanzenkulturen und landwirtschaftlich genutzten Tierrassen zu erheben. Der eigens entwickelte Fragebogen, konzipiert auf die Anwendung in verschiedenen Produktionssystemen wie dem Acker-, Gemüse-, Garten- und Futterbau sowie der Tierhaltung (Rinder und Schafe), wurde während der Durchführung von Betriebsbefragungen zusammen mit der Landwirt durchgearbeitet. Insgesamt wurden 203 Fragebögen in 13 Fallstudiengebieten vollständig ausgefüllt. Die Anzahl der angebauten Kultursorten reichte von einer Sorte, in Regionen die von Ackerkulturen dominiert sind, bis zu 15 *Vitis vinifera*-Sorten pro Art und Betrieb. Der Median der Rinder- und Schafrassen pro Fallstudiengebiet lag zwischen einer und zwei Rassen pro Art und Betrieb. In den europäischen Fallstudiengebieten spielten der Anbau und die Nutzung von Landsorten eine untergeordnete Rolle. Im Fallstudiengebiet in Uganda hingegen waren diese nicht nur dominierend, sondern auch von grosser ökonomischer und sozialer Wichtigkeit.

Im Rahmen der Untersuchungen zu Ziel 2 wurde ein molekulargenetischer Ansatz mit Mikrosatelliten genutzt um die genetische Vielfalt von Populationen der Model-Grasart *D. glomerata* in den Fallstudiengebieten Bulgarien, Schweiz und Norwegen zu untersuchen. Insgesamt wurden 1'861 Individuen aus 59 Populationen mit Hilfe von 29 genetischen Markern analysiert. Die untersuchten Populationen der drei Regionen zeigten eine enorme genetische Vielfalt. Die durchschnittliche erwartete Heterozygotie ($H_{E,C}$) reichte von 0.44 bis 0.59. Dies und das Vorkommen einer Vielzahl seltener und lokaler Allele, welche einen hohen Anteil (80.82 %) der Gesamtzahl der amplifizierten Allele bildeten, machen diese Populationen zu einer wichtigen genetischen Ressource. Die genetische Distanz zwischen den Populationen war gering ($D = 0.09$ to 0.29). Dennoch waren die Populationen aus den drei geographischen Regionen klar voneinander abgegrenzt.

Um Zusammenhänge zwischen genetischer Vielfalt von *D. glomerata* und Umweltparametern, d.h. Bewirtschaftungsintensität, Artenvielfalt und Habitateigenschaften, zu bes-

timmen, wurden molekulare und morphologische Marker angewendet. Innerhalb der 20 Populationen des schweizer Fallstudiengebietes gab es signifikante Zusammenhänge zwischen der genetischen Vielfalt ($H_{E,C}$), der Genotypen-Vielfalt nach Shannon (H_G) und Simpson (D_G), und der lokalen Bewirtschaftungsintensität (intensiv/extensiv). Die Bewirtschaftungsintensität könnte somit ein vielversprechender Kandidat für einen indirekten Indikator für genetische Vielfalt von *D. glomerata* in Dauergrasland sein. Es konnten keine Korrelationen mit anderen untersuchten Umweltparametern gezeigt werden.

Beide, sowohl der Datenerhebungsansatz mittels Fragebogen und Interviews als auch der marker-basierte Ansatz unter Verwendung molekularer und morphologischer Marker, sind wertvolle Instrumente zu Bestimmung genetischer Vielfalt in der Landwirtschaft. Der Fragebogen und die demographischen Daten repräsentieren einen einfachen Ansatz um Artenvielfalt sowie Sorten- und Rassenvielfalt auf lokaler (Betrieb, Region) und globaler Ebene zu bestimmen. Der räumliche und zeitliche Verlust von Sorten und auch Rassen kann bestimmt und überwacht werden. Ein gut ausgearbeiteter Fragebogen kann zudem einen detaillierten Einblick in aktuelle Betriebsabläufe, Bewirtschaftungspraktiken, aber auch in die Einstellung des Landwirts in Bezug auf genetische Vielfalt und deren Erhalt liefern. Er zeigt, inwieweit ein Landwirt genetische Vielfalt für eine nachhaltige Landwirtschaft nutzt und welche Stellung der Erhalt von kulturellem oder familiärem Erbe, d.h. von Sorten und Rassen, auf seinem Betrieb einnimmt. Basierend auf den erhaltenen Daten können jedoch keine grundlegenden Aussagen über genetische Erosion innerhalb der untersuchten Betriebe und Regionen getroffen werden. Die dazu benötigten Referenzdaten zur Sorten- und Rassenvielfalt auf Betriebsebene sind zurzeit nicht ausreichend vorhanden. Die mittels des Fragebogens erhobenen Daten und die daraus resultierenden Indikatoren legen dennoch einen wichtigen Grundstein für zukünftige Studien und Vergleiche von genetischer Vielfalt auf Betriebsebene, in europäischen landwirtschaftlichen Produktionssystemen.

Im Gegensatz dazu tragen die marker-basierten Ansätze zum grundlegenden Verständnis von genetischer Vielfalt und Populationsstrukturen von natürlichen Populationen bei. Beide messen die Vielfalt innerhalb einer Art auf genetischer Ebene und bieten wichtige Erkenntnisse zu natürlichen und anthropogenen Faktoren und deren Einfluss auf intraspezifische Vielfalt. Darüber hinaus bilden molekulare und morphologische Marker eine wichtige Basis für das Auffinden, die nachhaltige Nutzung und den Schutz wertvoller Allele, Genotypen und Populationen – das Fundament genetischer Vielfalt innerhalb landwirtschaftlich genutzter Ackerkulturen und Nutztiere.