

forstarchiv 81, 181-188
(2010)

DOI 10.2376/0300-
4112-81-181

© M. & H. Schaper
GmbH

ISSN 0300-4112

Korrespondenzadresse:
wilfried.steiner@
nw-fva.de

Eingegangen:
10.03.2010

Angenommen:
03.05.2010

Genetisches Monitoring am Beispiel der Wildkirsche (*Prunus avium*)

Genetic monitoring using the example of wild cherry (*Prunus avium*)

WILFRIED STEINER¹, CÉLINE JOLIVET² und BERND DEGEN²

¹Abteilung Waldgenressourcen, Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA), Prof.-Oelkers-Str. 6, D-34346 Hann. Münden

²Institut für Forstgenetik, Johann Heinrich von Thünen-Institut (vTI), Bundesforschungsinstitut für Ländliche Räume, Wald und Fischerei, Sieker Landstraße 2, D-22927 Großhansdorf

Kurzfassung

Einleitend wird das Konzept zum genetischen Monitoring für Waldbaumarten in der Bundesrepublik Deutschland vorgestellt. Es verfolgt das Ziel, den Zustand und die Entwicklung genetischer Systeme anhand von Kriterien, Indikatoren und Verifikatoren zu erfassen und damit eine Abschätzung und Bewertung von Einflussfaktoren auf das genetische System zu ermöglichen.

Anhand einer Pilotstudie mit 5 Beständen der Wildkirsche in verschiedenen Bundesländern wird dargestellt, wie das Konzept für diese Baumart umgesetzt werden kann. Dazu werden in einer Vollaufnahme auf einer ausgewählten (Teil-)Fläche ca. 150 reproduktionsfähige Altbäume erfasst, und ein Stammverteilungsplan wird erstellt. Die Naturverjüngung wird auf derselben Fläche repräsentativ mit etwa dem gleichen Stichprobenumfang erfasst. Bei ca. 40 Altbäumen wurde die Blühphänologie beobachtet und möglichst von diesen Bäumen wurde Saatgut einzelbaumweise getrennt von ca. 20 Bäumen geerntet. 50 Samen je Baum sowie alle erfassten Altbäume und Naturverjüngungspflanzen wurden genetisch untersucht (Mikrosatelliten, AFLP, S-Allele).

Die 5 Bestände zeigen deutliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Bestandesstruktur und ihres Blühverhaltens. Die Blühphasen aller Bäume eines Bestandes überlappten zumindest für kurze Zeit. Die Bestände unterscheiden sich z. T. deutlich in ihrer genetischen Variabilität. Die genetische Differenzierung zwischen verschiedenen Kollektiven (Altbäume, Verjüngung und Saatgut der 5 Bestände) zeigt höchstsignifikante Unterschiede, wobei die Kollektive innerhalb eines Bestandes weniger stark differenziert sind als Kollektive verschiedener Bestände. In allen Beständen konnten teilweise sehr hohe Anteile von Klonen aus vegetativer Vermehrung identifiziert werden. Die Klonanteile variierten von 6 % bis 65 % bei den Altbäumen und von 24 % bis 81 % bei der Verjüngung.

Schlüsselwörter: Genetisches Monitoring, Wildkirsche (*Prunus avium*), Phänologie, Mikrosatelliten, genetische Variabilität, Klonstruktur

Abstract

The concept for a genetic monitoring of forest tree species in Germany is presented. It aims at characterizing the state and development of genetic systems by using criteria, indicators and verifiers, thus enabling the estimation and evaluation of impacts on the genetic system.

A pilot study including 5 forest stands of wild cherry in different federal states presents the application of the concept to this species. Therefore a plot comprising approximately 150 adult (fruiting) trees is outlined and a stem distribution map of all cherry trees is drawn up. On the same plot, naturally regenerated young trees are selected representatively at about the same sample size. The flower phenology was observed for about 40 adult trees. 20 of these trees were selected to harvest seeds, which were kept separate for each seed tree. 50 seeds per tree, the naturally regenerated plants and all adult trees were analyzed genetically using microsatellites, AFLP and S-alleles. The 5 stands show marked differences concerning stand structure and flowering phenology. The flowering periods of all trees of within a stand overlapped at least for a short time. The stands clearly differ in genetic variability. The genetic differentiation between various groups of individuals (adult trees, regeneration, seeds of 5 stands) reveals highly significant deviations. The differentiation between groups within stands is less pronounced than the differentiation between groups of different stands. In all stands partly very high proportions of clones resulting from vegetative propagation were identified. The proportions of clones vary from 6% to 65% for the adult trees and from 24% to 81% for the natural regeneration.

Key words: genetic monitoring, wild cherry (*Prunus avium*), phenology, microsatellites, genetic variability, clonal structure

Das Konzept zum genetischen Monitoring in Deutschland

Ausgangslage

Forstliches Monitoring in Deutschland umfasst neben den Erhebungen über Arten-, Altersklassen- und Vorratsverteilung (z. B. die Bundeswaldinventuren) vor allem den Bereich des sogenannten

Umweltmonitorings. Hier werden seit Jahrzehnten Zeitreihen zum Gesundheitszustand des Waldes erfasst und in jährlichen Waldzustandsberichten dokumentiert. Ebenfalls intensiv erhoben werden forsthydrologische Daten zu Meteorologie und Wasserhaushalt sowie Kenngrößen zum Stoffhaushalt (Bodenzustandserhebung, Wasserqualität, Belastungsgrenzen durch Immissionen, EU-Level I/II).

Ziel sind das Erkennen langfristiger Veränderungen und die Entwicklung von Strategien und Maßnahmen, um die Waldbewirtschaftung

tung unter sich wandelnden Umweltbedingungen nachhaltig gestalten zu können.

Eine wichtige Größe für die Nachhaltigkeit ist jedoch auch die genetische Information von Waldbaumpopulationen. Insbesondere die genetische Diversität stellt die Basis für die Anpassungsfähigkeit der Populationen an sich ändernde Umwelten dar und ist damit die Voraussetzung für ihre langfristige Leistungsfähigkeit zur Erfüllung ihrer vielfältigen Funktionen. Daher ist es das Bestreben der Bundesländer-Arbeitsgruppe „Forstliche Genressourcen und Forstsaatgutrecht“, die bestehenden Monitoringsysteme durch ein genetisches Monitoring zu ergänzen.

Genetisches Monitoring

Ein Konzept zum genetischen Monitoring wurde von Kätzel et al. (2005) vorgestellt. Es basiert auf dem 1984 verabschiedeten und 2000 aktualisierten „Konzept zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland“ (Paul et al. 2000). Eine Online-Darstellung findet sich unter <http://blag.fgr.genres.de>.

Das genetische Monitoring verfolgt das Ziel, den Zustand und die Entwicklung genetischer Systeme anhand von Kriterien, Indikatoren und Verifikatoren zu erfassen. Damit wird eine Abschätzung und Bewertung von Einflussfaktoren auf das genetische System von Wäldern ermöglicht und die Voraussetzung für ein genetisches Management als Teil eines nachhaltigen Nutzungskonzeptes von Waldökosystemen geschaffen.

Kriterien sind hierbei die Aufrechterhaltung der zentralen populationsgenetischen Prozesse (Drift, direkte und indirekte Selektion, Paarungssystem und Migration). Die entsprechenden Indikatoren für ein intaktes genetisches System sind demnach:

- das Niveau genetischer Variation bleibt erhalten,
- es gibt keine Veränderungen von Allel- und Genotyphäufigkeiten,
- Paarungssystem und Genfluss verändern sich nicht.

Verifikatoren für eine quantitative Beschreibung der Kriterien und Indikatoren sind beispielhaft in Tabelle 1 dargestellt (Namkoong et al. 1996).

Anhand einer Reihe von Merkmalen (Gefährdung, Seltenheit, wirtschaftliche Bedeutung, Art der Bestäubung, Entfernung der Samenverbreitung, Verfügbarkeit von Primärdaten aus anderen Monitoring-Programmen, Verfügbarkeit genetischer Mar-

ker, Flächenrepräsentanz, Anteil am Bestand) wurden zunächst 10 Baumarten für die Etablierung eines genetischen Monitorings empfohlen. Durch Förderung durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft konnten Pilotprojekte für Rotbuche (Maurer et al. 2008) und Vogelkirsche (Degen et al. 2008) exemplarisch durchgeführt werden. Über das Zweitgenannte wird hier zusammenfassend berichtet.

Material und Methoden

Wildkirsche (*Prunus avium*)

Die Wildkirsche kommt als seltene Nebenbaumart meist nur in Mischung mit anderen Baumarten vor. Als Pionierbaumart weist sie eine vergleichsweise kurze Lebenserwartung von maximal 100 Jahren auf und hat ein hohes Lichtbedürfnis, das im Alter noch ausgeprägter ist als in der Jugend (Burschel und Huss 2003). Für mitteleuropäische Waldbäume relativ selten ist die Bestäubung durch Insekten. Die Samen werden vor allem durch Vögel verbreitet. Neben dem generativen Weg vermag sich die Wildkirsche auch vegetativ über Stockausschlag und vor allem Wurzelbrut zu vermehren und scheint dies auch trotz häufiger und ergiebiger Fruktifikation in beträchtlichem Ausmaß zu tun (Röhrig und Bartsch 1992).

Monitoringflächen

Fünf Bestände (Flächenübersicht in Tabelle 2) wurden für die Einrichtung von Monitoringflächen so ausgewählt, dass alle 4 Herkunftsgelände der Vogelkirsche repräsentiert sind. Die Flächen Chorin, Einhaus und Reutlingen wurden vollständig erfasst und beprobt, auf den Flächen Hildesheim und Spargründe wurden zusammenhängende Bereiche von je ca. 150 Altbäumen festgelegt.

Die verfügbaren Unterlagen geben wenig Auskunft über die Bestandesgeschichten der Vogelkirsche auf den Untersuchungsflächen. Die Fläche Einhaus ist ein historisch alter Waldstandort, es gibt keine Hinweise auf eine künstliche Einbringung der Vogelkirsche. In Chorin ist von einer künstlichen Einbringung auszugehen. Im Hildesheimer Wald handelt es sich ebenfalls um einen alten Waldstandort, Kirsche wurde dort aber nachweislich gepflanzt. Wahrscheinlich wurde dafür das örtlich verfügbare Material verwendet. Dieser Bestand ist ein zugelassener Saatguterntebestand (DKV-Sonderherkunft „Hildesheimer Wald“).

Tab. 1. Verifikatoren der Indikatoren genetischer Prozesse.
Verifators of indicators of genetic processes.

Indikatoren	Verifikatoren
Level genetischer Variation	genetische Diversität; Prozent polymorpher Loci effektive Anzahl an Allelen genetische Variation adaptiv bedeutsamer Merkmale Fixierungsindizes Anzahl potenzieller Elternbäume
Gerichtete Änderungen der Gen- bzw. Genotypfrequenzen	Unterschiede in den Genotypfrequenzen verschiedener Kohorten Unterschiede in den Phänotypfrequenzen verschiedener Kohorten Unterschiede in den Altersklassen-Verteilungen
Paarungssystem	Selbstbefruchtungsrate Sexualsystem Abundanz der Bestäuber Pool der potenziellen Eltern Hohlkornanteil und Keimprozent
Migration	Ausmaß der genetischen Differenzierung zwischen Populationen Pollenverbreitung Samenverbreitung Isolation durch Barrieren räumliche Aggregation unterschiedlicher Paarungstypen

Tab. 2. Flächen für das genetische Monitoring der Wildkirsche.
Study plots for the genetic monitoring of wild cherry.

Name / Ort	Einhaus	Chorin	Spargründe	Hildesheim	Reutlingen
Bundesland	Schleswig-Holstein	Brandenburg	Sachsen	Niedersachsen	Baden-Württemberg
Herkunftsgebiet-Nr.	814 01	814 02	814 03	814 04	814 04
Bezeichnung des Herkunftsgebiets	Norddeutsches Tiefland	Mittel- und Ostdeutsches Tief- und Hügelland	Südostdeutsches Hügell- und Bergland	West- und Süddeutsches Bergland sowie Alpen und Alpenvorland	West- und Süddeutsches Bergland sowie Alpen und Alpenvorland
Forstort	Kreis-FoA Farchau, Revier Ravenskamp, Abt. 124a, UAbt. 1,2,3,4; Stadt Ratzeburg, Abt. 5a, 5b	Oberförsterei Chorin, Revier Chorin, LK Barnim, Abt. 105 a ³	Sächsisches Forstamt Bad Gottleuba, Revier Weesenstein, Waldteil K, Abt. 538 b ⁴	Nds. Forstamt Liebenburg, Försterei Sorsum, Abt. 2217a, Abt. 2219a	Forstamt Reutlingen, Distrikt 06, Abt. 8
Meereshöhe (m ü. NN)	30	80	175-200	200-230	640-680
Flächengröße (ha)	18 Gesamtfläche	15,2 Gesamtfläche 0,4 reduzierte Fläche	0,5 reduzierte Fläche	21,6 Gesamtfläche 3 Monitoringfläche	3 reduzierte Fläche 6,8 Gesamtfläche
Alter Altbäume (Jahre)	10-120	75	40-60	ca. 60	56
Stichprobenumfang (N)					
Altbäume	169	80	138	146	76
davon Blühbonitur	40	44	59	42	34
davon Samenernte	14	20	13	29	14
Samen insgesamt	903	1.097	906	1150	729
Naturverjüngung	149	160	134	178	137

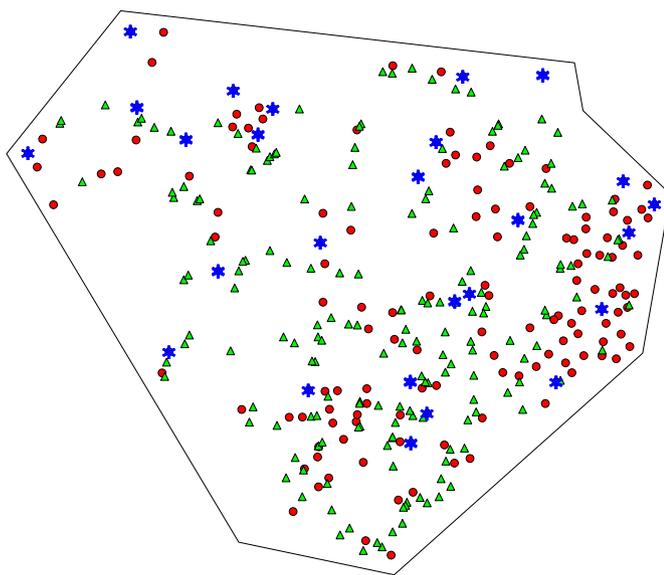


Abb. 1. Plan der Kirschen-Monitoringfläche Hildesheim. Rote Punkte: Altbäume. Grüne Dreiecke: Beprobte Naturverjüngung. Blaue Sterne: Altbäume, von denen Saatgut untersucht wurde. Die Entfernung zwischen der östlichsten und der westlichsten Polygonecke beträgt 225 m.

Map of the wild cherry monitoring plot Hildesheim. Red dots: adult trees. Green triangles: natural regeneration sampled. Blue asterisks: Adult trees, from which seeds were sampled. The distance between the easternmost and the westernmost angles is 225 m.

Erhebung phänotypisch-morphologischer Daten

Von allen Altbäumen wurden Brusthöhendurchmesser, Baumhöhe, Höhe des Kronenansatzes, die soziologische Stellung (Kraftsche Klasse) sowie die Koordinaten erfasst, und ein Stammverteilungsplan wurde erstellt. Abbildung 1 zeigt beispielhaft den Plan der Fläche Hildesheimer Wald. In Tabelle 3 sind die phänotypisch-morphologischen Kenngrößen zusammengestellt.

An einem Teil der Altbäume (s. Tabelle 2) wurden 2006 blühphänologische Beobachtungen angestellt, im Bestand Hildesheimer Wald erfolgte eine 2008 eine Folgebeobachtung. Anhand eines einfachen Boniturschlüssels wurde die Blütenmenge eines Baumes in 4 Stufen (0-3) angesprochen und durch wiederholte Beobachtungen an mehreren Terminen der zeitliche Blühverlauf bestimmt. In 5 Stufen (0-4) wurde eingeschätzt, ob sich gar keine oder bereits bis 25 %, 50 %, 75 % oder über 75 % der Blüten geöffnet hatten.

Von der Naturverjüngung wurden repräsentativ 130 bis 180 Individuen ausgewählt und ihre räumliche Lage, Höhe und Durchmesser bestimmt.

Saatgut

Saatgut wurde von 14 bis 29 Bäumen geerntet (s. Tabelle 2), die ursprünglich angestrebte Zahl von mindestens 20 Bäumen konnte wegen der schlechten Fruktifikation nur in zwei Beständen erreicht werden. Die Beschaffenheit der Bestandesmischproben wurde gemäß den ISTA-Regeln beschrieben (ISTA 2003). Erhoben wurden Tausendkornmasse und die Anteile der lebensfähigen, nicht lebensfähigen, hohlen bzw. faulen sowie der durch Insektenfraß zerstörten Samen.

Erhebung genetischer Daten

Altbäume, Naturverjüngung und Samen wurden mit Mikrosatelliten untersucht. Die DNA-Extraktion erfolgte nach dem Protokoll von Dumolin et al. (1995). Acht Mikrosatelliten wurden unter-

Tab. 3. Waldbauliche Kenngrößen der Wildkirschen-Populationen.
Silvicultural parameters of the wild cherry populations.

Bestand	Pop.-Umfang (N)	Pop.-Dichte (N/ha)	BHD (cm)	Höhe (m)	Kronenansatz (m)	Baumklasse nach Kraft
Einhaus	169	9	36 ± 15	24,2	12,2	2,8 ± 1,0
Chorin	80	5	40 ± 12	24,6	13,0	2,3 ± 1,1
Spargründe	150	230	23 ± 6	18,2	14,0	2,7 ± 0,9
Hildesheim	151	54	30 ± 7	22,8	13,6	1,9 ± 1,1
Reutlingen	76	11	30 ± 6	26,5	15,1	2,0 ± 0,4

sucht: UDP96_001, UDP98_021, UDP98_410, UDP98_411, UDP98_412, UDP96_005 (s. Schueler et al. 2003 und Testolin et al. 2004), BPPCT_034, BPPCT_040 (s. Dirlewanger et al. 2002). Im Bestand Reutlingen konnten nur vier der acht Marker untersucht werden, deshalb erfolgt die Auswertung teilweise getrennt für die beiden Gruppen von je 4 Mikrosatelliten. Die 1. Gruppe enthält die in Reutlingen nicht auswertbaren Marker, die 2. Gruppe umfasst die in allen 5 Beständen auswertbaren Marker.

An Stichproben von 62 bis 65 Altbäumen wurden zusätzlich AFLP-Marker untersucht (Vos et al. 1995). Dazu wurden vier Kombinationen von Restriktionsenzymen und Primern (EcoATA + MseAGT, EcoATA + MseACT, EcoATA + MseATC, EcoATA + MseCAA) verwendet.

Alle Altbäume wurden zudem an ihrem S-Locus genotypisiert. Dazu wurde die von Sonneveld et al. (2001, 2003) für Kulturkirschen entwickelte Methode eingesetzt, die auch bei Wildkirschen angewandt werden kann (Schueler et al. 2003, De Cuyper et al. 2005). Von zwei Primern (PaConsI und PaConsII), die im Bereich des ersten bzw. zweiten Introns des S-Locus schneiden, erhält man durch PCR für die S-Allele typische Fragmentlängen, die in Agarosegelen aufgetrennt werden. Die Benennung der S-Allele folgt den von Sonneveld et al. (2003) und de Cuyper et al. (2005) vorgenommenen Zuordnungen von Fragmentlängenkombinationen zu Allelbezeichnungen.

Populationsgenetische Maße

Mit den Programmen GDA_NT (Degen et al. 1999) und GSED (Gillet 1998) wurden als Maße der genetischen Vielfalt bestimmt: die Vielfalt als absolute Anzahl Allele (A), die Diversität als effektive Anzahl Allele (Ae), welche die relativen Häufigkeiten der Allele berücksichtigt, sowie die gametische Diversität (vgam) als Maß für die genetische Variabilität der produzierbaren Pollen- und Eizellen.

Die Berechnung der genetischen Differenzierung zwischen verschiedenen Kollektiven folgt den Konzepten des genetischen Abstands d (Gregorius 1978) und der Differenzierung δ (Gregorius 1987, 1988, 1996) und wurde mit dem Programm GDA_NT durchgeführt, Signifikanteste wurden mittels Permutationen durchgeführt (Degen et al. 1999).

Ergebnisse und Diskussion

Morphologie

Insgesamt zeigen die 5 Bestände ein recht heterogenes Erscheinungsbild. Die mittleren Brusthöhendurchmesser der Altbäume variieren zwischen 40 cm (Chorin) und 23 cm (Spargründe). Besonders auffallend sind die Unterschiede in der Populationsdichte. Die Dichte der Bäume schwankt zwischen 230 Individuen pro ha in Spargründe (dieser Bestand weist die geringsten Durchmesser auf) und weniger

als 10 Kirschen je ha in Einhaus und Chorin (die Beständen mit den stärksten Bäumen). Allerdings erklären die Dimensionsunterschiede nur einen sehr kleinen Teil der Dichteunterschiede. Wesentliche Ursachen sind hier die unterschiedlichen Anteile anderer Baumarten in den Beständen.

Blühphänologie

Erwartungsgemäß begannen die südlichen Bestände früher zu blühen als die nördlichen. In Reutlingen war der Blühbeginn bereits um den 20.04., in Hildesheim und Einhaus erst am 02. bzw. 04.05., also fast zwei Wochen später. Die längste Blühdauer wurde mit durchschnittliche 12 Tagen in Reutlingen beobachtet, in Hildesheim war bereits 7 Tage nach Blühbeginn der größte Teil der Blüten schon wieder verwelkt, sodass sich die reproduktive Phase im Wesentlichen auf eine Woche beschränkte. Der insgesamt auch für diesen nördlichen Standort sehr späte Blühbeginn führte zu einer insgesamt sehr gedrängten Blühphase. Dies zeigt sich vor allem im Vergleich zur 2008 wiederholten Blühbonitur derselben Bäume. Hier begann die Blüte bereits am 12.04., d.h. fast 3 Wochen früher als 2006 und dauerte bis 02.05., also insgesamt 3 Wochen. Abb. 2 illustriert den Blühverlauf der in Hildesheim beobachteten 42 Bäume, geordnet nach dem Blühbeginn 2006. Im Vergleich der beiden Jahre fällt der unterschiedliche Blühbeginn der Einzelbäume 2008 auf, hier zeigten sich Unterschiede von mehr als 10 Tagen, während beim späten Blühbeginn 2006 praktisch alle Bäume innerhalb von 2 Tagen in Blüte standen.

Das abrupte Ende der Blüte in beiden Jahren ist auch auf den Abschluss der Beobachtungsperiode zurückzuführen, einzelne Bäume können noch wenige Tage länger geblüht haben. Allerdings waren zum Beobachtungsende die Blüten der meisten Bäume schon weitgehend und die der restlichen Bäume bereits zum Teil verwelkt. Aus populationsgenetischer Sicht bemerkenswert ist, dass in beiden Jahren alle beobachteten Bäume gemeinsame Blühphasen hatten, sodass grundsätzlich Paarungskontakt zwischen allen Individuen möglich war. Dies galt auch für Beobachtungen in den anderen Beständen im Jahr 2006.

Saatgut

Die Saatgutbeschaffenheit zeigte zwischen den Beständen deutliche Unterschiede (s. Tabelle 4).

Der maximale Unterschied in der Tausendkornmasse zwischen zwei Beständen betrug 21 %. Deutlich größere Unterschiede erbrachte die Keimprüfung. Mit 62 % keimten Samen aus dem Bestand Hildesheim doppelt so häufig wie Samen aus dem Bestand Chorin (29 %). Insektenfraß erklärt diese Unterschiede nur teilweise, denn der Fraßschaden am geernteten Saatgut war in Chorin am geringsten, während der signifikant größte Fraßschaden in Reutlingen nicht zu einer stark reduzierten Keimfähigkeit führte. Tote und verfaulte Embryonen bzw. Keimlinge sind die Hauptursache für unterschiedliche Keimprozentage. Die ebenfalls durchgeführten Tetrazoliumteste

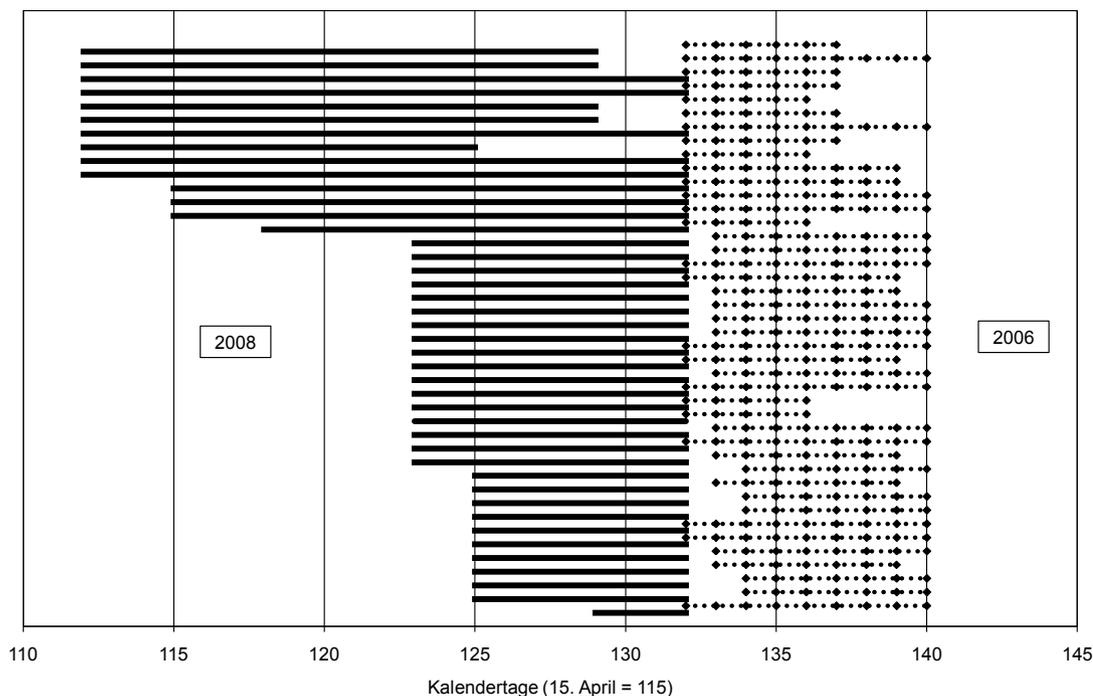


Abb. 2. Blühphänologie der Kirschen-Monitoringfläche Hildesheim. Querlinien stellen die Blühphase einzelner Bäume in den Jahren 2006 (gepunktet) und 2008 (durchgezogen) dar. Die Reihenfolge der Bäume von oben nach unten ist für beide Jahre identisch.

Flowering phenology of the cherry monitoring plot Hildesheim. Horizontal lines represent flowering periods of single trees in 2006 (dotted) and in 2008 (solid). The sequence of trees from top to bottom is the same for both years.

bestätigten im Wesentlichen die Ergebnisse der Keimprüfung, die Extreme kommen auch hier aus Hildesheim mit 65 % und Chorin mit 33 % lebensfähiger Samen. Die Unterschiede werden noch größer, wenn die Anzahl keimfähiger Samen je kg Saatgut betrachtet wird. 949 keimfähigen Samen in Chorin stehen 2.351 in Hildesheim gegenüber, das entspricht Faktor 2,5.

Neben den Unterschieden in der Saatgutbeschaffenheit zwischen Beständen fielen auch Unterschiede zwischen den Früchten verschiedener Mutterbäume desselben Bestandes auf. Diese wurden nicht quantifiziert, Abbildung 3 illustriert diese Beobachtung jedoch an einem Beispiel aus dem Bestand Hildesheim, einem nach dem Forstvermehrungsgesetz (FoVG) zugelassenen Erntebestand.

Allerdings dürfen die Ergebnisse der Saatgutuntersuchung nicht überbewertet werden, denn die Art der Saatgutgewinnung (Schüttern in Chorin und Einhaus, Pflücken in Hildesheim und Reutlingen, kombiniertes Verfahren in Spargründe) kann eine Art Vorselektion durch den Pflücker in Richtung vitaleres Saatgut bedingt haben. Außerdem waren die Saatgutmengen zum Teil sehr gering, sodass nach Auswahl von 50 Samen mit ausgebildetem Embryo teilweise

nur noch wenige Samen pro Baum übrig blieben. Auch bei diesem Auswahlprozess kann eine unbewusste Selektion nicht ausgeschlossen werden. In den für die Saatgutuntersuchung erstellten Mischproben waren unterschiedliche Anzahlen von Mutterbäumen vertreten, und zwar in teilweise sehr unterschiedlichen Anteilen. Dies dürfte jedoch auch bei der kommerziellen Saatguternte regelmäßig der Fall sein, sodass die Unterschiede zwischen Saatgutpartien auch in der Praxis in diesen Größenordnungen vorstellbar sind.

Genetische Variabilität

Die Maße für die allelische Vielfalt (A), die allelische Diversität (A_e) und die gametische Diversität (v_{gam}) der Altbestände sind in Tabelle 5 dargestellt.

Die Bestände Hildesheim und Einhaus zeigen hohe Diversitätswerte, wohingegen die Altkirschen der Bestände Chorin und Spargründe über alle Genmarker betrachtet geringe Werte aufweisen. Der Bestand Reutlingen nimmt eine Mittelstellung ein.

Tab. 4. Saatgutbeschaffenheit in den Wildkirschen-Monitoringflächen 2006. Seed properties in the wild cherry monitoring plots 2006.

Bestand	TKM (g)	keimfähige Samen (%)	Insektenfraß (%)	sonstige nicht keimfähige Samen (%)	Anzahl keimfähiger Samen je kg Saatgut
Einhaus	320	47 ^b	12 ^b	41	1.471
Chorin	305	29 ^c	9 ^b	62	949
Spargründe	294	59 ^a	11 ^b	30	2.006
Hildesheim	264	62 ^a	14 ^b	24	2.351
Reutlingen	264	47 ^b	30 ^a	23	1.778

TKM: Tausendkornmasse (berechnet auf eine einheitliche Feuchte von 20 %), verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (zweiseitiger Test bei 2,5 % Signifikanzschranke).

TKM: thousand kernel weight (calculated for a standard humidity of 20%), different letters indicate significant differences (two-sided test at a 2,5% significance bound).



Abb. 3. Unterschiedliche Fruchtmorphologie bei zwei Mutterbäumen des Bestandes Hildesheim.
Different fruit morphology of two seed trees of the stand Hildesheim.

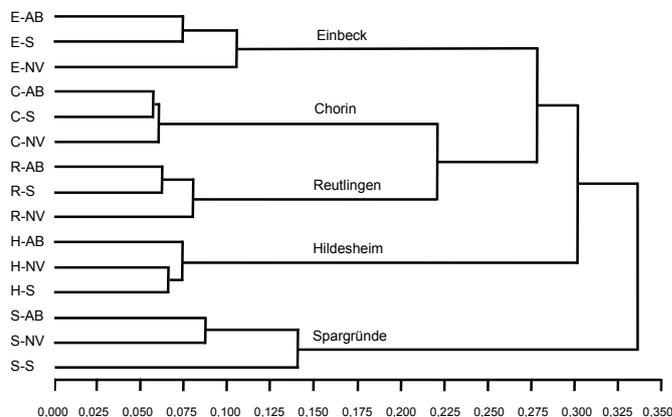


Abb. 4. Clusteranalyse des genetischen Abstandes d auf der Basis von 4 Mikrosatelliten-Genorten. Die Bezeichnung der Kollektive auf der Ordinate setzt sich zusammen aus dem Anfangsbuchstaben des Bestandes (E: Einhaus, C: Chorin, R: Reutlingen, H: Hildesheim, S: Spargründe), gefolgt von einer Abkürzung für das Bestandeskollektiv (AB: Altbäume, NV: Naturverjüngung, S: Saatgut).

Cluster analysis of the genetic distance d based on 4 microsatellite gene loci. The denotation of collectives on the ordinate is composed of an abbreviation of the stand (E: Einhaus, C: Chorin, R: Reutlingen, H: Hildesheim, S: Spargründe) followed by a letter indicating the developmental stage (AB: adult trees, NV: natural regeneration, S: seeds).

Genetische Differenzierung

Die paarweisen genetischen Abstände zwischen allen 15 Kollektiven (Altbäume, Naturverjüngung und Saatgut in 5 Beständen) für die vier gemeinsam untersuchten Mikrosatelliten waren in fast allen der 105 Vergleiche hochsignifikant auf dem 99,9 %-Niveau, d. h., ihre Unterschiede können nicht durch Stichprobeneffekte verursacht sein. Dies gilt auch für Kollektive aus demselben Bestand. Lediglich in vier Fällen waren die Altbestände von ihren Nachkommen (Saatgut bzw. Naturverjüngung) nicht signifikant unterschiedlich, in einem weiteren Fall nur auf dem 95 %-Niveau signifikant. Die Darstellung der genetischen Abstände im Dendrogramm (s. Abbildung 4) zeigt eine deutliche Zweistufigkeit: Die genetischen Abstände zwischen verschiedenen Entwicklungsstadien desselben Bestandes sind zwar signifikant unterschiedlich, aber dennoch deutlich geringer als die genetischen Abstände zwischen Kollektiven verschiedener Bestände. Für die vier Mikrosatelliten ergibt sich eine Gesamtdifferenzierung δ_T von 0,22. Dieser Wert ändert sich nur unwesentlich zu 0,21, wenn die Berechnung für acht Mikrosatelliten-Genorte ohne den Bestand Reutlingen durchgeführt wird.

Tab. 5. Genetische Vielfalt und Diversität in fünf Wildkirschen-Monitoringbeständen.
Genetic multiplicity and diversity in 5 wild cherry monitoring plots.

Bestand	SSR 1. Gruppe		SSR 2. Gruppe		S-Locus		AFLP		SSR 8 Marker
	A	A _e	A	A _e	A	A _e	A	A _e	v _{gam}
Einhaus	37	3,85	24	3,10	15	9,94	82	1,31	14.335
Chorin	30	3,65	21	2,55	11	6,33	82	1,35	6.692
Spargründe	26	3,00	19	2,45	15	7,20	82	1,29	5.078
Hildesheim	36	3,72	22	3,62	19	8,27	85	1,34	26.476
Reutlingen	--	--	22	3,50	15	9,67	79	1,26	--

SSR: single sequence repeats (Mikrosatelliten), AFLP: amplifizierter Fragmentlängen-Polymorphismus, A: absolute Anzahl Allele, A_e: effektive Anzahl Allele (Diversität), v_{gam}: gametische Diversität.

SSR: single sequence repeats (microsatellites), AFLP: amplified fragment length polymorphism, A: absolute number of alleles, A_e: effective number of alleles (diversity), v_{gam}: gametic diversity.

Tab. 6. Klonanteile unter Altbäumen und Naturverjüngung in 5 Wildkirschen-Monitoringbeständen.
Proportion of clones among adult trees and natural regeneration in 5 wild cherry monitoring plots.

	Einhaus	Chorin	Spargründe	Hildesheim	Reutlingen
Altbäume	14 %	6 %	65 %	29 %	17 %
Naturverjüngung	56 %	24 %	81 %	28 %	78 %

Klonale Strukturen

Anhand der SSR-Genorte sind Individuen mit identischem Genotyp erkennbar, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit durch vegetative Vermehrung entstanden sind. Dies gilt sowohl für die Altbäume als auch für die Naturverjüngung. Der Anteil solcher Klone ist insgesamt relativ hoch und variiert erheblich zwischen den Beständen (s. Tabelle 6).

Besonders bemerkenswert ist der hohe Klonanteil im Bestand Spargründe. Insgesamt scheint die Bedeutung der Vegetativvermehrung aus Stockausschlag und vor allem Wurzelbrut von erheblicher Bedeutung zu sein. Die Klone treten erwartungsgemäß räumlich geklumpt auf. Abbildung 5 illustriert dies am Beispiel des Bestandes Hildesheim. Hier erkennt man 5 Klone mit Wiederholungszahlen von 3 bis 15. Zwischen den Kloneschwistern befinden sich auch Altbäume mit anderem Genotyp.

Durchschnittlich besteht etwa die Hälfte der Naturverjüngung aus Klonen, bei den Altbäumen beträgt der Anteil durchschnittlich nur ein Viertel. Eine Erklärung für diesen Unterschied könnte darin liegen, dass unter ungünstigen Bedingungen für junge Kirschen, z. B. unter einem relativ dichten Kronendach, die Wurzelschösslinge besser überleben können als Sämlinge, weil sie durch die Anbindung an ein großes Wurzelsystem eines Altbaumes besser versorgt sind. Unter günstigeren Entwicklungsbedingungen sind Sämlinge dann wahrscheinlich konkurrenzfähiger und können sich zu einem größeren Anteil behaupten.

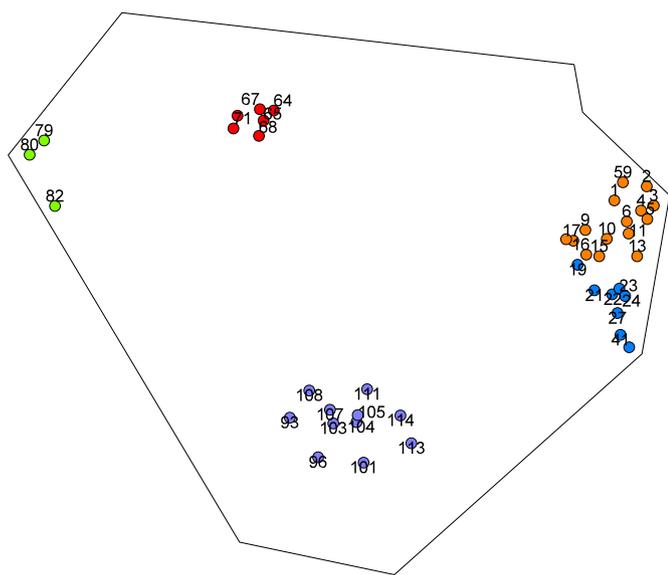


Abb. 5. Räumliche Verteilung von Klonen unter den Altbäumen des Wildkirschen-Bestandes Hildesheim. Kreise stellen Altbäume dar, gleiche Farben stellen Klone dar. Nummern sind Baumnummern. Der Abstand zwischen den Bäumen Nr. 93 und Nr. 113 beträgt 43 m.

Spatial distribution of clones among the adult trees of the wild cherry stand Hildesheim. Circles denote adult trees; the same colours denote the same clone; figures are tree figures. The distance between trees no. 93 and no. 113 is 43 m.

Der Klonanteil im Hildesheimer Altbestand ist mit 29 % zwar nur halb so groß wie der in Spargründe, liegt aber immer noch deutlich über dem der anderen Bestände. Dies ist deshalb bemerkenswert, weil der Bestand nach den Unterlagen der Forsteinrichtung aus Pflanzung entstanden ist. Offensichtlich ist bei der Dokumentation nicht erkannt worden, dass Reste der Vorbestockung Ausschlagpotenzial haben. Diese offensichtliche Mischung von Pflanzung und erhaltenen Individuen des Vorbestandes erklärt möglicherweise die hohen Vielfalts- und Diversitätsmaße dieses Bestandes.

Ausblick

Die durchgeführten Arbeiten zum genetischen Monitoring stellen eine erste Zustandsbeschreibung dar. Die erhobenen Daten, vor allem die genetischen Analysen, erlauben noch die Bearbeitung zahlreicher weiterer Detailfragen. Über Aspekte des Paarungssystems, der räumlichen Strukturen sowie der Pollen- und Samenverbreitung wird noch an anderer Stelle berichtet werden. Interessant werden zukünftige Folgeaufnahmen sein, die Aufschluss über Art und Ausmaß möglicher Änderungen der genetischen Strukturen und des genetischen Systems geben. Damit wird die Grundlage geschaffen für ein gezieltes Management der genetischen Ressourcen als Grundlage für eine auch aus genetischer Sicht nachhaltige Waldbewirtschaftung.

Danksagung

Die Arbeiten wurden im Rahmen eines Auftrags („Erfassung der genetischen Struktur der Vogelkirsche (*Prunus avium*) als Grundlage für ein genetisches Monitoring wichtiger Waldbaumarten in Deutschland“, Az. 05/BE003/2) durchgeführt. Der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung als Auftraggeber sowie allen Projektpartnern und ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern (Arbeitsbereich Weltforstwirtschaft im Zentrum Holzwirtschaft der Universität Hamburg, Abteilung Waldgenressourcen der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt, Abteilung Waldökologie der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Institut für Forstgenetik des Johann Heinrich von Thünen-Instituts) sei für die Finanzierung und die Zusammenarbeit herzlich gedankt.

Literatur

- Burschel P., Huss J. 2003. Grundriss des Waldbaus. 3. Aufl. Eugen Ulmer, Stuttgart
- De Cuyper B., Sonneveld T., Tobutt K.R. 2005. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries. *Mol. Ecol.* 14, 945-955
- Degen B., Streiff R., Ziegenhagen B. 1999. Comparative study of genetic variation and differentiation of two pedunculate oak (*Quercus robur*) stands using microsatellite and allozyme loci. *Heredity* 83, 597-603
- Degen B., Jolivet C., Liesebach H., Hoeltken A., Dounavi A., Fladung M., Naujoks G., Schneck V., Stauber T., Steiner W., Köhl M. 2008. Erfassung der genetischen Struktur der Vogelkirsche (*Prunus avium*) als Grundlage für ein genetisches Monitoring wichtiger Waldbaumarten in Deutschland. Projektbericht 05/BE003/2. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung, Bonn
- Dirlewanger E., Cosson P., Tavaud M., Aranzana M.J., Poizat C., Zanetto A., Arus P., Laigret F. 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet.* 105, 127-138

- Dumolin S., Demesure B., Petit R.J. 1995. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91, 1253-1256
- Gillet E. 1998. GSED – Genetic structures from electrophoresis data. Computer program and user's manual. Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Universität Göttingen (<http://www.uni-forst.gwdg.de/forst/fg/software.htm>)
- Gregorius H.-R. 1978. The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Mathematical Bioscience* 41, 253-271
- Gregorius H.-R. 1987. The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. *Theor. Appl. Genet.* 74, 397-401
- Gregorius H.-R. 1988. The meaning of genetic variation within and between subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 76, 947-951
- Gregorius H.-R. 1996. Differentiation between populations and its measurement. *Acta Biotheoretica* 44, 23-36
- ISTA – International Seed Testing Association (ed.) 2003. The International Rules for Seed Testing. Single paper collection with amendments 2004, 2005, 2006. Bassersdorf, Switzerland
- Kätzel R., Maurer W.D., Konnert M., Scholz F. 2005. Genetisches Monitoring in Wäldern. *Forst und Holz* 60, 179-183
- Maurer W., Cremer E., Degen B., Konnert M., Tröber U., Jolivet C., Liesebach H., Fladung M., Schneck V., Scholz F., Köhl M., Brandt R., Jenner R., Naujoks G., Stauber T., Weckfort G., Münch E. 2008. Erfassung der genetischen Struktur der Rotbuche (*Fagus sylvatica*) als Grundlage für ein genetisches Monitoring wichtiger Waldbaumarten in Deutschland. Projektbericht 05/BE003/1. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung, Bonn
- Namkoong G., Boyle T., Gregorius H.-R., Joly H., Savolainen O., Wickneswari R., Young A. 1996. Testing criteria and indicators for assessing the sustainability of forest management: Genetic criteria and indicators. Center for International Forestry Research (CIFOR) Working Paper No. 10, Bogor, Indonesia
- Paul M., Hinrichs T., Janßen A., Schmitt H.P., Soppa B., Stephan B.R., Dörflinger H. 2000. Konzept zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland (unter Mitarbeit von Arenhövel W., Franke A., Kätzel R., Kleinschmitt J., Muhs H.-J., Natzke E., Ruetz W., Schilling W., Tabel U.) Sächsische Landesanstalt für Forsten (Hrsg.), Pirna-Graupa
- Röhrig E., Bartsch N. 1992. *Waldbau auf ökologischer Grundlage*. Bd. 1: Der Wald als Vegetationsform und seine Bedeutung für den Menschen. 6. Aufl. Parey, Hamburg u. Berlin
- Schueler S., Tusch A., Schuster M., Ziegenhagen B. 2003. Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) – markers for individual identification and reproductive processes. *Genome* 46, 95-102
- Sonneveld T., Robbins T.P., Boskovic R., Tobutt K.R. 2001. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. *Theor. Appl. Genet.* 102, 1046-1055
- Sonneveld T., Tobutt K.R., Robbins T.P. 2003. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S1 to S16 using consensus and allele-specific primers. *Theor. Appl. Genet.* 107, 1059-1070
- Testolin R., Messina R., Lain O., Marrazzo M.T., Huang W.G., Cipriani G. 2004. Microsatellites isolated in almond from an AC-repeat enriched library. *Mol. Ecol. Notes* 4: 459-461
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijmans M., van de Lee T., Hornes M., Friters A., Pot J., Paleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414