



Schlussbericht

zum Vorhaben

Thema:

Auswertung vorhandener genetischer und phänologischer Daten aus niedersächsischen Vorkommen der Vogelkirsche und zum Eichenartenkomplex (KirEiGen)

Datum der Veröffentlichung:

30. Dezember 2024

Autor:innen:

Nicole Opfermann, Steffen Fehrenz, Dr. Katharina Budde, Dr. Aki Höltken

Zuwendungsempfänger:

**Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt,
Abteilung Waldgenressourcen**

Projektlaufzeit:

01.06.2022 – 31.07.2024

Förderung:

**Land Niedersachsen im Rahmen des Sondervermögens „Wirtschaftsförderfonds – Ökologischer Bereich“ (Maßnahmenpaket Stadt.Land.Zukunft-SLZ),
Maßnahme: Forschung zur Anpassung klimaresilienter Wälder**



GESELLSCHAFTSVERTRAG
Stadt.Land.Zukunft.

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Im Rahmen des Sondervermögens „Wirtschaftsförderfonds – Ökologischer Bereich (Maßnahmenpaket „Stadt.Land.Zukunft – SLZ“) und hier der Maßnahme „Forschung und Anpassung klimaresilienter Wälder“ beinhaltet das Teilprojekt „Auswertung vorhandener genetischer und phänologischer Daten aus niedersächsischen Vorkommen der Vogelkirsche und zum Eichenartenkomplex“ (*KirEiGen*) die folgenden Ziele:

- Mit Hilfe genetischer Marker wurde die Häufigkeit von Hybridisierung und Introgression von Kultatkirschen in Vorgelkirschenbeständen und Anpflanzungen evaluiert.
- Dabei sollte untersucht werden, ob ein erhöhter Grad an Hybridisierung und Introgression mit schlechteren Wuchsmerkmalen einhergeht.

Untersucht wurden Absaaten und Altbäume der Vogelkirsche aus dem Hildesheimer Wald, der Bestand Stadtwald Weilburg mit auffälliger Phänologie, Nachkommenschaften und Altbäume der Samenplantage Grohnde, sowie Samen und Altbäume aus verschiedenen Samenplatten mit unterschiedlicher Distanz zu Kultatkirschenanpflanzungen.

Ein weiterer Arbeitsschwerpunkt waren erste Studien zum heimischen Eichenartenkomplex (Stiel-, Trauben- und Flaumeiche). Auch wenn unsere heimischen Eichen als Lichtbaumarten bei der Wiederbegründung von Freiflächen eine große Bedeutung haben, sind die genetischen Anpassungspotenziale dieser Baumartengruppe nahezu unberücksichtigt geblieben. Um genetisch-physiologische Studien künftig durchführen zu können, ist die Produktion von standardisierten Versuchspflanzen dringend erforderlich. Hier bietet die *In-vitro*-Vermehrung große Vorteile, denn die Produktion von Versuchsgliedern ist dabei unbegrenzt und jahreszeiten-unabhängig möglich und die Versuchspflanzen können in ihrer jeweiligen Lebensphase für die Versuchsdurchgänge synchronisiert werden. Diese Methode bietet erhebliche Potenziale zur Effizienzsteigerung und zeitlichen Beschleunigung von Forschungs- und Züchtungsvorhaben, was in Anbetracht des hohen Veränderungsdrucks durch die Dynamik des Klimawandels von großer Bedeutung ist. Zur Untersuchung der Eichenarten wurden folgende Ziele formuliert:

- Mit Hilfe von Mikrosatelliten sollen artübergreifende Marker zur Differenzierung der in Mitteleuropa natürlich vorkommenden Arten *Quercus robur* (Stieleiche), *Quercus petraea* (Traubeneiche) und *Quercus pubescens* (Flaumeiche) getestet werden.
- Für diese drei Arten sollen *In-vitro*-Protokolle, für deren Vermehrung zur Produktion von Prüfgliedern, für zukünftige Trockenstresstests, angewendet werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA) führt regelmäßig Drittmittelprojekte durch und verfügt über alle personellen, technischen und wissenschaftlichen Voraussetzungen für die erfolgreiche Bearbeitung und verwaltungstechnische Abwicklung dieses Projektes.

Für die Bearbeitung der Projektaufgaben wurde während der Laufzeit des Vorhabens eine 0,75 Stelle eingerichtet, um dem Arbeitsumfang gerecht zu werden. Für die Mitarbeiterin wurde an der NW-FVA die notwendige Infrastruktur (Arbeitsplatz, Computer, Telefon, Genetiklabor, Dienstwagen) bereitgestellt. Weiterhin konnte die Mitarbeiterin uneingeschränkt auf bereits vorhandene genetische Daten der NW-FVA zugreifen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Projektlaufzeit umfasste den Zeitraum vom 06.02.2022 bis zum 31.07.2024. Nachfolgend werden die Planung und der Projektablauf dargestellt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Zeitliche Bearbeitung der Arbeitspakete im Projekt

Arbeitspakete	Jahre	2022			2023			2024		
		Quartale	2	3	4	1	2	3	4	1
Evaluierung und Bonituren der Versuchsflächen der Vogelkirsche										
Probensammlung der Vogelkirsche										
DNA Extraktion, Test und Optimierung der DNA-Marker der Vogelkirsche										
Genotypisierung aller Vogelkirschenproben										
Auswertung und Zusammenführung aller Ergebnisse										
Etablierung der DNA-Marker der Eichen										
In-vitro-Etablierung, Vermehrung und Pflanzenproduktion von Eichen										
Anfertigung von Publikationen										

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

4.1 Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden

Es wurden innerhalb des Projektes keine schutzwürdigen Verfahren eingesetzt.

4.2 Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste

Für die Literaturrecherche wurden die Dienste der Georg-August-Universität Göttingen, Recherche in digitalen Datenbanken wie google scholar, sowie die verfügbaren Bestände der Bibliothek der NW-FVA verwendet. Weitere Informationsquellen waren besuchte Tagungen sowie der Austausch mit anderen Fachwissenschaftlern. Der Umfang der verwendeten Fachliteratur spiegelt sich im ausführlichen Literaturverzeichnis des Schlussberichtes wieder.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Zur Evaluierung der Versuchsflächen wurde mit verschiedenen Forstämtern im Arbeitsbereich der NW-FVA zusammen gearbeitet.

6. Veröffentlichungen und Vorträge

Die Ergebnisse des Teilprojektes wurden auf Fortbildungen (Fortbildungsveranstaltungen der Trägerländer, Referendarlehrgänge etc.) präsentiert und im Rahmen von Veröffentlichungen der forstlichen Praxis bereitgestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Publikationen und Vorträge im Teilprojekt WieWaKa während Projektlaufzeit 2022 bis 2024.

	2022	2023	2024
Wissenschaftliche Veröffentlichungen Vorträge/Informationen für Forstpraktiker		2	1

II Eingehende Darstellung

Inhaltsverzeichnis

1.	Begründung der Notwendigkeit des Projektes	5
2.	Vorgehensweise	6
3.	Erzielte Ergebnisse und ihre Wertung.....	7
4.	Zusammenfassung und Schlussfolgerung	12
5.	Literatur	13
6.	Anhang	

1. Begründung der Notwendigkeit des Projektes

Teilprojekt Vogelkirsche: Die Vogelkirsche kommt in mitteleuropäischen Waldgesellschaften, insbesondere in lichten submediterranen thermophilen Mischwäldern, Linden-Mischwäldern, Kiefern-Stieleichen- und Eichen-Hainbuchenwäldern etc., meist nur einzelstammweise oder zerstreut in kleinen Gruppen vor. Eine dauerhafte Existenz ist nur an Standorten gegeben, an denen die Konkurrenzkraft von dominierenden Baumarten, wie der Buche, deutlich nachlässt (Ausweichstrategie) (OTTO 1994).

Als Pionierbaumart vermag die Vogelkirsche aber auch größere Lücken und Freiflächen im Waldbestand schnell zu besiedeln. Ihr rasches Jugendwachstum bei vergleichsweise hoher Trockenheits- und Spätfrosttoleranz ermöglicht ihr in den ersten Lebensjahren einen deutlichen Wuchsvorsprung gegenüber vielen Wirtschaftsbäumarten. Vitale Jungpflanzen können in den ersten Lebensjahren wipfelschäftige, aufrechte Triebe von mehr als einem Meter Länge erreichen, was sie auch konkurrenzstark gegenüber Konkurrenzvegetation macht. Damit kann die Vogelkirsche frühe sukzessionale Waldstadien besetzen bis sie wieder durch Klimaxgesellschaften ersetzt wird (Lückenstrategie). Damit besitzt die Vogelkirsche Eigenschaften, welche aufgrund der veränderten Störungsregime im Rahmen des Klimawandels künftig von immer größerer Bedeutung sein werden (ALBRECHT 2010, HÖLTKEN 2005).

Die Vogelkirsche ist nicht nur ökologisch wertvoll, sie ist für die Produktion von Wertholz auch von forstwirtschaftlichem Interesse. Deshalb unterliegt sie seit dem Jahr 2003 auch dem Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG). Es besteht jedoch aufgrund des großflächigen Anbaus der Kulturkirsche in der freien Landschaft die Gefahr der Einkreuzung in Samenplantagen und natürliche Bestände der Vogelkirsche über Polleneinträge. Damit sind ökologische als auch ökonomische Auswirkungen verbunden, denn das Ziel der Züchtung von Süßkirschensorten ist die Produktion von starkastigen Bäumen mit hohen Fruchterträgen. Diese Form der menschlichen Selektion geht aufgrund einer veränderten Ressourcenverteilung von Höhenwuchs in Fruchtbildung oft auch mit einer Reduktion des Höhenwuchses einher. Aus diesem Grund sollten in diesem Vorhaben die Häufigkeit der Hybridisierung und Introgression von Kulturkirschen in Vorgelkirschenpopulationen sowie Anpflanzungen bestimmt und die Auswirkungen auf die Wuchsform evaluiert werden (AAS 2010, JANßen et al. 2010).

Teilprojekt Eiche: Die in Mitteleuropa natürlich vorkommenden Eichenarten sind die Stieleiche (*Quercus robur*), Traubeneiche (*Quercus petraea*) und die Flaumeiche (*Quercus pubescens*). Diese drei Arten haben jeweils Anpassungsstrategien entwickelt um sich an spezifische Standortbedingungen anzupassen. Diese evolutionären Anpassungen manifestieren sich in arttypischen genetischen, physiologischen, phänologischen und morphologischen Ausprägungen der jeweiligen Spezies. Nur wenige heimische Baumarten bieten ein so großes Anpassungspotenzial an prognostizierten Klimabedingungen wie unsere drei heimischen Eichenspezies Flaum-, Trauben- und Stiel-Eiche. Sie kommen aufgrund der effizienten Steuerung ihrer Fotosynthese, Blattmorphologie sowie Spross-/ Wurzelverhältnisse deutlich besser mit extremen Standortsituationen zurecht als die meisten anderen Baumarten. Ihre hohe genetische Vielfalt in Kombination mit hohen Genflussraten innerhalb der Arten aber auch die Möglichkeit des Genaustausches zwischen den Arten (Hybridisierung) ermöglichen eine schnellere Akkumulation und Rekombination neuer genetischer Varianten und damit effiziente Anpassungsprozesse an drastische Umweltveränderungen (BONFILS et al. 2015, HÖLTKEN & HARDTKE 2023).

Um das gesamte Anpassungspotenzial zu erfassen, ist eine präzise Artdifferenzierung durch genetische Marker unumgänglich. Die eindeutige genetische Artzuordnung und morphologische Charakterisierung zukünftiger Prüfglieder erleichtert auch die Etablierung von Methoden

der *In-vitro*-Vermehrung, denn die physiologische Ausprägung der jeweiligen Spezies oder des Genotyps hat große Auswirkung auf deren Vermehrbarkeit. Die Vermehrbarkeit und Produktion wurzelechter Pflanzen sind eine wichtige Voraussetzung um naturnahe morphologische und physiologische Voraussetzungen für die zukünftigen Testobjekte zu erzeugen. Daraus resultiert die Möglichkeit mit Hilfe einer hohen Anzahl von Prüfgliedern je Art oder Genotyp die Reproduzierbarkeit der Untersuchungen zu optimieren. Mit einer solchen Vermehrungsmethode können künftig artspezifischen Anpassungspotentiale dieser Baumartengruppe effizient charakterisiert werden (HÖLTKEN et al. 2023).

2. Vorgehensweise

2.1. Vogelkirsche

In diesem Teilprojekt wurden die folgenden Arbeitspakete bearbeitet:

1. Optimierung genetischer Differenzierungsmethoden für Wild- und Kultatkirsche und Entwicklung eines genetischen Diagnoseverfahrens.

Im Rahmen des Projektes wurde die Kultursorten-Sammlung auf 209 Sorten vervollständigt. Es wurden 16 SSRs (Simple Sequence Repeat Marker) in vier PCR-Multiplex-Sets und S-Allele verwendet um eine hohe Differenzierbarkeit zwischen Wild- und Kultatkirschen zu erreichen (HÖLTKEN 2005, HÖLTKEN et al. 2023).

2. Quantifizierung genetischer Introgression in Vogelkirschenpopulationen (Saatguternte-Bestände und Samenplantagen)

Es wurden ein Saatguterntebestand (Hildesheimer Wald Abteilung 2217), mehrere Bestände (Stadtwald Weilburg, Nachkommen der Samenplantage Grohnde) und Abssaten aus Samenplantagen (SPL08 – SPL10) genauer auf Einkreuzung durch die Kultatkirsche untersucht.

Zum Teil waren die Proben bereits vorhanden und zum Teil wurden sie im Rahmen dieses Projektes neu gesammelt und mit den oben genannten genetischen Markern genotypisiert. Im Vergleich mit den genetischen Daten der Kultursorten konnte die Hybridisierung und Introgression quantifiziert werden.

3. Quantifizierung der Auswirkungen genetischer Introgression auf die Wuchsmerkmale der Vogelkirsche.

Es wurden die verschiedenen Bestände bekannter Herkünfte nicht nur genetisch, sondern auch morphologisch charakterisiert, um den Effekt der Hybridisierung und Introgression auf die Wuchsform zu untersuchen.

4. Wissenstransfer in die forstliche Praxis:

Die Entwicklung von genetischen Werkzeugen zur routinemäßigen Erfassung von Hybridisierung und Introgression durch genetische Kontrollen von Saatgutquellen der Wildkirsche war das Ziel. Eine Einbindung in forstliche Erntezulassungsregister erfolgt im Anschluss an der NW-FVA, Abteilung Waldgenressourcen.

2.2. Eichen

Es wurden jeweils 8 DNA-Proben jeweils einer der drei Eichenarten aus der Sammlung der NW-FVA zur Analyse innerhalb eines Primerscreenings ausgewählt. Diese wurden durch ein

Set von 12 Mikrosatelliten amplifiziert und innerhalb einer Fragmentanalyse durch einen Sequencer (Beckmann) analysiert und später charakterisiert.

In-vitro-Protokolle wurden für die Hochvermehrung von Prüfgliedern der drei Eichenarten hinsichtlich ihrer effizienten und artübergreifenden Anwendbarkeit angepasst. Hierzu wurden Embryonen aus Nachkommen (Eicheln) der Flaumeichen- und Traubeneichen-Population Bieliniek (Polen) durch Präparation und Desinfektion auf verschiedenen Kulturmedien zum Keimen gebracht. Ebenfalls wurden vegetative Explantate von angezogenen Jungpflanzen gewonnen. Stieleichen-Explantate wurden aus gepropften Pflanzen vegetativ etabliert. Erfolgreich etablierte Genotypen wurden in vierwöchigen Subkulturen vermehrt. Es wurden verschiedene Kulturmedien angewendet, um die Subkulturrate zu steigern unter den Bedingungen der gleichzeitigen Anwendbarkeit für alle drei Eichenarten. Verschiedene Wege zur Bewurzelung der noch wurzellosen Explantate wurden getestet. Mit den aus den Versuchen resultierenden Protokollen wurden bewurzelte Pflanzen produziert und an unsterile Bedingungen adaptiert und angezogen.

3. Erzielte Ergebnisse und ihre Wertung

3.1. Vogelkirsche

3.1.1. Optimierung genetischer Differenzierungsmethoden für Wild- und Kulturkirsche und Entwicklung eines genetischen Diagnoseverfahrens

Es wurden insgesamt 16 SSR Marker erfolgreich getestet und ausgewählt, die es ermöglichen zwischen Kultur- und Wildkirschen zu unterscheiden (Tabelle 1, Anhang). Diese Marker ermöglichen es, den Eintrag von Kulturkirschenpollen in Saatgut aus Vogelkirschen-Samenplantagen zu quantifizieren, und können somit als Werkzeug zur Qualitätskontrolle dienen. Bei der Anlage von Samenplantagen ist eine möglichst gute Kompatibilität der verschiedenen Klone/Genotypen wünschenswert. Da Vogelkirschen Selbstinkompatibilitätsallele (S-Allele) tragen, die bestimmte Kreuzungen ausschließen, wurde auch die Amplifikation und Genotypisierung der S-Allele erfolgreich getestet. Die Anwendung dieser Marker ermöglicht es in Zukunft die Zusammensetzung von Samenplantagen zu optimieren, indem nicht kompatible Klone nicht nebeneinander gepflanzt werden.

3.1.2. Quantifizierung genetischer Introgression in Vogelkirschen-Populationen (Saatguterntebestände und Samenplantage)

Kirschkerne aus Saatguterntebeständen und Samenplantagen wurden gesammelt und genetisch analysiert, um den Eintrag von Kulturkirschenpollen zu quantifizieren. So konnte gezeigt werden, dass der Abstand zur nächsten Kulturkirschenanpflanzung, wie erwartet, einen deutlichen Einfluss hat. Der Polleneintrag durch Kulturkirschen war im Saatguterntebestand Hildesheimer Wald mit 8,5% relativ gering und vermutlich auf eine Allee aus Kulturkirschen und Bäumen aus Gärten zurückzuführen. Kirschkerne aus verschiedenen Samenplantagen der NW-FVA zeigten ca. 0-30% Eintrag von Kulturkirschenpollen. Während SPL08 und SPL09 2014 in der Nähe von größeren Kulturkirschenanpflanzungen bei Witzenhausen angelegt wurden, ist SPL10 mit einem deutlichen Abstand zu Kulturkirschenanpflanzungen angelegt worden (Abbildung 1). Aufgrund des hohen Eintrags von Kulturkirschenpollen, wurden SPL08 und SPL09 aufgegeben. Dies zeigt, wie wichtig die Qualitätssicherung mit Hilfe genetischer Marker ist.

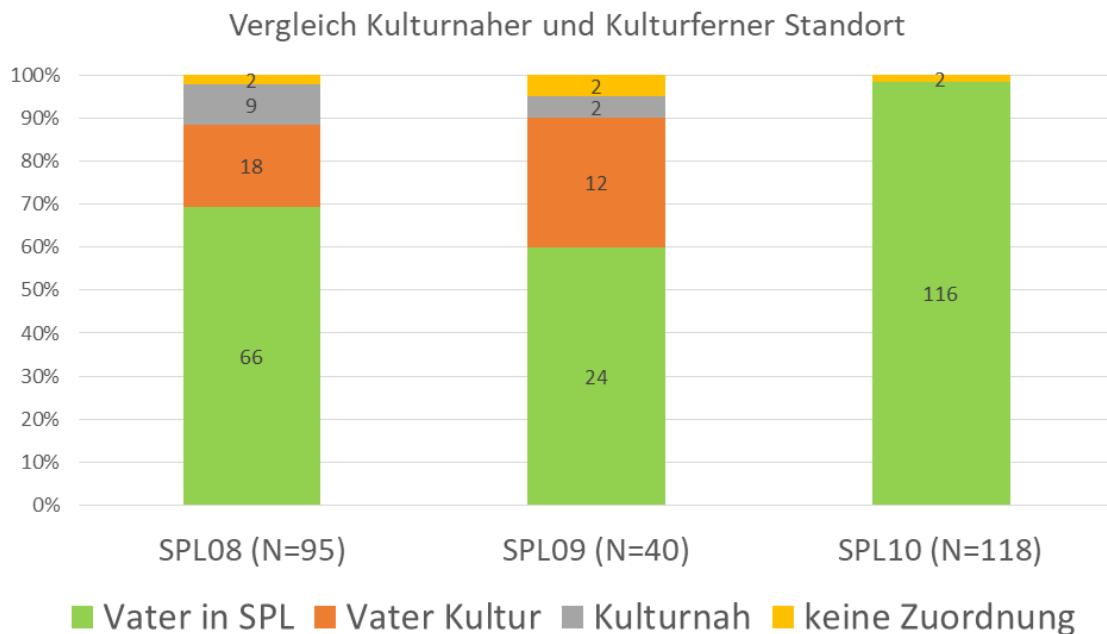


Abbildung 1: Untersuchung von Kirschkernen aus drei Samenplantagen der NW-FVA. Dargestellt ist der Anteil der Polleneltern, die als Bestäuber beigetragen haben.

3.1.3. Quantifizierung der Auswirkungen genetischer Introgression auf die Wuchsmerkmale der Vogelkirsche

Die Analyse der genetischen Marker in unterschiedlichen Beständen hat ergeben, dass der sich natürlich verjüngende Saatguterntebestand Hildesheimer Wald überwiegend von wilden Vogelkirschen gekennzeichnet ist. Nur wenige F1 Hybride mit Kulturkirschenanteil, vermutlich durch Polleneintrag von außerhalb, wurden hier identifiziert. Im Gegensatz dazu wurden neben wilden Vogelkirschen auch viele Hybride und sogar reine Kulturkirschen im Stadtwald Weilburg identifiziert (Abbildung 2, BUDDE et al. 2024). Laut Revierförster handelt es sich bei diesem Bestand um Nachkommen aus der Sonderherkunft „Grabfeld“. Die Ergebnisse legen nahe, dass die unvorteilhaften Wuchsformen im Stadtwald Weilburg, zumindest teilweise auf die Einkreuzung von Kulturkirschen zurückzuführen ist. Allerdings ist dies vermutlich nicht allein auf den Eintrag von Pollen aus Kulturkirschen zurückzuführen, da auch einige reine Kulturkirschen identifiziert wurden. Da dieser Bestand künstlich begründet worden ist (Pflanzung) liegt die Vermutung nahe, dass schon im Ausgangsbestand nahezu reine Kulturkirschen vorhanden gewesen sein müssen oder dass es zu Vermischungen verschiedener Saatgutpartien mit erhöhtem Kulturannteil gekommen sein muss.

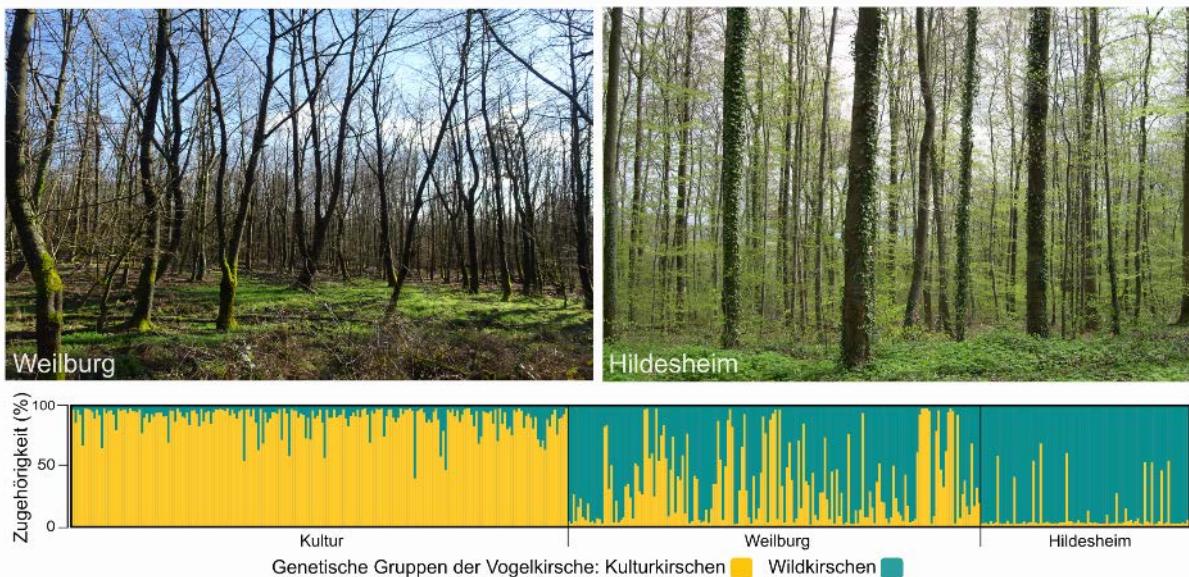


Abbildung 2 (Fotos oben): Unterschiedliche Wuchsformen eines stark kultatkirschenbeeinflussten Vogelkirschenbestands (Weilburg) und eines Bestands bestehend aus annähernd reinen Wildkirschen (Hildesheim); Fotos: NW-FVA Archiv

Unten (Balkendiagramm): Anteil der Zugehörigkeit einzelner Bäume zur Wild- und Kulturform der Vogelkirsche in den Beständen Weilburg und Hildesheim im Vergleich zu Referenzmaterial von Kultursorten nach DNA-Analyse

Die Untersuchungen an den Nachkommen der Samenplantage Grohnde hingegen zeigten sehr deutlich, dass Introgression nicht als alleinige Ursache für eine schlechte Stammform oder Kronenbildung in Frage kommt. Trotz auffällig schlechtem Habitus im Bestand Oldendorf (Abteilung 438 d1) konnte keine Introgression durch die Kultatkirsche nachgewiesen werden. Eine weitere mögliche Ursache für den schlechten Wuchs könnte unter anderem eine falsche Standortswahl sein. Zu magere oder zu trockene Standorte können auch zu einer Ausprägung schlechter Kronen- u. Stammformen führen. Weiterhin ist die waldbauliche Behandlung der Vogelkirsche von besonderer Bedeutung. So ist eine Astung obligatorisch (Totasterhalter) und bei Z-Bäumen spätestens mit vier Jahren durchzuführen. Eine Durchforstung sollte beständig und in kurzen Abständen erfolgen.

3.1.4. Wissenstransfer in die forstliche Praxis

Die Entwicklung von Standards für künftige routinemäßige genetische Kontrollen von Saatgutquellen der Vogelkirsche und Einbindung in forstliche Erntezulassungsregister erfolgt im Anschluss an der NW-FVA, Abteilung Waldgenressourcen. Die Werkzeuge (16 SSR, S-Allele) für eine genetische Differenzierung von Wild- und Kultatkirschen sind vorhanden und wurden ausgiebig getestet.

3.2. Eichen

3.2.1 In-vitro-Technik

Es konnten für die drei Eicharten erfolgreich *In-vitro*-Protokolle für die Bereiche der generativen und vegetativen Etablierung, Vermehrung, Bewurzelung und Adaption an unsterile Kulturbedingungen angewendet und modifiziert werden. Es wurden drei Flaumeichen, zwei Traubeneichen, drei Flaum-/Traubeneichenhybriden und eine Stieleiche in Kultur gebracht und vermehrt. Von jeweils einer Art wurden bewurzelte Pflanzen produziert und angezogen.



Abb. 3: Unter sterilen Bedingungen keimende Eichel

Die **embryonale *In-vitro*-Etablierung** der Trauben- und Flaumeichen und deren Hybriden erfolgte über Eicheln (Abbildung 3). Diese wurden aus Saatgut einer Flaum-/Traubeneichenpopulation nahe Bielinek (Polen) gewonnen. Die unangestiebenen Eicheln wurden durch 70%igen Alkohol sowie Chlorbleiche in verschiedenen Schritten so desinfiziert, dass auch eine hohe Überlebensrate der Embryonen gewährleistet war. Die präparierten Eicheln wurden anschließend auf einem Etablierungsmedium, bestehend aus verschiedenen Varianten eines DKW-Basismediums nach DRIVER & KUNIYUKI (1984), platziert.



Abb. 4: Eichenpflanzen auf Kulturmedium nach vier Wochen

Nach dem erfolgreichen Antreiben des Embryos wurden die sich streckenden Internodien so geteilt, dass jeweils mindestens ein Knospenmeristem auf ein **Kulturmedium** (mit angepassten Konzentrationen von Wuchsmediatoren zur Vermehrung) überführt wurde und hieraus 2 bis 7 neue Pflanzen entstanden sind (Abbildung 4). Durch vierwöchige Subkulturen wurde für diese Eichen eine Subkulturrate von 2 bis 3,5 ermöglicht.



Abb. 5: Eichen-Pfropfing



Abb. 6:
Vegetative In-vitro-Etablierung

Die Stieleiche wurde über **vegetative**, angetriebene **Sprosse** aus Pflanzen, die durch Pfropfung zum Zweck der klonalen Vermehrbarkeit und Rejuvenilisierung entstanden sind, *in-vitro* etabliert (Abbildung 5). Hierfür wurden die Explantate von Pflanzen gewonnen, die in der Klimakammer frisch angetrieben worden sind. Die vorhandenen Meristeme in den Blattaxeln wurden so herauspräpariert, dass sie mit einer hohen Überlebensrate dennoch effizient in eine

sterile Sprosskultur überführt werden konnten (Abbildung 6). Sich regenerierende Pflanzen wurden nach Streckung an ihren Internodien so aufgeteilt, dass auch bei dieser Methode nach anschließender Überführung auf ein Vermehrungsmedium (innerhalb vierwöchiger Subkultur-Zeiträume) Subkulturraten von >2,5 ermöglicht wurden.



Abb. 7: Expressionsmedium



Abb. 8: Expressionsmedium

Über sterile Sprosskulturen vermehrte Eichen bilden in einem Vermehrungsmedium keine Wurzeln. Zur Ernährung der Pflanzen bildet sich anstatt Wurzeln ein nicht determiniertes **Kallusgewebe** im Kontaktbereich zum Kulturmedium. Die so vermehrten Pflanzen bilden nur äußerst selten Wurzeln aus dem Kallusgewebe, wenn sie in eine unsterile Umgebung überführt werden und sind daher auch nicht lange lebensfähig. Aus diesem Grund werden die Pflanzen unter sterilen Bedingungen bewurzelt. Dies erfolgt in zwei Stufen. Zunächst wird eine Induktion des Wurzelwachstums durch eine Aktivierung über ein Medium mit einem Bewurzelungshormon über einen Zeitraum von 4 bis 10 Tagen durchgeführt. Die **Wurzelinduktion** findet unter Ausschluss von Licht statt, nachdem eine Transformation des Kallusgewebes in ein Wurzelbildungsgewebe stattgefunden hat. In diesem Zustand werden die Pflänzchen in ein Wurzel-**Expressionsmedium** überführt (Abbildung 7). Dieses Medium besteht aus einer Vermiculit-Basis, die aus Kulturmedium ohne Phytohormone und mit reduziertem Nährstoffangebot besteht. Die Pflanze wird durch die lichtfreie Zone im Bereich des Wurzelbildungsgewebes zusätzlich zur Wurzelbildung anregt.



Abbildung 9: Durch In-vitro-Vermehrung produziert und an Freilandbedingungen adaptierte 8 wöchige Stiel- Trauben- und Flaumeichen-Klone (Fotos NW-FVA)

Nach zwei bis vier Wochen zeigen sich die ersten Wurzeln und die Pflanze kann jetzt nach Entfernung des Kulturmediums zur Freilandadaption in eine unsterile Umgebung überführt werden (Abbildung 8). Die Anzucht der Pflanzen erfolgt mit einem Baumschulsubstrat unter zwei bis dreiwöchiger Adaption in einer Nebelkammer mit Tageslicht. Die an Freilandbedingungen adaptierten Pflanzen stehen jetzt als Prüfglieder für Versuche oder für die Anlage von Versuchsflächen und Samenplantagen zur Verfügung (Abbildung 9).

4. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Das Teilprojekt KirEiGen hat erfolgreich genetische Methoden für die Qualitätssicherung zur Anlage von Samenplantagen und von Saatgut entwickelt. Die oben erwähnten SSR-Marker können Kultur- und wilde Vogelkirschen zuverlässig unterscheiden und Hybridisierung nachweisen. Die Genotypisierung der verschiedenen S-Allele kann Kreuzungsinkompatibilitäten bestimmter Genotypen identifizieren. Basierend auf diesen Informationen, kann die Anordnung kompatibler Genotypen bei der Neuanlage von Samenplantagen optimiert werden. Die genetischen Marker ermöglichen somit eine verbesserte Qualitätssicherung von Saatgut und forstlichem Vermehrungsgut der Vogelkirsche.

Für den Eichenkomplex, bestehend aus den Arten *Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Quercus pubescens* und *Quercus petraea x pubescens*, wurden 12 Mikrosatelliten getestet und auf ihre Eignung zur Artdifferenzierung geprüft. Verschiedene Klone dieser Eichenarten konnten über bestehende und modifizierte *In-vitro*-Protokolle etabliert, vermehrt, bewurzelt und in *ex-vitro* Bedingungen überführt werden.

5. Literatur (*Veröffentlichungen im Rahmen dieses Projektes)

AAS G. (2010) Die Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) und ihre Verwandtschaft. LWF-Wissen 65, 7-12.

ALBRECHT L. (2010) Waldbauliche Erfahrungen mit der Vogelkirsche. LWF-Wissen 65, 24-33.

BONFILS P., RIGLING A., BRÄNDL U.-B., BRANG P., FORSTER B., ENGESER R., GUGERLO F., JUNOD P., MÜLLER R., und GÜNTHER-GEORG M.S. (2015) Die Eiche im Klimawandel - Zukunftschancen einer Baumart. Merkblatt für die Praxis. Eidg. Forschungsanstalt WSL Birnensdorf 55: 1-12

***BUDDE K.B., OPFERMANN N., VOLMER K. und HÖLTKEN A.M. (2024)**: Wildobstarten: Erhaltung und nachhaltige Nutzung wertvoller genetischer Ressourcen. In: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Hrsg.), Waldzustandsbericht 2024 für Niedersachsen, S. 38–41, <https://doi.org/10.5281/zenodo.13846948>.

DRIVER J.A. und KUNIYUKI A.H. (1984) In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. HortScience 19: 507-509.

HÖLTKEN A.M. (2005) Genetische Untersuchungen zu den Voraussetzungen und Konsequenzen einer rezidenten Lebensweise am Beispiel der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.). Dissertation Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie, Universität Göttingen.

***HÖLTKEN A.M. und HARDTKE A. (2023)**: Eichenarten im Klimawandel: Unterschätzte Anpassungspotenziale? In: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Hrsg.), Waldzustandsbericht 2023 für Niedersachsen, S. 30–32, <https://doi.org/10.5281/zenodo.10083027>.

***HÖLTKEN A.M., OPFERMANN N. und FEHRENZ S. (2023)** Hybridisierung und genetische Introgression -Bedeutung für Waldbau, Forstpflanzenzüchtung und Naturschutz. In: Liesebach M. (ed.), Tagungsband der 7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 12.-14. Sept. 2022 in Ahrensburg. Thünen Report, Bd. 105. Braunschweig, S. 134–152.

JANßen A., MEIER-DINKEL A., STEINER W. UND DEGEN B. (2010) Forstgenetische Ressourcen der Vogelkirsche. Forst und Holz 65, 19-24.

OTTO H.J. (1994) Waldökologie. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

Anhang

Tabelle 1 Liste der verwendeten genetischen Primer der Mikrosatelliten und S-Allel-Marker.

Oligo Name	Programm	Sequenz	Referenz	Repeat	untersuchte Art
EMPaS011	Microsatellite	ACCACATTGAGGAACTTGGG	Vaughan, Russell, 2004		
EMPaS011_rev	Microsatellite	CTGCCCTGAAAGAGCAATAAC	Vaughan, Russell, 2004	(GA) ₁₄	Prunus avium
BPPCT040_f	Microsatellite	ATGAGGACGTCTGAAATGG	Dirlawanger et al. 2002	(GA) ₁₄	Prunus avium
BPPCT040_r	Microsatellite	AGCCAAACCCTTATA CG	Dirlawanger et al. 2002	(GA) ₁₄	Prunus avium
EMPa004	Microsatellite	TACGGTAGGCTCTGCAAAGG	Clarke, Tobutt, 2003		
EMPa004_rev	Microsatellite	TGGCAGGGTTCTGCACAT	Clarke, Tobutt, 2003	(GA) ₁₉	Prunus avium
BPPCT034_f	Microsatellite	CTAACCTGAAATAAGAGCAAT	Dirlawanger et al. 2002	(GA) ₁₉	Prunus avium
BPPCT034_r	Microsatellite	CAA TGGAGAATGGGGTGC	Dirlawanger et al. 2002	(AG) ₂₅	Prunus persica, P. avium
UDP98-412_f	Microsatellite	AGGGAAAGTTCTGCTGCAC	Testolin et al. 2000	(AG) ₂₅	Prunus persica, P. avium
UDP98-412_r	Microsatellite	GCTGAA GAC GAC GAT GAT GA	Testolin et al. 2000		
EMPaS002	Microsatellite	CTACTTCATGATGTTGCTCAC	Clarke, Tobutt, 2003		
EMPaS002_rev	Microsatellite	AAACATCCAGAACATAAACAC	Clarke, Tobutt, 2003		
PS12A_cv5	Microsatellite	GCCACCAAATGGTTCTCC	Sosinski et al. 2000		
PS12A_rev	Microsatellite	AGCACAGATGCCATG	Sosinski et al. 2000		
EMPaS014	Microsatellite	TCCGCATATCACATCAAC	Vaughan and Russell 2004		
EMPaS014_rev	Microsatellite	TTCAACACAAAAACCAATCC	Vaughan and Russell 2004		
UDP98-410_f	Microsatellite	AATTTA CCT ATC AGC CTC AAA	Testolin et al. 2000	(AG) ₂₃	Prunus persica, P. avium
UDP98-410_r	Microsatellite	TTTATGCA GTT ACA GAC CG	Testolin et al. 2000	(AG) ₂₃	Prunus persica, P. avium
PCEG34_cv5	Microsatellite	GAACATGTTGGTGCTGGTT	Downey, Iezzoni, 2000		
PCEG34_rev	Microsatellite	TCACTAGGGGGTGAATG	Downey, Iezzoni, 2000		
EMPa005	Microsatellite	TGGTTTGGACAAATATGCCA	Clarke, Tobutt, 2003		
EMPa005_rev	Microsatellite	CACCAATACACATGCCAACG	Clarke, Tobutt, 2003		
EMPaS12_cv5	Microsatellite	TGTGCTAA TGCCAAAATACC	Vaughan, Russell, 2004		
EMPaS12_rev	Microsatellite	ACATGCCATTCAACCCACTC	Vaughan, Russell, 2004		
UDP98-021	Microsatellite	AAAGCAG CAA TTG GCA GAA TC	Testolin et al. 2000	(GA) ₂₂ (CA) ₁₁	Prunus avium, P. persica
UDP98-021_r	Microsatellite	GAATATGAGAGTCAGAA GC	Testolin et al. 2000	(GA) ₂₂ (CA) ₁₁	Prunus persica, P. avium
UDP96-005_f	Microsatellite	GTAACGCCGTCGCTACCAAA	Cipriani et al. 1999	(AC) ₁₆ TG(CT) ₂ CA(CT) ₁₁	Prunus avium, P. persica
UDP96-005_r	Microsatellite	CCTGCCATCAC CCA G	Cipriani et al. 1999	(AC) ₁₆ TG(CT) ₂ CA(CT) ₁₁	Prunus avium, P. persica
EMPaS010	Microsatellite	GCTAAATCAAATCCAGCTCTC	Vaughan, Russell, 2004		
EMPaS010_rev	Microsatellite	TGAGAAGTATGGCTCTGTTGG	Vaughan, Russell, 2004		
EMPaS006	Microsatellite	AAGGGAAAGGCAAGGTAG	Vaughan, Russell, 2004		
EMPaS006_rev	Microsatellite	TTGCTAGCATAGAAAGAAATTGAG	Vaughan, Russell, 2004		
PaCons1	S-Allele	(AC)CT TGT TCT TGC (GC) TTT (CT) GCT TTTCTTC	Sonneveld et al. 2003		
PaCons1_R2	S-Allele	GCCTATTGTTGCAAAATGAA	nach Sonneveld et al. 2006; Vaughan et al. 2006		
FBOX5'A_B6	S-Allele	TTKSCHATTTRYCAACCKCAAAAG	nach Sonneveld et al. 2006; Vaughan et al. 2006		
FBOXintronR	S-Allele	CWGGTAGCTTDSVAGGATG	nach Sonneveld et al. 2006; Vaughan et al. 2006		