

Schlussbericht

zum Vorhaben

Thema:

Verbundvorhaben: ZÜEND - Züchtung neuer Energiepappeln für Deutschland; Teilvorhaben 3: Materialbereitstellung und -prüfung

Zuwendungsempfänger:

**Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt - Abt. C-
Waldgenressourcen**

Förderkennzeichen:

10NR050 bzw. 22005010

Laufzeit:

15.04.2011 bis 14.09.2014

Datum der Veröffentlichung: 31.01.2017

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

I. Ziele

1. Aufgabenstellung

Planung und Ablauf des Vorhabens

Die im Projekt erfüllten Meilensteine sind grün markiert.

Teilprojekt 1: Materialbereitstellung und –prüfung

Aufgabe 1.1: Materialauswahl

- Selektion züchterisch interessanter Linien mit Anpassung an Kurzumtriebsplantagen (KUP)
- Definition möglicher Kombinationen für die somatische Hybridisierung

Aufgabe 1.2: Etablierung von In-vitro-Sprosskulturen der ausgewählten Linien und Materialbereitstellung

- Werbung des Ausgangsmaterials während der Vegetationsruhe (Feb. 2012)
- Test von Sterilisationsprotokollen, Kulturmedien und –bedingungen
- Übergabe der Linien an PHY

Aufgabe 1.3: Protokoll zur schnellen Vermehrung von Linien aus der In-vitro-Kultur

- Entwicklung eines Protokolls zur Mikrovermehrung und Vermehrung über Steckhölzer von Pappeln aus der In-vitro-Kultur, das für die schnelle Vermehrung der somatischen Hybridlinien eingesetzt werden kann

Entsprechende Meilensteine:

- M1** Geeignete Linien sind selektiert und mögliche Kombinationen für die somatische Hybridisierung definiert (Zielmonat 9).
- M2** Sprosskulturen selektierter Linien verschiedener Arten und Sektionen sind in vitro etabliert und an PHY übergeben (Zielmonat 12).

Teilprojekt 4: Vermehrung, genetische und phänotypische Analyse der somatischen Hybridlinien

Aufgabe 4.2: Materialvermehrung

- Somatische Hybridlinien werden mit Hilfe des in TP1 entwickelten Protokolls in Kooperation mit PHY vermehrt
- Produktion von Pflanzen der Hybridlinien einschließlich derer aus dem Vorgängerprojekt (FKZ 22004105) für weitere Untersuchungen und für erste Feldtests/ Testanbauten/ Sortenprüfungen

Abweichung vom ursprünglichen Arbeitspaket:

- Überführung und Erhaltung von Fusionspflanzen in Erde deren genetische Charakterisierung sich verzögert

Aufgabe 4.3: Materialcharakterisierung

- Phänotypische Analyse der somatischen Hybridlinien, inklusive der Linien aus dem Vorgängerprojekt (FKZ 22004105). Dies beinhaltet Tests auf Anwuchsvermögen, vegetative Vermehrbarkeit, Blattrostresistenz, Dichtstandstoleranz, Schnellwüchsigkeit (Biomasseproduktion in 2 bis 3 Jahren) und Stockausschlagvermögen. Wüchsige, tetraploide Fusionslinien gehen in die Vorprüfung des Projektes FastWOOD ein (zeitlich nach der Projektphase).

Entsprechende Meilensteine:

- M10** Phänotypische Eigenschaften ausgewählter somatischer Hybridlinien sind charakterisiert (Zielmonat 36)

2. Stand der Technik

Nach den Empfehlungen des Wissenschaftlichen Beirates für Agrarpolitik beim BMELV vom November 2007 hat die Verwendung von Holzhackschnitzeln sowohl bei der Wärme- und Stromerzeugung als auch bei der Kraftwärmekopplung die geringsten CO₂-Vermeidungskosten. Nach der Studie des NABU von 2008 zur Energieholznutzung in der Landwirtschaft kommt hinzu, dass auch die Ökologie der Kurzumtriebsplantagen gegenüber intensiver ackerbaulichen Nutzung von Flächen deutlich besser zu bewerten ist. Der älteste deutsche Kurzumtriebsversuch befindet sich in der Nähe von Hann. Münden und wurde 1976 gemeinsam vom Forschungsinstitut für schnellwachsende Baumarten (FsB) und der damaligen Hessischen Forstlichen Versuchsanstalt angelegt. Dieser Versuch ist seit Juli 2009 in die Bewirtschaftung der Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA, bisher FsB) übergegangen.

Für den Anbau auf KUP werden aktuell in Deutschland vor allem 3 „Max“-Klone und der Klon „Hybride 275“ verwendet. Sollten nur diese wenigen Klone großflächig angebaut werden, dürfte es innerhalb kürzester Zeit zu Resistenzproblemen bis zum Ausfall ganzer Bestände kommen. Die vor einigen Jahren noch empfohlenen belgischen Klone „Beaupré“, „Rap“ und „Barn“ werden nicht mehr empfohlen, weil diese auf Versuchsflächen nach ein- bis zweimaligem Rückschnitt aufgrund starken Blattrostbefalls flächig ausgefallen sind. Es besteht somit ein dringender Bedarf an weiteren Sorten und speziell an Sorten, die gezielt für den Anbau auf Kurzumtriebsflächen gezüchtet worden sind. Gewünschte Eigenschaften der Energiepappel sind u.a. hohe Wachstumsleistung im Jugendstadium, hohe Vitalität, hohe Überlebensfähigkeit sowie Resistenzen gegen biotische und abiotische Faktoren wie Krankheiten oder Trockenstress.

Es ist mit einem erheblichen Züchtungsfortschritt auf Mehrleistung und Resistenzerhöhung zu rechnen, wenn mehr potentielle Pappel Eltern mit bestimmten Eigenschaften gezielt gekreuzt werden. Jedoch sind Kreuzungen zwischen den Sektionen teilweise sehr schwierig, vor allem mit der Sektion *Leuce* (Stettler et al., 1980). So wurden im Rahmen des Projektes FastWOOD im Frühjahr 2009 an der NW-FVA 86 Kreuzungskombinationen innerhalb und zwischen den Sektionen *Aigeiros* und *Tacamahaca* durchgeführt. Nur in 20 dieser Kreuzungskombinationen konnte überhaupt Saatgut geerntet werden. Aufgrund der beschriebenen Schwierigkeiten bei den Pappelkreuzungen sind neue und innovative Ansätze gefragt. Hier bietet die somatische Hybridisierung kombiniert mit der Marker-gestützten Selektion („marker-assisted-selection“ = MAS) einen Lösungsansatz.

Die NW-FVA, die im Februar 2006 aus den Forstlichen Versuchsanstalten der Bundesländer Hessen, Niedersachsen und Sachsen-Anhalt gegründet wurde und seit 2012 auch das Land Schleswig-Holstein betreut, hat Versuchsflächen und Klonsammlungen bzw. Mutterquartiere aus der o.g. Gründerzeit übernommen, so dass eine solide Materialbasis für den Beginn

neuer züchterischer Aktivitäten gegeben ist. Als Nachfolgeorganisation des Institutes für Forstpflanzenzüchtung der Hessischen Forstlichen Versuchsanstalt in Hann. Münden besitzt die NW-FVA die älteste und umfangreichste deutsche Klonsammlung der Gattung *Populus*. Der frühere Leiter des Institutes für Forstpflanzenzüchtung der Hessischen Forstlichen Versuchsanstalt, Prof. Dr. Weisgerber, hat beispielsweise mit seinem Team die IUFRO working party S2.02.10 "Recent developments in poplar selection and propagation techniques" in Hann. Münden im Oktober 1989 veranstaltet. Zahlreiche vom Bund und der EU geförderte Projekte zur Pappelzüchtung und Generhaltung bzw. zum Anbau von schnellwachsenden Baumarten in kurzen und mittleren Umtriebszeiten wurden in Zusammenarbeit mit dem Forschungsinstitut für schnellwachsende Baumarten in Hann. Münden durchgeführt ("Züchterische Maßnahmen zur Steigerung und Sicherung der Produktion und anbautechnische Untersuchungen zur Biomasseproduktion in forstlichen Schnellwuchsplantagen". Versuchsflächen „Abbachhof“ und „Canstein“; Bundesministerium für Forschung und Technologie, 03C 176 5 und 0319 146 B; „Züchterische Maßnahmen zur Steigerung und Sicherung der Produktion und Anbautechnik der Biomasseproduktion in forstlichen Schnellwuchsplantagen“. Teilprojekt „Oldenburg“, BML/EG EG/VI/88/70DL/001; "In vitro-Kultur bei Waldbäumen", BMFT 0318920 A/B; „Development of methods for early screening for resistance to poplar canker caused by *Xanthomonas populi* ssp. *populi* (Ridé)", EC- CEE MA1b-0006-C; "Utilization of East Asian poplars for European poplar improvement", EC-MA2B-CT91-0025, SSMA; "Genetic diversity in river populations of European Black Poplar for evaluation of biodiversity, conservation strategies, nature development and genetic improvement", FAIR5-CT97-3386). Ferner wird im Rahmen des von der FNR geförderten Projektes FastWOOD im Verbund mit 7 weiteren deutschen Institutionen die Züchtung neuer Pappelsorten auf konventionellem Weg betrieben. In einer Zusammenarbeit mit diesem Projekt ist eine Sortenprüfung der somatischen Hybride möglich und sinnvoll.

Überdies können Erkenntnisse dieses Projektes in Bezug auf Kreuzungsarbeiten und in Bezug auf die phäno- und genotypische Charakterisierung der somatischen Hybride genutzt werden. Durch die Züchtungsaktivitäten der NW-FVA konnten zahlreiche vertriebsfähige Sorten zur Zulassung gebracht (Weisgerber, 1983; Weisgerber, 1989) und verschiedene Produktionstechniken (Rau et al., 1988; Bohnens und Friedrich, 1990) entwickelt und verbessert werden.

Auf dem Gebiet der In-vitro-Vermehrung von forstlich genutzten Waldbaumarten (Meier-Dinkel, 1986, 1987, 1989, 1992, 1998, 2003; Agrawal und Gebhardt, 1994; Gebhardt, 1989, 1990, 1996; Gebhardt und Meier-Dinkel, 1998; Schoenweiss und Meier-Dinkel, 2005) ist die Abteilung Waldgenressourcen durch die langjährigen Erfahrungen ihrer Vorgänger-Institute führend in Deutschland und gehört europaweit zu den wenigen auf dieses angewandte Forschungsgebiet spezialisierten Einrichtungen. Z.B. wurde die In-vitro-Massenvermehrung

von Aspenmehrklonsorten in Zusammenarbeit mit der KWS, Einbeck, zur Praxisreife gebracht (Barocka et al., 1985). Für mehrere Waldbaumrten wurden Protokolle zur Kryokonservierung entwickelt (Harvengt et al., 2004; Schoenweiss et al., 2005; Meier-Dinkel, 2007; Meier-Dinkel et al., 2008). Darüber hinaus wurden biochemische und molekulargenetische Methoden der Art- und Klonunterscheidung u.a. im Rahmen eines EU-Projektes an Schwarzpappeln sowie Schwarzpappelhybriden entwickelt und erprobt (Janßen, 1997; Gebhardt et al., 2002; Storme et al., 2004). Sie dienen heute der Erstellung von Klonregistern und können zur Klärung von Kontrollfällen eingesetzt werden.

3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Projektpartner 1 und Projektkoordinator:

Phytowelt Green Technologies

Dr. Renate Lührs

Stöckheimer Weg 1

50829 Köln

Tel.: +49 221 987473 206

e-mail: r.luehrs@phytowelt.com

Projektpartner 2:

Thünen-Institut

Bundesforschungsinstitut für Ländliche Räume

Wald und Fischerei - Institut für Forstgenetik

Dr. Matthias Fladung

Sieker Landstr. 2

22927 Großhansdorf

Tel.: +49 (0) 4102 - 696 107

e-mail: matthias.fladung@ti.bund.de

Erhalt von In-vitro-Kulturen:

Büsgen-Institut

Abteilung Forstbotanik und Baumphysiologie

Prof. Dr. Andrea Polle

Büsgenweg 2

37077 Göttingen

Schwan-Schleiden Zentrum

Abteilung Zellbiologie der Pflanzen

PD Dr. Thomas Teichmann

Julia-Lermontowa-Weg 3

37077 Göttingen

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

Teilprojekt 1: Materialbereitstellung und –prüfung

Aufgabe 1.1: Materialauswahl

Aus der über Jahrzehnte entstandenen und zahlreiche Pappelklone umfassenden Materialsammlung, die heute im Besitz der NW-FVA ist, wurden 52 Klone der Gattung *Populus*¹ ausgewählt, die sich für den Anbau in Kurzumtriebsplantagen (KUP) eignen (siehe Tab. 6, Anhang + 10 Aspen- und Hybridaspenklone). Die Auswahl der Klone beruht auf biometrischen und phänotypischen Untersuchungen. Diese wurden durch die ehemalige Hessische Forstliche Versuchsanstalt und das FsB (Fröhlich und Grosscurth, 1973) durchgeführt. Dabei wurden Parameter des Biomassewachstums (Höhenwachstum, Brusthöhendurchmesser (BHD), Wurzelhalsdurchmesser, Blattfläche), der Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (*Melampsora*, *Marssonina*, *Pollaccia*, *Dothichiza*) und Insektenfraß und der Länge der Vegetationsperiode (Austrieb, Vergilbung, Blattfall) berücksichtigt. Die 51 ausgewählten Klone umfassen 11 reine Arten, aus den fünf Sektionen *Aigeiros*, *Populus*, *Leucoides*, *Tacamahaca* und *Turanga*. Neben den Klonen reiner Arten wurden neun Hybridklone ausgesucht, die besondere Leistungen in den oben genannten Eigenschaften aufwiesen. Die Pflanzen wurden zum größten Teil im Rahmen des Projektes in vitro etabliert (siehe Tab. 6, Anhang), zusätzlich wurde Pflanzenmaterial von silvaSELECT-Klonen der Aspe (*P. tremula*; 5 Klone) und der Hybridaspe (*P. tremula* x *P. tremuloides*; 5 Klone) dem Projekt zur Verfügung gestellt. Ein Klon der Art *P. euphratica* wurde von der Universität Göttingen (Abteilung Forstbotanik und Baumphysiologie, Prof. Polle) als In-vitro-Kultur übernommen.

Die vorteilhaften Eigenschaften für den Anbau in KUP, die die einzelnen Pappelarten aufweisen, sollten mit Hilfe der somatischen Hybridisierung kombiniert werden und in neue Pappelsorten für den Kurzumtrieb münden. Dazu wurden von der NW-FVA erarbeitet und an Fusionsempfehlungen an den Projektpartner PHY gegeben (siehe Tab. 1). Der Fokus sollte hier besonders auf Kombinationen liegen, die unter natürlichen Bedingungen schwierig zu erzeugen sind. Die Fusionsempfehlungen beruhen auf den Eigenschaften der Arten. Somatische Hybride, die aus Fusionen von Pflanzenarten hervorgehen, die auch mittels herkömmlicher Züchtungstechniken hergestellt werden können, gelten dabei nicht als gentechnisch veränderte Organismen (GVO, Gentechnikgesetz (GenTG, §3 Abs. 3b. b)).

¹ Die Gattung *Populus* wird im Folgenden mit *P.* abgekürzt.

Tabelle 1: Fusionsempfehlungen der NW-FVA. Die Angaben der Eigenschaften stammen mehrheitlich aus „Züchtung, Anbau und Leistung der Pappeln“ (Fröhlich und Grosscurth, 1973).

Sektion	Art	Merkmal		Art	Merkmal	Sektion
Tacamahaca	<i>P. trichocarpa</i>	Hohes Stockausschlagvermögen, hohe Biomasseproduktion, Resistenz gegen <i>Dothichiza</i> , Stammform gut bis sehr gut	X	<i>P. tremula</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, geringe Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (<i>Melampsora</i> , <i>Dothichiza</i> , <i>Marssonina</i> , <i>Pollaccia</i>)	Populus
	<i>P. trichocarpa</i>	Hohes Stockausschlagvermögen, hohe Biomasseproduktion, Resistenz gegen <i>Dothichiza</i> , Stammform gut bis sehr gut	X	<i>P. tremula</i> x <i>P. tremuloides</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, Resistenz gegenüber <i>Pollacia</i>	
	<i>P. trichocarpa</i>	Hohes Stockausschlagvermögen, hohe Biomasseproduktion, Resistenz gegen <i>Dothichiza</i> , Stammform gut bis sehr gut	X	<i>P. alba</i>	Schlechte bis mäßige Stecklingsvermehrbarkeit, hohes Jugendwachstum, geringe Nährstoffansprüche, Trockentoleranz, Resistenz gegenüber <i>Melampsora spec.</i>	
	<i>P. maximoviczii</i>	Gute Standortamplitude, hohe Frosttoleranz, gute Stecklingsvermehrbarkeit, Resistenz gegenüber Blattrost	X	<i>P. alba</i>	Schlechte bis mäßige Stecklingsvermehrbarkeit, hohes Jugendwachstum, geringe Nährstoffansprüche, Trockentoleranz, Resistenz gegenüber <i>Melampsora spec.</i>	
	<i>P. maximoviczii</i>	Gute Standortamplitude, hohe Frosttoleranz, gute Stecklingsvermehrbarkeit, Resistenz gegenüber Blattrost	X	<i>P. tremula</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, geringe Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (<i>Melampsora</i> , <i>Dothichiza</i> , <i>Marssonina</i> , <i>Pollaccia</i>)	
	<i>P. maximoviczii</i>	Gute Standortamplitude, hohe Frosttoleranz, gute Stecklingsvermehrbarkeit, Resistenz gegenüber Blattrost	X	<i>P. tremula</i> x <i>P. tremuloides</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, Resistenz gegenüber <i>Pollacia</i>	
	<i>P. cathayana</i>	Hohes Jugendwachstum, gute Formeigenschaften, gute Stecklingsvermehrung	X	<i>P. alba</i>	Schlechte bis mäßige Stecklingsvermehrbarkeit, hohes Jugendwachstum, geringe Nährstoffansprüche, Trockentoleranz, Resistenz gegenüber <i>Melampsora spec.</i>	
	<i>P. szechuanica</i>	Gute Stecklingsvermehrung, ausgeprägtes Wurzelwachstum	X	<i>P. tremula</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, geringe Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (<i>Melampsora</i> , <i>Dothichiza</i> , <i>Marssonina</i> , <i>Pollaccia</i>)	
	<i>P. ussuriensis</i>	Gute Bewurzlungsfähigkeit bei Stecklingsvermehrung	X	<i>P. x canescens</i>	Hohe Biomasseproduktion, lange Vegetationsperiode, geringe Anfälligkeit gegenüber <i>Pollaccia</i>	
Populus	<i>P. alba</i>	Schlechte bis mäßige Stecklingsvermehrbarkeit, hohes Jugendwachstum, geringe Nährstoffansprüche, Trockentoleranz, Resistenz gegenüber <i>Melampsora spec.</i>	X	<i>P. nigra</i>	Gute Stecklingsvermehrung, Toleranz gegen Überschwemmungen, hohes Jugendwachstum	Aigeiros
	<i>P. tremula</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, geringe Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (<i>Melampsora</i> , <i>Dothichiza</i> , <i>Marssonina</i> , <i>Pollaccia</i>)	X	<i>P. nigra</i>	Gute Stecklingsvermehrung, Toleranz gegen Überschwemmungen, hohes Jugendwachstum	

Populus	<i>P. tremula</i> x <i>P. tremuloides</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, Resistenz gegenüber <i>Pollacia</i>	X	<i>P. nigra</i>	Gute Stecklingsvermehrung, Toleranz gegen Überschwemmungen, hohes Jugendwachstum	Aigeiros
	<i>P. tremula</i>	Schlechte Stecklingsvermehrbarkeit, konstanter Biomassezuwachs bei Trockenheit, geringe Anfälligkeit gegenüber Pathogenen (<i>Melampsora</i> , <i>Dothichiza</i> , <i>Marssonina</i> , <i>Pollaccia</i>)	X	<i>P. euphratica</i>	Falls Grundwasseranschluss vorhanden, extreme Trockentoleranz, salztolerant, schnelles Wachstum, keine Dichtstandstoleranz	Turanga
Tacamahaca	<i>P. maximoviczii</i>	Gute Standortamplitude, hohe Frosttoleranz, gute Stecklingsvermehrbarkeit, Resistenz gegenüber Blattrost	X	<i>P. lasiocarpa</i>	Winterhart, gut verankertes, kräftiges Wurzelsystem, schlechte Stecklingsvermehrbarkeit	Leucoides
	<i>P. trichocarpa</i>	Hohes Stockausschlagvermögen, hohe Biomasseproduktion, Resistenz gegen <i>Dothichiza</i> , Stammform gut bis sehr gut	X	<i>P. lasiocarpa</i>	Gut verankertes, kräftiges Wurzelsystem, schlechte Stecklingsvermehrbarkeit	

Aufgabe 1.2: Etablierung von In-vitro-Sprosskulturen der ausgewählten Linien und Materialbereitstellung

Etablierung von In-vitro-Sprosskulturen ausgewählter Linien

1. Etablierung über Festmedium

Von den ausgewählten Klonen wurden einjährige Langtriebe mit Winterknospen geworben. Zur Sterilisation wurden verschiedene Einwirkzeiten und unterschiedliche Konzentrationen von Sterilisationsmitteln eingesetzt (siehe Tab. 2).

Tabelle 2: Eingesetzte Sterilisationsmethoden.

	Chemikalie	Konzentration	Inkubationszeit [Min.]	Anzahl der Durchgänge
Sterilisationsmethode A	Ethanol	70% (v/v)	1	1
	Natriumhypochlorit	5% aktives Chlor	25	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5	3
Sterilisationsmethode B	Ethanol	70% (v/v)	3	1
	Natriumhypochlorit	5% aktives Chlor	25	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5	3
Sterilisationsmethode C	Ethanol	70% (v/v)	5	1
	Natriumhypochlorit	10% aktives Chlor	25	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5	3

Mit Hilfe aller drei aufgeführten Protokolle konnten sterile Sprosskulturen etabliert werden. Um das Material nicht unnötig zu schädigen, wurde im Folgenden die schonendste Sterilisationsmethode (A) eingesetzt.

Nach der Sterilisation wurde von den Winterknospen die Knospenschuppen entfernt und das Meristem mit umliegenden Blattanlagen und Stängelgewebe frei präpariert (siehe Abb. 1). Es folgte eine Kultivierung der Explantate auf festem MS-Medium (Murashige und Skoog, 1962), das mit 0,2 mg/l des Cytokinins Benzylaminopurin (BAP) versetzt und mit 2,9 g/l Gelrite verfestigt wurde.



Abbildung 1: Winterknospe von *P. deltoides* (links geschlossen, rechts präpariert).

2. Etablierung über Flüssigmedium

Für die Pappelart *P. deltoides*, die wiederholt nicht über Festmedium etabliert werden konnte, wurde eine Etablierungsmethode über Flüssigmedium eingesetzt (Chaturvedi et al., 2004).

Für die Etablierung in Flüssigmedium wurden im Winter einjährige Langtriebe geworben, bei Raumtemperatur angetrieben und bis zu einer Sprosslänge von ca. 5 cm wachsen gelassen. Anschließend wurden die Sprosse nach verschiedenen Methoden sterilisiert (siehe Tab. 3).

Tabelle 3: Eingesetzte Sterilisationsmethoden für die Etablierung über angetriebene Sprosse.

	Chemikalie	Konzentration	Inkubationszeit	Anzahl der Durchgänge
Sterilisationsmethode A	Ethanol	70% (v/v)	2 Min.	1
	Natriumhypochlorit	5% aktives Chlor	25 Min.	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5 Min.	3
Sterilisationsmethode B	Ethanol	70% (v/v)	30 Sek.	1
	Natriumhypochlorit	3% aktives Chlor	15 Min.	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5 Min.	3
Sterilisationsmethode C	Ethanol	70% (v/v)	20 Sek.	1
	Natriumhypochlorit	2% aktives Chlor	20 Min.	1
	Autoklaviertes Leitungswasser	-	5 Min.	3

Sterilisationsmethode B erwies sich als die geeignetste Methode. Die Sprosse wurden hier nur gering geschädigt und es konnten sterile Sprosskulturen gewonnen werden.



Im Anschluss an die Sterilisation wurden die unteren Blätter des Sprosses entfernt und der Spross mit Hilfe einer Filterpapierbrücke in Flüssigmedium kultiviert (siehe Abb. 2).

Für die Kultivierung wurde nach Chaturvedi et al. (2004) MS-Medium (Murashige und Skoog, 1962) mit 0,25 mg/l Indol-3-essigsäure (IAA) und 0,25 mg/l Benzylaminopurin (BAP) versetzt.

Nach 5 Subkulturen (16 Wochen) wurden die Sprosse auf festes Medium (MS-Medium, 0,25 mg/l IAA, 0,25 mg/l BAP, 2,9 g/l Gelrite) überführt.

Abbildung 2: Flüssigkultur von *P. deltoides*

Der Klon ‚Marquette‘ der Art *P. deltoides* konnte über oben genannte Methode erfolgreich in vitro etabliert werden. Zudem konnten Klone der Art *P. trichocarpa* (‚Brühl 5‘, ‚Brühl 8‘ und ‚Scott Pauley‘) und ein Klon der Art *P. koreana* über Flüssigmedium als In-vitro-Kultur etabliert werden. Bei der Art *P. trichocarpa* war der Etablierungserfolg der drei genannten Klone bei Verwendung von Flüssigmedium mit 50 % deutlich höher gegenüber der Etablierung aus Winterknospen (7 %). Die Etablierung über Flüssigmedium stellt demzufolge eine sinnvolle Alternativmethode dar.

Ursprünglich angestrebt war eine Etablierung von ca. 20 Linien, die zur Protoplastenfusion eingesetzt werden konnten. Im Projekt wurden von der NW-FVA 27 Klone erfolgreich in vitro etabliert. Die dafür ausgewählten Klone, der Etablierungserfolg und die eingesetzte Methode sind im Anhang in Tabelle 6 aufgeführt.

Materialbereitstellung

Dem Projektpartner PHY wurden im Projektzeitraum 37 ausgewählte Klone in Form von in-vitro-etablierten Sprosskulturen übergeben (siehe Tab. 7, Anhang). Dazu wurde neben den 27 im Projekt etablierten Klonen auch 10 Linien, die die NW-FVA bereits im Vorfeld etabliert hatte (je 5 Aspen- und Hybridaspensklone) und ein Klon der Art *P. euphratica* an PHY abgegeben.

Aufgabe 1.3: Protokoll zur schnellen Vermehrung von Linien aus Fusionsversuchen

Das aus den Fusionsversuchen stammende Pflanzenmaterial wurde von der PHY zunächst phänotypisch den Ausgangsarten zugeordnet. Es wurden klonspezifische Vermehrungsprotokolle getestet, da sich das Wachstum der einzelnen Fusionslinien als stark unterschiedlich erwies.

i. Phänotypen der Sektion *Populus*

Eine angemessene Mikrovermehrung wurde durch ein MS-Medium erreicht, das mit 0,2 mg/l Benzylaminopurin (BAP) und 6,5 g/l Gelrite versetzt war. Die optimale Dauer einer Subkultur betrug 4 Wochen.



Abbildung 3: Sprossentwicklung einer Fusionspflanze (links), daraus neu gewonnene Explantate (rechts).

ii. Phänotypen der Sektionen *Tacamahaca*, *Aigeiros* (ausgenommen *P. deltoides*), *Turanga* und *Leucoides*

Während die Sprosse der Sektion *Populus* sehr gut auf einem MS-Medium wuchsen, war dies bei den Fusionspflanzen, die den übrigen Sektionen angehörten, nicht der Fall. Hierzu wurde in Absprache mit dem Projektpartner PHY das Rugini Olive Medium (Rugini, 1984) eingesetzt, welches das Wachstum der Linien verbesserte. Das verwendete Rugini Olive Medium enthielt 0,5 mg/l des Auxins Indol-3-essigsäure (IAA). Dieses induzierte bei den Sprossen die Wurzelbildung. Die verbesserte Ernährung der Pflanzen über die Wurzeln führte zu einem besseren Wachstum (keine Vergilbung der Blätter, kein Blattfall, Sprossstreckung).

iii. Phänotyp *P. deltoides*

Die Kultivierung und Vermehrung der amerikanischen Schwarzpappel (*P. deltoides*) erwies sich als schwierig. Um das Wachstum der Schwarzpappellinien zu optimieren, wurde ein gesondertes Vermehrungsprotokoll entwickelt. Untersucht wurden die Vermehrungsraten eines Klonen der amerikanischen Schwarzpappel (*Populus deltoides*, 'Marquette') auf 11 verschiedenen Medien mit unterschiedlichen Cytokinin- und Auxinkonzentrationen (Zusammensetzung siehe Tab. 4).

Tabelle 4: Verwendete Medien zur Bestimmung der Vermehrungsraten in vitro (alle Medien wurden mit 20 g/l Saccharose angesetzt. BAP: 6-Benzylaminopurin, IAA: Indol-3-essigsäure, Referenzen: 1: Murashige und Skoog (1962), 2: Rugini (1984)).

Medium	Makro-/ Mikronährstoffe / Vitamine	6-Benzylamino- purin (BAP) [mg/L]	Indol-3- essigsäure (IAA) [mg/L]	Verhältnis BAP / IAA	Verfestigungs- mittel	pH
2/0	MS ¹	-	-	-	2,9 g Gelrite	5,8
2/10 G	MS ¹	0,25	0,25	1:1	2,9 g Gelrite	5,8
2/30	MS ¹	0,025	0,25	1:10	2,9 g Gelrite	5,8
2/31	MS ¹	0,5	0,25	2:1	2,9 g Gelrite	5,8
2/32	MS ¹	1,0	0,25	4:1	2,9 g Gelrite	5,8
2/33	MS ¹	2,5	0,25	10:1	2,9 g Gelrite	5,8
2/34	MS ¹	0,25	0,025	10:1	2,9 g Gelrite	5,8
2/35	MS ¹	0,25	0,5	1:2	2,9 g Gelrite	5,8
2/36	MS ¹	0,25	1,0	1:4	2,9 g Gelrite	5,8
2/37	MS ¹	0,25	2,5	1:10	2,9 g Gelrite	5,8
87/44	MS ¹	0,20	-	-	2,9 g Gelrite	5,8
17/1	Rugini ²	-	0,5	-	6,9 g Agar	5,7

Als Kontrolle diente ein MS-Medium (Murashige und Skoog, 1962) ohne Hormonzugaben. Pro Medium wurden 32 Sprosse auf zwei Gläser verteilt angesetzt. Je Spross wurde die neu gebildete Anzahl an Explantaten nach vierwöchiger Kultivierung bestimmt (siehe Abb. 4).

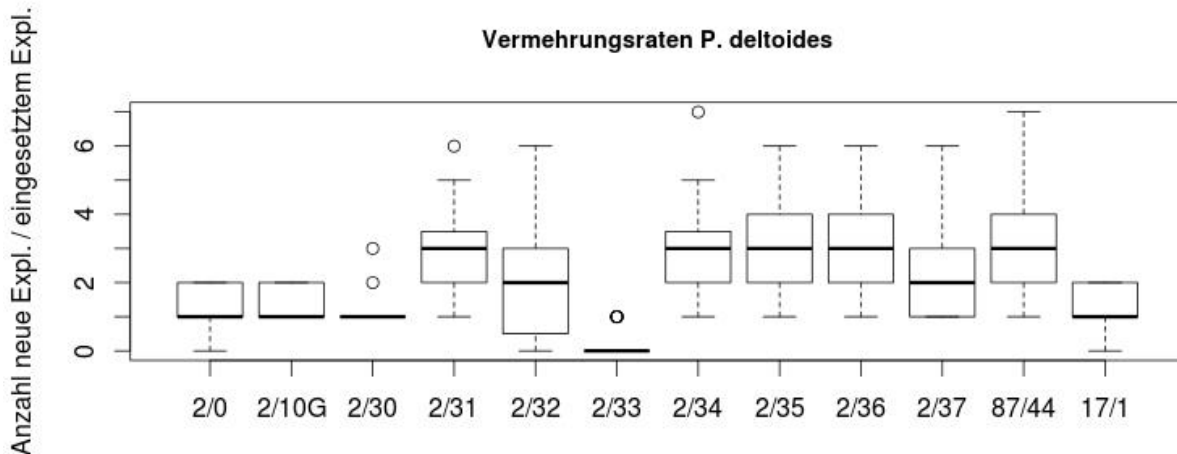


Abbildung 4: Vermehrungsraten in vitro von *P. deltooides* auf unterschiedlichen Vermehrungsmedien.

Die Pflanzen, die durch die Medien 2/31, 2/34, 2/35, 2/36 versorgt wurden, zeigten in diesem Versuch die höchsten Vermehrungsraten mit drei neu gebildeten Explantaten pro eingesetztem Explantat (siehe Abb. 4). Auch durch das Medium 87/44 - das Vermehrungsmedium der Hybridaspens - wurden Vermehrungsraten von drei erreicht. Die Pflanzen zeigten jedoch keine ausreichende Versorgung auf diesem Medium: Die Sprosstreckung unterblieb völlig, einige Sprosse bildeten keine neuen Blätter, die alten Blätter wurden spröde und brachen ab, was darauf schließen lässt, dass das Pflanzenmaterial überaltert war und hier keine Zellteilung stattgefunden hat. Die Pflanzen zeigten zudem Vergilbungen der Blätter. Dies weist auf eine Nährstoffmangelversorgung hin. Dieses Medium ist deshalb nicht für die Vermehrung von *P. deltooides* geeignet.

Unter Berücksichtigung der Vermehrungsraten und des physiologischen Zustandes der Pflanzen (Zellteilungsaktivität (Bildung neuer Blätter, Sprosstreckung), Nährstoffversorgung) erwiesen sich die Medien 2/31 und 2/34 als am besten geeignet.

Teilprojekt 4: Vermehrung, genetische und phänotypische Analyse der somatischen Hybridlinien

Die NW-FVA hat zu Beginn des Projektes Pflanzenmaterial aus dem Vorgängerprojekt „Innovative Hybridpappeln – Schnelles Wachstum für Deutschland“ (FKZ 22004105) erhalten (siehe Tab. 10 und Tab. 11, Anhang). Zusammen mit den Fusionslinien wurden auch die im Vorgängerprojekt eingesetzten Ausgangslinien an die NW-FVA übergeben, um diese in Leistungsprüfungen als Referenz einsetzen zu können (siehe Tab. 9, Anhang).

Im Juni 2013 erhielt die NW-FVA die ersten Fusionspflanzen aus dem aktuellen Projekt. Hierbei handelte es sich um tetraploide und aneuploide Linien aus Heterofusionsversuchen und um Linien aus Autofusionen (siehe Tab. 12, Anhang).

Zur Anlage eines Schaugartens erhielt der Projektpartner PHY einen Teil der Fusionslinien zurück (siehe Tab. 8, Anhang).

Aufgabe 4.2: Materialvermehrung

Linien aus Fusionsexperimenten, die potentiell als somatische Hybride galten, wurden als In-vitro-Kulturen gehalten. Als diese Linien sich nicht als somatische Hybride bestätigten, wurden diese auf 15 Sprosse vermehrt (siehe Vermehrungsprotokoll 1.3) und in Erde überführt. Außerdem wurden Fusionslinien, die bei der Phytowelt erzeugt wurden und deren genetische Analyse sich verzögerte, zur Erhaltung nach der Übergabe direkt in Erde transferiert. Diese Linien wurden anschließend phänotypisch charakterisiert und von Linien, die einen Phänotyp der Sektion *Populus* zeigten, 2013 ein Feldversuch in vollkommen randomisierter Reihenpflanzung angelegt (siehe 4.3.2 a) Anlage 2013). Die Anzahl der Wiederholungen betrug je nach Überlebensrate der Fusionslinie maximal vier. Die Anzahl der Fusionslinien belief sich auf 248. Dieser Versuch wurde zusammen mit den Ausgangslinien als Referenz (*P. tremula* (‘Ahle 2’), *P. tremula* x *P. tremuloides* (‘Münden 2’), *P. trichocarpa* (‘Weser 6’), *P. nigra*, *P. trichocarpa* x *P. deltoides* (B19), *P. maximowiczii* (‘Max 4’), *P. ussuriensis* (‘Heilong’), *P. nigra* (‘Aue 2’) angelegt. Der Pflanzverband betrug 1,8 m x 0,5 m.

Fusionslinien der Sektionen Tacamahaca und Aigeros wurden in den Frühbeetkasten überführt und an das Projekt FastWOOD weitergegeben.

Von Fusionslinien aus dem Vorgängerprojekt wurde 2012 ein Feldversuch im Blockdesign angelegt (siehe auch 4.3.2 a) Anlage 2012). Diese Fusionslinien wurden mit dem Vermehrungsprotokoll (siehe 1.3) auf 65 Sprosse vermehrt und in Erde überführt. Das Versuchsdesign war folgendermaßen angelegt: 3 Wiederholungen, 20 Pflanzen je Parzelle, Pflanzverband von 1,8 m x 0,5 m.

Aufgabe 4.3: Materialcharakterisierung

4.3.1 Materialcharakterisierung in vitro

Üblicherweise werden In-vitro-Sprosskulturen vor dem Transfer in Erde in vitro bewurzelt. Um diesen Schritt eventuell einsparen zu können, wurde das Anwuchsvermögen von Fusionslinien der Hybridaspens (*P. tremula* x *P. tremuloides*) und Graupappel (*P. x canescens*) zwischen in-vitro-bewurzelten Sprossen und direkt in Erde überführten Mikrostecklingen verglichen. Zudem wurde die Bewurzelungsrate in vitro bestimmt. Zur Bewurzelung in vitro wurden ca. 100 Sprosse je Linie auf folgendes Medium transferiert: 1/3 MS-Makronährstoffe, 1/3 MS-Mikronährstoffe, 1/3 MS-Vitamine 1 g/l Indol-3-buttersäure, 7 g/l Agar, 20 g/l Saccharose (pH = 5,7) (Murashige und Skoog, 1962). Nach zwei Wochen wurden die Anzahl bewurzelter Sprosse aufgenommen und die Bewurzelungsraten errechnet (siehe Abb. 5). Für die Variante der Direktbewurzelung wurden ca. 100 Mikrostecklinge je Linie ohne Wurzeln in Erde pikiert. Nach dem Transfer in Erde wurden alle Pflanzen für drei Wochen unter kontrollierten Luftfeuchtigkeits- und Temperaturbedingungen akklimatisiert. Nach 6 Wochen wurde die Anzahl überlebensfähiger Pflanzen bestimmt. Als überlebensfähig galten diejenigen Pflanzen, die vital waren und Zellteilungsaktivität zeigten.

Die Fusionslinien der Hybridaspe zeigten - mit Ausnahme von P3 (18-6) und P3 (1-9) - Bewurzelungsraten zwischen 56 % und 100 %, wobei sieben der zehn untersuchten Fusionslinien zu über 80 % bewurzelten. Damit waren die Bewurzelungsraten unter den Fusionslinien deutlich höher als die des diploiden Ausgangsklones (P3) mit 35 %. Eine erhöhte Bewurzelungsrate kann als Merkmal der Rejuvenilisierung gesehen werden, die bei vielen Gehölzen in In-vitro-Kultur auftritt. Die Tendenz der Fusionslinien zu einer höheren Bewurzelungsrate kann in einem Rejuvenilisierungseffekt begründet sein, welcher bei aus Kalluskultur hervorgegangenen Pflanzen im Speziellen und Gewebekultur im Allgemeinen beobachtet werden kann (Laliberté und Lalonde, 1988, Meier-Dinkel et al., 1993). Fusionspflanzen der Graupappellinie P1 (21) bewurzelten ebenso wie der diploide Ausgangsklon nur zu ca. 40 %.

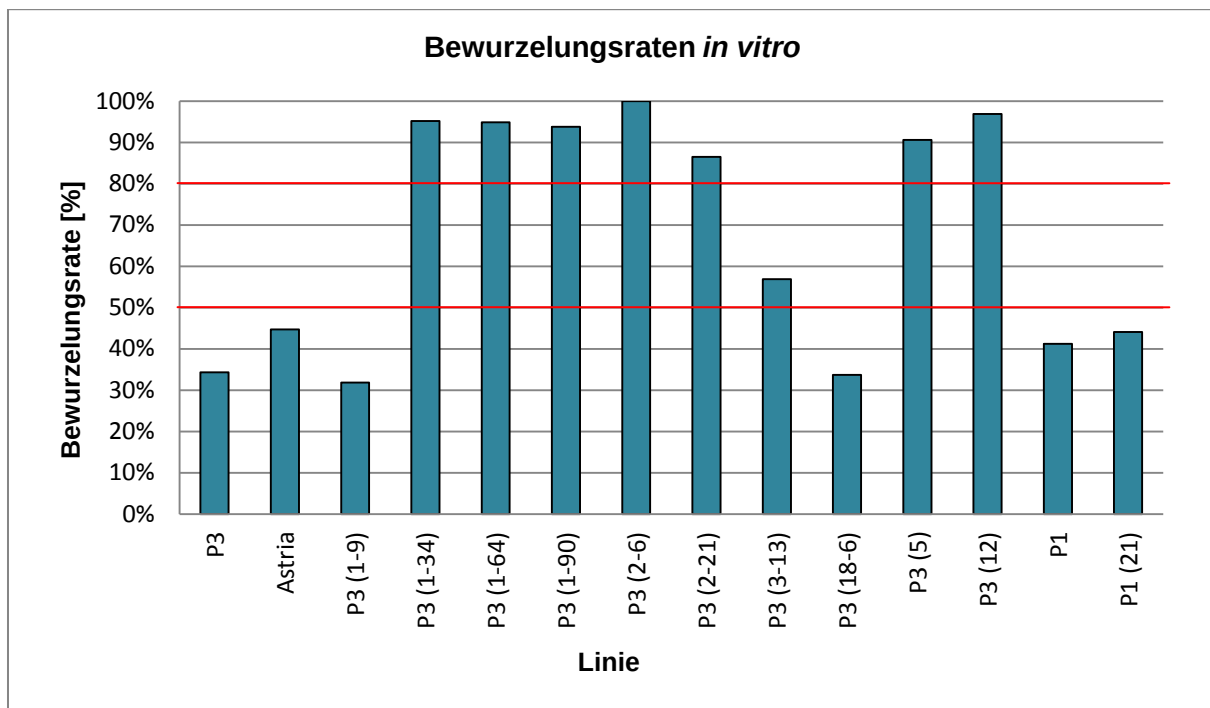


Abbildung 5: Bewurzelungsraten von Fusionslinien der Hybridaspe und Graupappel. P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden2', 2n), Astria = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Astria', 3n), P1 = *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4, 2n), P1 (21) = *P. x canescens* (4n), sonstige Linien: Fusionslinien von P3.

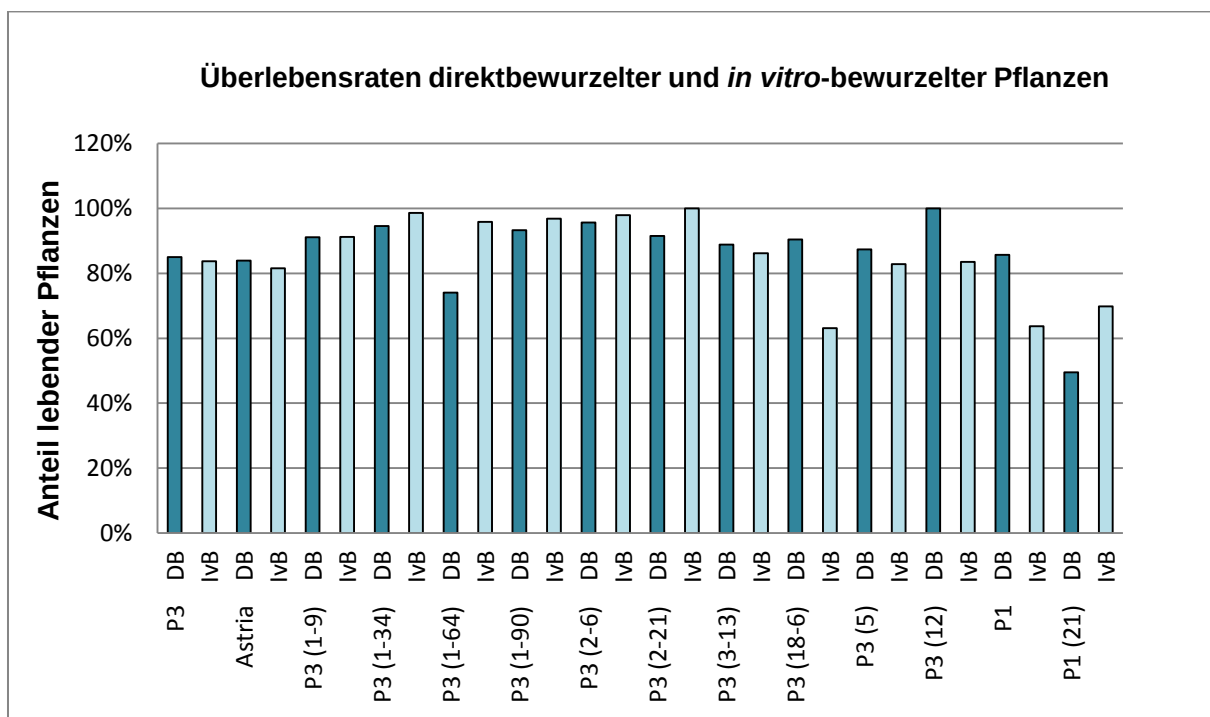


Abbildung 6: Überlebensrate direktbewurzelter und in-vitro-bewurzelter Pflanzen. DB = Direktbewurzelung, IvB = In-vitro-Bewurzelung. P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden2', 2n), Astria = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Astria', 3n), P1 = *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4, 2n), P1 (21) = *P. x canescens* (4n), sonstige Linien: Fusionslinien von P3.

Ein Vergleich der Überlebensraten zwischen direktbewurzelten und in-vitro-bewurzelten Pflanzen ist in Abbildung 6 dargestellt. Für Fusionslinien der Hybridaspes lagen die Überlebensraten zwischen 63 % und 100 %, wobei acht der zehn Linien Werte zwischen 83 % und 100 % aufwiesen. Die Überlebensraten der Graupappeln betrugen zwischen 63 % und 90 %. Hier zeigte sich, dass die Überlebensrate der Graupappellinie aus der Protoplastenfusion in der Variante der In-vitro-Bewurzelung deutlich höher war als die der Direktbewurzelung. Die Fusionslinien der Hybridaspes zeigten abgesehen von P3 (1-64) keine höheren Überlebensraten bei In-vitro-Bewurzelung. Für diese Linien kann der Zwischenschritt der In-vitro-Bewurzelung demnach unterbleiben.

4.3.2 Materialcharakterisierung *in vivo*

a) Anwuchsvermögen und Biomasseleistung im Feldversuch

Anlage 2012

Mit ausgewählten Fusionslinien wurde im November 2012 ein Feldversuch angelegt, um das Biomassewachstum während der ersten drei Jahre zu untersuchen. Hierbei handelte es sich um zehn Linien tetraploider Hybridaspes (*P. tremula* x *P. tremuloides*) und eine Linie einer tetraploiden Graupappel (*P. x canescens*). In dem Versuch wurden 20 Pflanzen je Linie in drei Wiederholungen in einem Blockversuch (Pflanzverband 0,5 m x 1,8 m) gepflanzt. Als Referenz dienten die Ausgangslinien der Fusionsexperimente (*P. tremula* x *P. tremuloides*, 'Münden2' (= P3) und *P. x canescens* INRA clone No. 717 1-B4 (= P1)) und der stark wüchsige, triploide Klon 'Astria' (*P. tremula* x *P. tremuloides*). Im Frühjahr 2013 wurde eine Bonitur der Höhe und des Wurzelhalsdurchmessers (WHD) durchgeführt und die Überlebensrate bestimmt. Die Überlebensrate betrug 98,7 % (11 von 840 Pflanzen waren ausgefallen), wobei kein Klon bezüglich der Ausfälle hervortrat. Die ermittelten Daten zur Höhe und des WHDs wurden mittels Varianzanalyse ausgewertet und sind in Abbildung 7 zu sehen. Die Linien P3 (1-34), P3 (1-9), P3 (1-90), P3 (18-6) und P3 (2-21) sind signifikant ($p < 0,05$) höher gegenüber ihrem Ausgangsklon P3 und der triploiden 'Astria'. Auch bezüglich des WHDs sind genannte Linien - abgesehen von P3 (18-6) - signifikant dicker. Ein Vergleich der tetraploiden Graupappellinie mit ihrem diploiden Ausgangsklon zeigte, dass diese sich hinsichtlich der Höhe nicht unterschieden, allerdings der WHD der tetraploiden Linie signifikant größer war. Die erste Auswertung der WHD-Daten sollte allerdings unter der Berücksichtigung gesehen werden, dass diese Daten bezüglich des Absolutwertes sehr gering sind und Messfehler im Millimeterbereich starke Auswirkungen haben können.

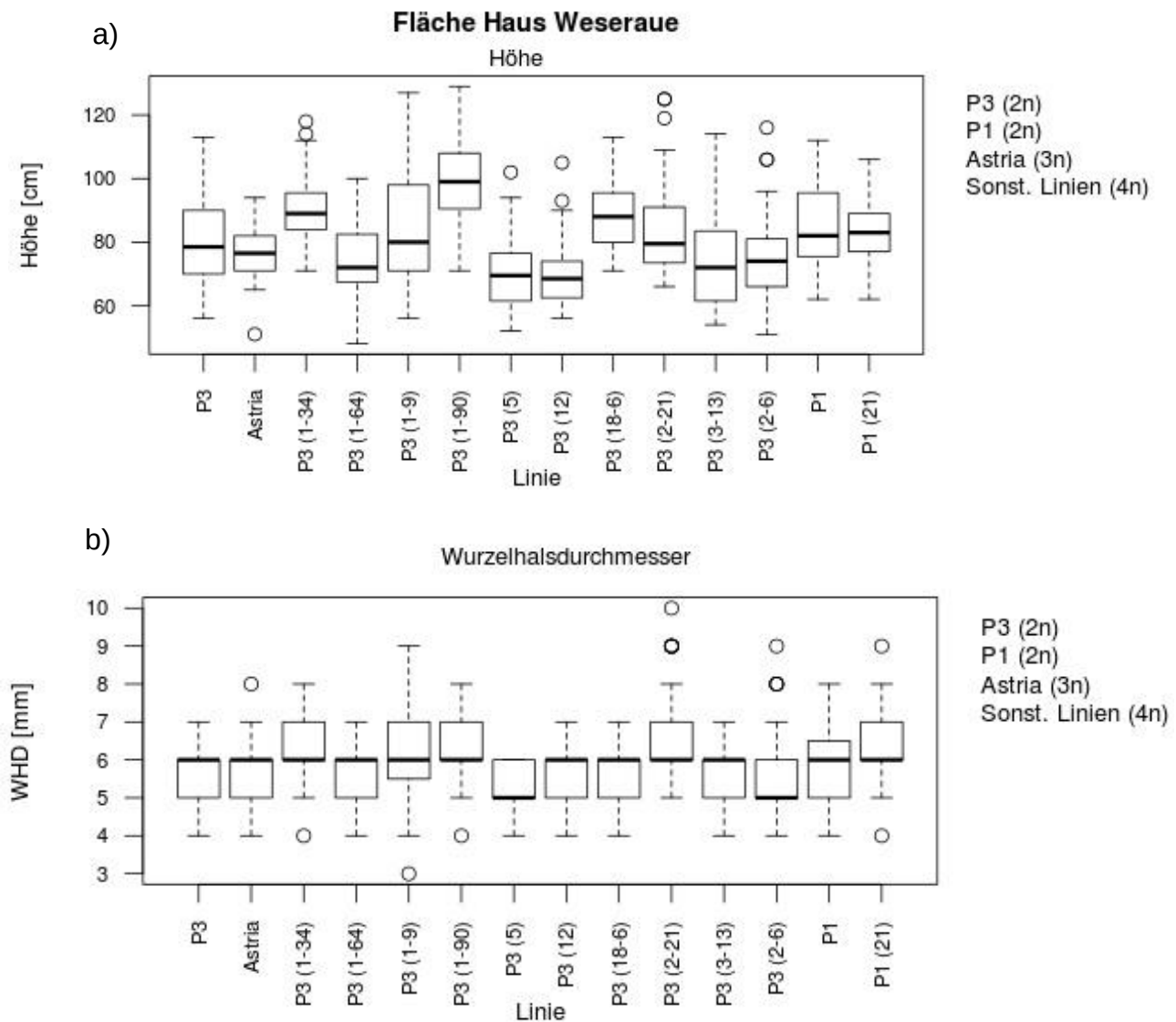


Abbildung 7: a) Höhe und b) Wurzelhalsdurchmesser (WHD) von Fusionslinien der Flächenanlage 10/2012, Aufnahme 04/2013. P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* (‘Münden2’, 2n), Astria = *P. tremula* x *P. tremuloides* (‘Astria’, 3n), P1 = *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4, 2n), P1 (21) = *P. x canescens* (4n), sonstige Linien: Fusionslinien von P3.

Die Höhen- bzw. WHD-Zunahme dieser Versuchspflanzen ist in Abbildung 8 a) und b) zu sehen. Im Vergleich zum diploiden Klon ‘Münden 2’ war nach zwei Jahren keine Fusionslinien bezüglich des Höhenwachstums und der Zunahme des WHDs signifikant besser. Die Fusionslinien P3 (1-9), P3 (1-64), P3 (5), P3 (12), P3 (2-6), P3 (2-21) und P3 (3-13) zeigten signifikant niedrigere Zuwächse in beiden Parametern. Die triploide ‘Astria’ erwies sich in diesem Versuch als signifikant niedriger als ‘Münden2’.

Der Zuwachs der Höhe und des WHDs der tetraploiden Graupappel (P1 (21)) war ebenfalls geringer im Vergleich zur diploiden Graupappel.

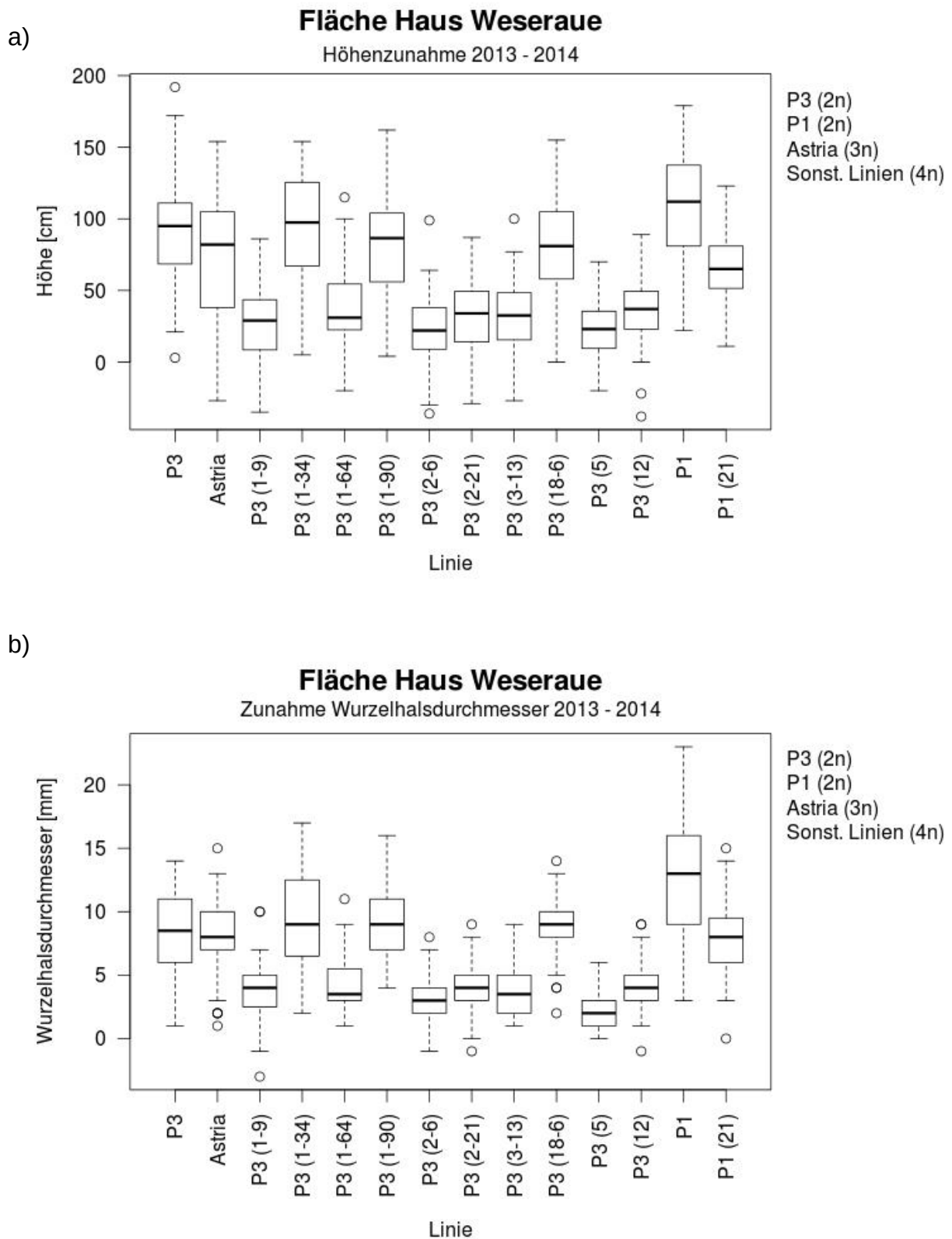


Abbildung 8: a) Höhenzunahme und b) Wurzelhalsdurchmesser (WHD)-Zunahme der Fusionslinien der Flächenanlage Okt. 2012, Aufnahmen: Frühjahr 2013 und 2014. P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden2', 2n), Astria = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Astria', 3n), P1 = *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4, 2n), P1 (21) = *P. x canescens* (4n), sonstige Linien: Fusionslinien von P3.

Anlage 2013

Zur Erhaltung wurden Fusionslinien, deren genetische Charakterisierung noch nicht abgeschlossen war, von dem Projektpartner Phytowelt an die NW-FVA abgegeben und direkt in Erde pikiert. Die Anzahl der Pflanzen je Linie betrug zwischen eins und vier. Zusätzlich wurden Fusionslinien, die sich nicht als somatische Hybride erwiesen, mittels Mikropropagation auf 15 Sprosse vermehrt und ebenfalls zur Erhaltung in Erde überführt. Anhand des Phänotyps wurden die Fusionslinien einem Ausgangsklon zugeordnet. Von Fusionslinien der Sektion *Populus* wurden anschließend im Oktober 2013 ein Feldversuch in vollkommen randomisierter Einzelbaumparzellen (Pflanzverband 1,8 m x 0,5 m) angelegt. Die Anzahl der Wiederholungen betrug maximal vier, je nach Anzahl der Pflanzen. Ca. 80 % der Fusionslinien konnten in vierfacher Wiederholung angepflanzt werden. Die erste Aufnahme der Höhe erfolgte im Frühjahr 2014. Die höchsten 10 Fusionslinien sind im Vergleich zum diploiden Klon *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden 2', „4-02“) in Abbildung 9 zu sehen und in Tabelle 5 genauer spezifiziert. Diese Fusionslinien zeigten ein vergleichbares Wachstum zum diploiden Klon.

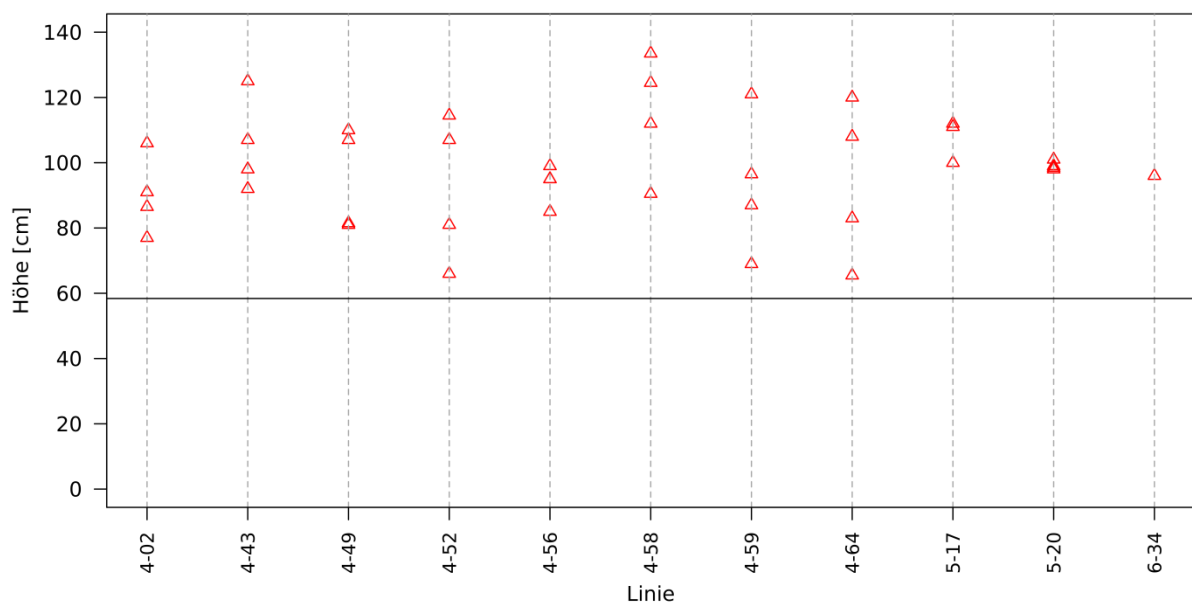


Abbildung 9: Höhen der 10 höchsten Fusionslinien (4-43 bis 6-34) und der diploiden Linie *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden 2') (4-02) der Fläche „Haus Weseraue“; der Mittelwert über die Versuchsfläche ist als horizontale schwarze Linie dargestellt (Anlage: 10/2013, Aufnahme: 03/2014).

Tabelle 5: Identifikation der 10 höchsten Fusionslinien der Versuchsfläche „Haus Weseraue“ (Anlage: 10/2013, Aufnahme: 03/2014; P1: *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4), P3: *P. tremula* x *P. tremuloides* (‘Münden 2’), P6: *P. trichocarpa* (‘Weser 6’), P9: *P. trichocarpa* x *P. deltoides* (B19), P10: *P. maximowiczii* (‘Max 4’), P11: *P. ussuriensis* (‘Heilong’), P31: *P. alba* (‘Raket’)).

Versuchsnr.	Fusionspartner	Linie	Ploidiegrad	Phänotyp
4-02	-	-	2n	P3 (Ausgangslinie)
4-43	P11xP3	36-4	?	P3
4-49	P11xP3	47-1	?	P3
4-52	P11xP3	50-1	?	P3
4-56	P11xP3	55-1	?	P3
4-58	P11xP3	58-1	?	P3
4-59	P11xP3	60-1	?	P3
4-64	P11xP3	80-1	?	P3
5-17	P1xP6	6-10-1	4n	P1
5-20	P3xP9	2.11-1	4n	P3
6-34	P10xP31	13-1	?	P31

b) Gewächshausversuch: Investition in unterschiedliche Pflanzenorgane

Zur weiterführenden Charakterisierung der oben genannten Fusionslinien hinsichtlich der Investition in verschiedene Pflanzenorgane wurde ein Gewächshausversuch durchgeführt. Der Versuch beinhaltete je Linie 10 Wiederholungen, die Versuchsdauer war auf eine Vegetationsperiode angelegt. Die Pflanzen wurden nach Versuchsende in Blatt, Sprossachse und Wurzel getrennt und jeweils das Frisch- und Trockengewicht bestimmt. Die Daten wurden mittels Varianzanalyse ausgewertet und sind in den Graphiken der Abbildung 10 zu sehen.

Hinsichtlich der Gesamttrockenmasse – bestehend aus Sprossachse (im Nachfolgenden Spross genannt), Blätter und Wurzel – zeigte nur die Linie P3 (1-34) einen signifikant höheren Wert als die diploide Hybridaspes (P3) und der triploide Klon 'Astria' (siehe Abb. 10 c)). Vergleichbar mit der nutzbaren Biomasse bei einem Anbau in Kurzumtriebsplantagen ist die Sprossachsensprossstrockenmasse. Diese ist für die Fusionslinien in Abb. 10 b) zu sehen. Die Sprosstrockenmasse lag für die Linien P3 (1-34) signifikant höher im Vergleich zur diploiden Hybridaspes und der triploiden 'Astria'. Die Sprosstrockenmasse der Fusionslinie P3 (1-90) war nur gegenüber dem diploiden Ausgangsklon erhöht.

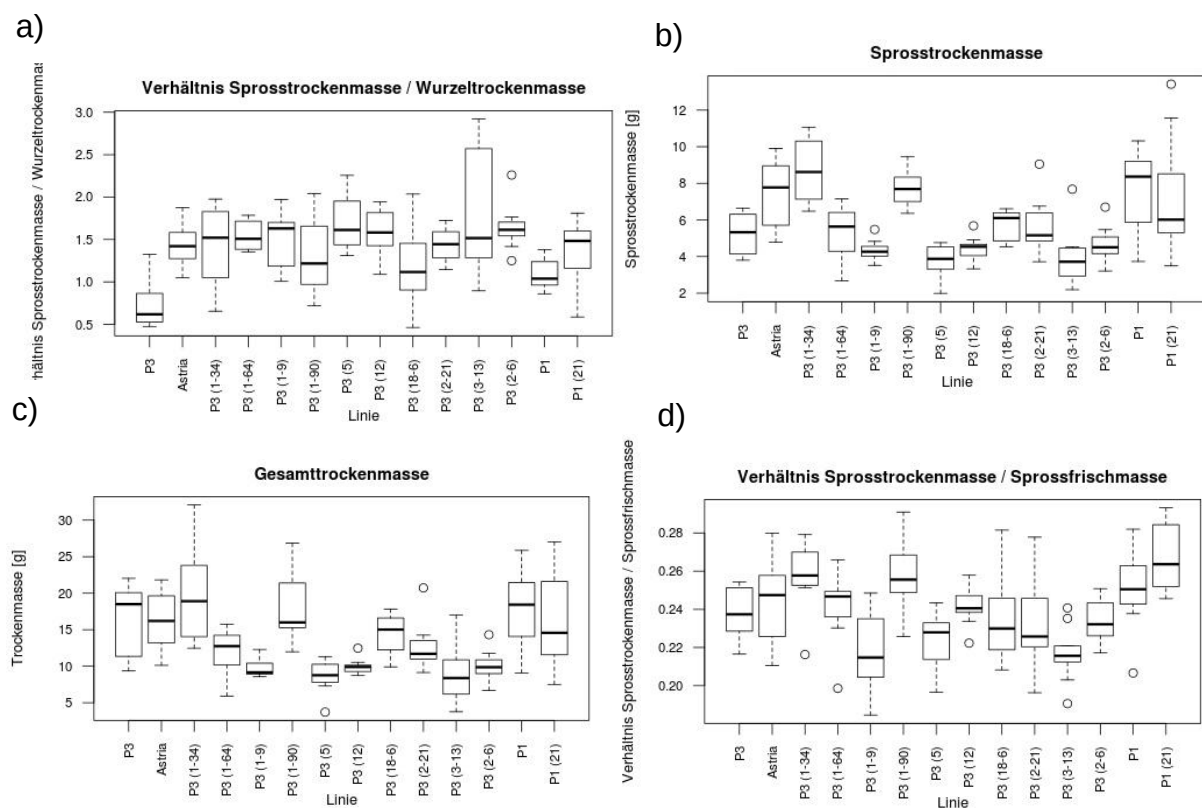


Abbildung 10: a) Gesamttrockenmasse, b) Sprosstrockenmasse, c) Verhältnis Sprosstrockenmasse - Wurzeltrockenmasse, d) Verhältnis Sprosstrockenmasse - Sprossfrischmasse; P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden2', 2n), Astria = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Astria', 3n), P1 = *P. x canescens* (INRA clone No. 717 1-B4, 2n), P1 (21) = *P. x canescens* (4n), sonstige Linien: Fusionslinien von P3.

Einen ersten Hinweis in Bezug auf Trockentoleranz gibt das Verhältnis von Sprosstrockenmasse zu Wurzeltrockenmasse. Ein intensives Wurzelwachstum kann während Trockenperioden dazu beitragen, das Überleben der Pflanze zu sichern, da hierdurch tiefere, feuchtere Bodenschichten erschlossen werden können. Da das Wurzelwachstum zusätzlich von der Gesamtgröße der Pflanze abhängt, wurde ein Verhältnis aus Sprosstrockenmasse und Wurzeltrockenmasse erstellt (siehe Abb. 10 a)). Hier sieht man, dass alle 10 Fusionslinien signifikant mehr in oberirdische Sprossmasse als in unterirdische Wurzelmasse investierten. Dieses Ergebnis gibt einen Hinweis darauf, dass der diploide Ausgangsklon durch erhöhte Investition in Wurzelbiomasse eher für trockene Standorte geeignet wäre als die Fusionslinien. Wobei zu beachten ist, dass die Trockentoleranz von Pflanzen einer Vielfalt weiterer Anpassungsmechanismen unterliegt. Das Verhältnis aus Spross- und Wurzeltrockenmasse der Fusionslinien war gegenüber der triploiden Hybridaspe gleich – abgesehen von P3 (3-13), der eine höhere Sprossmasse aufwies.

In Abbildung 10 d) ist das Verhältnis der Sprosstrockenmasse zur Sprossfrischmasse dargestellt. Dieses gibt den Wassergehalt des Holzes an, der den Heizwert neben der Holzdichte entscheidend mitbestimmt. Ein hoher Wassergehalt beeinträchtigt zudem die Lagerfähigkeit von Hackschnitzeln (Hartmann und Böhm, 2001). Insofern ist ein niedriger Wassergehalt von Holz für den Anbau in KUP vorteilhaft. Ein niedriger Wassergehalt schlägt sich in dem Verhältnis aus Trocken- zu Frischmasse in einem höheren Wert nieder. Die Fusionslinien zeigten hier ein heterogenes Bild. Die Linien P3 (1-34) und P3 (1-90) wiesen einen signifikant niedrigeren Wasseranteil auf als der diploide Klon. Signifikant höhere Wassergehalte waren in den Fusionslinien P3 (1-9) und P3 (3-13) zu finden. Im Vergleich zur triploiden 'Astria' zeigten die Fusionslinien P3 (1-9), P3 (1-64), P3 (2-6), P3 (2-21), P3 (3-13), P3 (5) und P3 (12) einen signifikant niedrigeren Wassergehalt.

c) Untersuchungen aus Trockenstressexperiment

In Erweiterung des Projektes wurden im Rahmen einer Dissertation Trockenstressreaktionen von Fusionslinien der Hybridasper untersucht. Im ersten Trockenstressexperiment wurden 20 Linien aus Protoplastenfusionsexperimenten mit *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden 2' = P3) untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten, dass die tetraploiden Linien eine signifikant höhere Trockentoleranz aufwiesen als der diploide Ausgangsklon.

Morphologie

Im Zusammenhang mit einem weiteren Trockenstressexperiment wurden vier weitere tetraploide Linien und deren diploider Ausgangsklon P3 (*P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden 2')) untersucht.

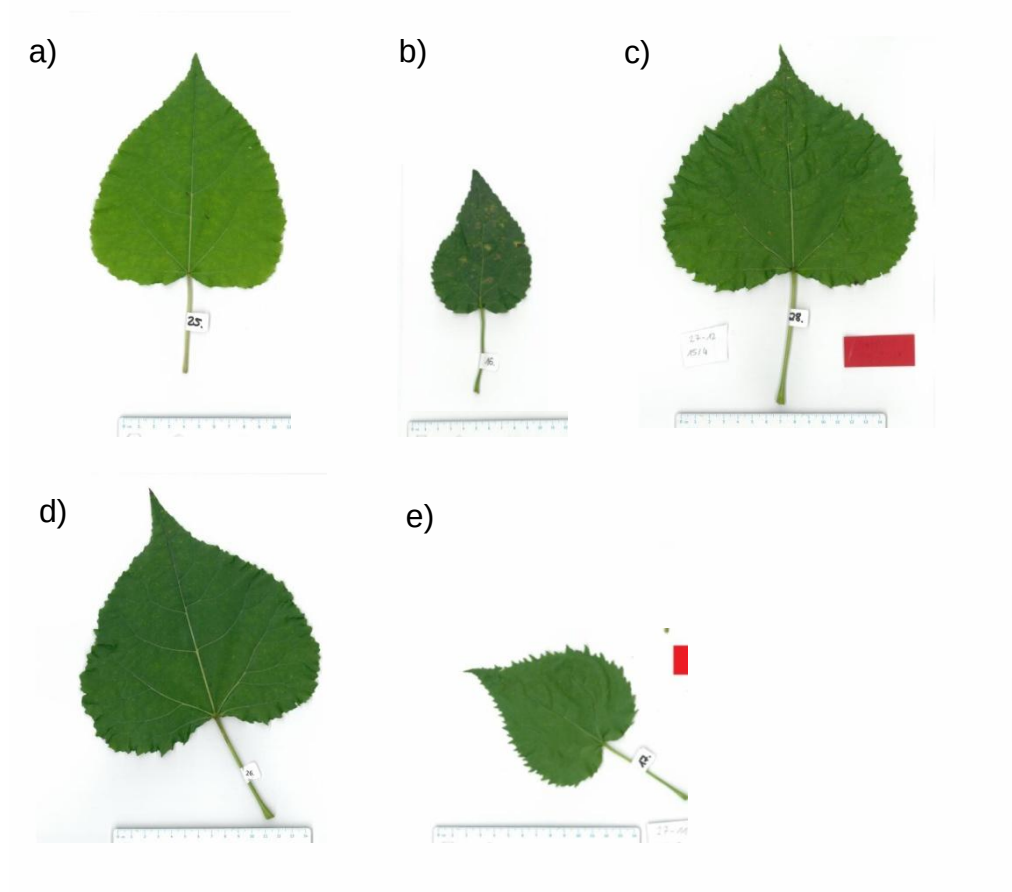


Abbildung 11: Blätter der Hybridasper und von Fusionslinien (aus dem unteren Drittel des Sprosses) a) P3 = *P. tremula* x *P. tremuloides* ('Münden 2', 2n), b) P3 (2-4-1, 4n), c) P3 (3-5-1, 4n), d) P3 (4-1-5, 4n), e) P3 (4-1-13, 4n).

Da die Blattfläche als Transpirationsoberfläche essentiellen Einfluss auf die Trockentoleranz haben kann, wurde diese neben weiteren Parametern aufgenommen. Dazu wurden die Blätter der Pflanzen eingescannt (siehe Abb. 11).

Die tetraploiden Linien zeigten einen stärker gezähnten Blattrand als die diploide Ausgangslinie (vgl. Abb. 11 a) und 11 b) – e)). Besonders trat hier die Linie P3 (4-1-13) hervor. Bei diesem Trockenstressversuch wurden weitere physiologische Parameter wie die Höhenzuwächse, die stomatäre Leitfähigkeit, der relative Wassergehalt und die Vitalität untersucht (Publikation in einer nachfolgenden Dissertation). Bezüglich der Höhe waren ebenfalls Unterschiede sowohl zur Ausgangslinie als auch zwischen den tetraploiden Linien zu sehen.

Genetisch wurden diese Linien bereits mit zehn Kernmikrosatellitenmarkern untersucht. Diese Untersuchung gab Hinweise darauf, dass die Linien nur genetisches Material des Ausgangsklones *P. tremula* x *P. tremuloides* (‘Münden 2’) enthalten. Die Heterogenität in der physiologischen Reaktion auf Trockenstress und der morphologischen Ausprägung sowohl gegenüber dem diploiden Ausgangsklon als auch innerhalb des Pools der tetraploiden Linien, zeigt jedoch, dass Unterschiede vorhanden sind. Um zu analysieren, ob diese auf genetischer Ebene liegen, wurden die Trockenstressuntersuchungen im Rahmen der Dissertation durch eine genomweite Sequenzierung (Next Generation Sequencing) ausgewählter Linien erweitert.

2. Verwertung

Die erzeugten Fusionslinien werden in die Vorselektionen des ebenfalls von der NW-FVA durchgeführten Projektes FastWOOD übergehen, um hier auf die besondere Eignung für den Anbau in KUP untersucht zu werden. Einige tetraploide Genotypen sollen auf einem Poluletum ausgebracht werden, um später als Kreuzungspartner für die Züchtung von triploiden Klonen eingesetzt zu werden.

Zeitliches Vorgehen

Weiteres Vorgehen bezüglich der Fusionslinien

1. Fläche Haus Weseraue

Material: Fusionslinien mit Phänotypen der Sektion *Populus* und deren Ausgangsklone (Besonderheit: Keine Steckhölzervermehrbarkeit)

i. Anlage 2012

Versuchsdesign: Blockdesign, 3 Wiederholungen, 20 Pflanzen / Parzelle,

Pflanzverband: 1,8 m x 0,5 m

- Messung der Höhen und WHD im Winter 2014/15
- Auswahl: Klone, die sich in der Wuchseistung deutlich absetzen und 4 tetraploide Linien falls es sich hierbei nur um diploide Linien handelt:
=> Rückschnitt von 2 Versuchsblöcken der Pflanzen je Genotyp im Winter 2014/15
=> Grünstecklinge aus neuen Trieben werben (20 Grünstecklinge) im Sommer 2015
=> Ziel: 10 Pflanzen je Genotyp auf Erhaltungsfläche

ii. Anlage 2013:

Versuchsdesign: Einzelbaumparzellen, Pflanzverband: 1,8 m x 0,5 m, 1 - 4 Wiederholungen (je nach Verfügbarkeit)

- Messung der Höhe und WHD im Frühjahr 2015 und 2016
- Weiterverfahren: Werbung von Grünstecklingen wüchsiger Linien im Frühjahr 2016 (s.o.)

2. Frühbeetkästen Weserkamp

Material: Fusionslinien mit Phänotypen der Sektionen Tacamahaca und *Aigeiros*
(Steckholzvermehrbarkeit)

- Übergabe von wüchsigen Fusionslinien an das Projekt FastWOOD
- Erhaltung weiterer Genotypen ist angedacht

3. Erkenntnisse von Dritten

Erkenntnisse von Dritten während des Projektzeitraumes hinsichtlich des Forschungsvorhabens liegen der NW-FVA nicht vor.

4. Veröffentlichungen

Hennig, A.; Polle, A.; Janßen, A. (2014): Trockenstressreaktion tetraploider Hybridaspens (*Populus tremula* x *P. tremuloides*) aus Protoplastenfusionsexperimenten. Vortrag, Forstwissenschaftliche Tagung, 17. – 19.09.2014.

Hennig, A.; Löffler, S., Janßen, A. (2014): Biomarkermuster tetraploider Aspen unter Trockenstress-bedingungen - Vergleich verschiedener Pappelarten und Ploidiegrade. Posterbeitrag, Fachtagung Sektion Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, 10. – 12.09.2014 in Teisendorf.

Lührs, R.; Efremova, N.; Krull, A.; Welters, P.; Fladung, M.; Hennig, A.; Meier-Dinkel, A.; Janßen, A. (2014): Entwicklung polyploder Klone von verschiedenen Pappelarten mit Hilfe der Protoplastenfusion. Posterbeitrag, FastWOOD Symposium, 2. – 3. 09.2014 in Berlin.

Hennig, A.; Kleinschmit, J.R.G.; Janßen, A. (2014): Breeding of tetraploid poplar for dry land sites. Posterbeitrag, Sixth International Poplar Symposium (IPS-VI). Fachtagung 20. – 28.07.2014 in Vancouver.

Efremova, N.; Lührs, R.; Krull, A.; Welters, P.; Voß, M.; Fladung, M.; Hennig, A.; Meier-Dinkel, A.; Janßen, A. (2013): Züchtung neuer Energiepappeln. Posterbeitrag auf dem Internationalen Kongress – Agrarholz vom 19. bis 20.02.2013 in Berlin.

Lührs, R.; Efremova, N.; Welters, P.; Meier-Dinkel, A.; Janßen, A.; Voß, M.-M.; Fladung, M. (2012): ZÜEND – Züchtung neuer Energiepappeln für Deutschland. Posterbeitrag. Kurzfassung des Posterbeitrages in: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (Hrsg.): Züchtung und Ertragsleistung schnellwachsender Baumarten im Kurzumtrieb. Erkenntnisse aus drei Jahren FastWOOD, ProLoc und Weidenzüchtung. Fachtagung vom 21. bis 22.09.2011 in Hann. Münden. Beiträge aus der NW-FVA, Band 8, 388-389

Hennig, A.; Fehrenz, S.; Weber, D. (2012): Chlorophyllfluoreszenz und Wassergehalt einer Fusionsnachkommenschaft von *Populus tremula* x *P. tremuloides* und *P. nigra* unter Trockenheit. Posterbeitrag auf der Forstwissenschaftlichen Tagung vom 19. bis 22.09.2012 in München/Weihenstephan

5. Literatur

- Agrawal, D.C.; Gebhardt, K. (1994):** Rapid micropropagation of hybrid willow (*Salix*) established by ovary culture. *J. Plant Physiol.* 143: 763-765.
- Barocka, K.H.; Baus, M.; Lontke, E.; Sievert, F. (1985):** Tissue culture as a tool for mass *in vitro* propagation of aspen. *Z. Pflanzenzüchtung* 94, pp. 340-343.
- Bohnens, J.; Friedrich, E. (1990):** Züchterische Maßnahmen zur Steigerung und Sicherung der Produktion und anbautechnische Untersuchungen zur Biomasseproduktion in forstlichen Schnellwuchsplantagen. Bundesministerium für Forschung und Technologie, Schlussbericht zum Forschungsvorhaben 03C 176 5, 140 S.
- Chaturvedi, H. C.; Sharma, A. K.; Agha, B. Q.; Jain, M.; Sharma, M. (2004):** Production of cloned trees of *Populus deltoides* through *in vitro* regeneration of shoots from leaf, stem and root explants and their field cultivation. *Indian Journal of Biotechnology* (2) pp. 203 – 208.
- Fröhlich, H. J.; Grosscurth, W. (1973):** Züchtung, Anbau und Leistung der Pappeln. *J.D. Sauerländer's Verlag*; Frankfurt am Main, 267 S.
- Gebhardt, K. (1989):** Application of tissue culture in masspropagation and improvement of poplars. In: Proceedings of the IUFRO working party S2.02.10, Hann. Münden, F. R. Germany, 125-134.
- Gebhardt, K. (1990):** In-vitro-Kultur bei Waldbäumen; Untersuchungen über In-vitro-Techniken zur Züchtung und Anzucht von Waldbäumen“. Schriften des Forschungsinstitutes für schnellwachende Baumarten, Hann. Münden, Band 5, 57 S.
- Gebhardt, K. (1996):** Preservation of black poplar by means of embryo rescue. In: Proceedings of the 20th Session of the Int. Poplar Commission, Budapest, ed. István Bach. Vol. II, Posterbeitrag, p. 909.
- Gebhardt, K. und Meier-Dinkel, A., (1998):** In-vitro-Vermehrung von Wildbirne. In: Kleinschmit. J. Soppa, B. und Fellenberg, U. (eds.) Die Wildbirne, *Pyrus pyraeaster* (L.) BURGSD. Tagung zum Baum des Jahres am 17. und 18.3.1998 in Göttingen. Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 125, J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main: S. 104-109.
- Gebhardt, K., Pohl, A., Vornam, B. (2002):** Genetic inventory of Black Poplar populations in the Upper Rhine floodplains: conclusions for conservation of an endangered plant species. In: Proceedings of the Black Poplar“ held 16. – 20. Mai 2001 in Szekszárd, Ungarn; eds. B.C. van Dam and S. Bordács, C. Nyomda Ltd. Budapest, Hungary, pp. 145- 156.

- Harvengt, L., Meier-Dinkel, A. Dumas, E. and Collin, E. (2004):** Establishment of a cryopreserved gene bank of European Elms. *Canadian Journal of Forest Research* 34 (1): pp. 43-55.
- Janßen, A. (1997):** Unterscheidung der beiden Schwarzpappelarten *Populus nigra* L. und *P. deltoides* Marsh. sowie ihrer Arthybride *P. x euramericana* (Dode) Guinier mit Hilfe von Isoenzymmustern. *Holzzucht* 51, S. 17-23.
- Laliberté, S.; Lalonde, M. (1988):** Sustained caulogenesis in callus cultures of *Larix x eurolepis* initiated from short shoot buds of 12-year-old tree. *Amer. J. Bot.* 75 (6): pp. 767 – 777.
- Meier-Dinkel, A. (1986):** *In vitro* Vermehrung ausgewählter Genotypen der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.). *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung* 157 (7): 139-144.
- Meier-Dinkel, A. (1987):** *In vitro* Vermehrung und Weiterkultur von Stieleiche (*Quercus robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). *Allgemeine Forst und Jagdzeitung* 158 (11/12): S. 199-204.
- Meier-Dinkel, A. (1989):** *In vitro* propagation of deciduous trees. In: Rao, A.N. and Yusoff, A.M. (eds.), *Proceedings. Seminar on Tissue Culture of Forest Species*, June 15-18, 1987, Kuala Lumpur, Malaysia: pp. 167-174.
- Meier-Dinkel, A. (1992):** Micropropagation of Birches (*Betula* spp.) In: Bajaj, Y.P.S. (ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 18, High-Tech and Micropropagation II*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: S. 40-81.
- Meier-Dinkel, A. (1998):** *In vitro* Vermehrung von Speierling (*Sorbus domestica* L.). *Corminaria* 9: S. 9-13.
- Meier-Dinkel, A. (2003):** Selektion, Prüfung, Zulassung und Kommerzialisierung hochwertiger Vogelkirschenklone (*Prunus avium* L.) für die forstliche Praxis. *AFZ/Der Wald* 16: S. 798-800.
- Meier-Dinkel, A. (2007):** Cryopreservation of *Betula* in vitro shoot tips by vitrification. *Advances in Horticultural Science* 21 (4): pp. 215-218.
- Meier-Dinkel, A., Fey-Wagner, C. and Frühwacht-Wilms, U. (2008):** Application of cryopreservation of in vitro shoots for setting-up a cryo-genebank of *Betula*. (Abstract). In: *Cryopreservation of Crop Species in Europe*. Laamanen. J. et al. (eds.). *Agrifood Research Working Papers* 153. ISBN 978-952-487-156-3, p. 59.
- Meier-Dinkel, A., Schüte, G., Tae Su, K., Kleinschmit, J. (1993):** Beiträge zur In-vitro Vermehrung und Wurzelentwicklung von Stiel- und Traubeneiche sowie zur Erhaltung forstlicher Genressourcen. *Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 11*. J.D. Sauerländer's Verlag Frankfurt am Main.

- Murashige, T. & Skoog, F. (1962):** A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* (15) pp. 473 – 497.
- Rau, H.M.; Schulzke, R.; Albrecht, J. (1988):** Steigerung und Sicherung der Holzproduktion durch Auswahl, Prüfung und züchterische Verbesserung geeigneten Ausgangsmaterials bei schnellwachsenden Baumarten. Schriften des Forschungsinstitutes für schnellwachsende Baumarten, Hann. Münden, Band 5, 177 S.
- Rugini, E. (1984):** *In Vitro* Propagation of some Olive (*Olea Europaea Sativa* L.). Cultivars With Different Root-Ability, And Medium Development Using Analytical Data From Developing Shoots And Embryos. *Scientia Horticulturae* (24) pp. 123 – 134.
- Schoenweiss, K. and Meier-Dinkel, A., (2005):** *In vitro* propagation of selected mature trees and juvenile embryo-derived cultures of Common Ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Journal of Ornamental Plant Propagation* 5 (3): pp. 137-145.
- Schoenweiss, K., Meier-Dinkel, A. and Grotha, R. (2005):** Comparison of cryopreservation techniques for long-term storage of ash (*Fraxinus excelsior* L.). *CryoLetters* 26 (3): pp. 201-212.
- Stettler R, Koster R, Steenackers V (1980):** Interspecific Crossability Studies in Poplars. *TAG* (58): pp. 273-282.
- Storme, V., Vanden Broeck A., Ivens, B., Halfmaerten, D., Van Slycken, J., Castiglione, S., Grassi F., Fossati, T., Cottrell, J.E., Tabbener, H. E., Lefvere, F., Saintagne, C., Fluch S., Krystufek, V., Burg, K., Bordacs, S., Borovics, A., Gebhardt, K., Vornam B., Pohl, A., Alba, N., Agundez, D., Maestro, C., Notivol, E., Bovenschen, J., Vandam B. C., Van der Schoot J., Vosman B., Boerjan W., Smulders M. J. M. (2004):** Ex-situ conservation of Black poplar in Europe: genetic diversity in nine gene bank collections and their value for nature development. *TAG* 108(6): pp. 969-982.
- Weisgerber, H. (1983):** Wuchsverhalten und Anbaumöglichkeiten einiger neu zum Handel zugelassener Balsampappeln und Aspen. *Holzzucht* (37): S. 2-10.
- Weisgerber, H. (1989):** Biomass production with fast growing tree species in short rotation periods. In: Mitschell C.P., Sennerby-Forsse L. and Zsuffa L. (eds): Multipurpose Tree Production systems. Swed. Univ. Agricult. Sci. Uppsala, Rapp. 46, pp. 54-70.
- Yadav, R., (2009):** High frequency direct plant regeneration from leaf, internode, and root segments of Eastern Cottonwood (*Populus deltoides*). *Plant Biotechnol Rep* (3): pp. 175-182.

6. Anhang

Tabelle 6: In-vitro-Etablierungen ausgewählter Klone (Legende: Der Zusatz „frei“ gibt eine freie Abblüte an, Geschlecht: f ≡ weiblich, m ≡ männlich, - ≡ Geschlecht nicht bekannt, Etablierungserfolg: - ≡ nicht durchgeführt).

Sektion	Art/Kreuzung	Klon-bezeichnung	NW-Nummer	Geschlecht	Etablierungserfolg	
					Festmedium	Flüssigmedium
Aigeiros	<i>P. deltoides</i>	Marquette	NW 07-623 Z	f	nein	ja
		-	NW 07-612 L	f	nein	nein
		Peoria	NW 09-454 P	f	nein	nein
		Delta	NW 10-1412 P	-	nein	-
		D 1092	NW 11-393 S	m	nein	-
		-	NW 12-99 S	f	-	nein
		-	NW 12-300 F	f	-	nein
		-	NW 12-102 V	m	-	nein
		-	NW 12-103 W	m	-	nein
	<i>P. nigra</i>	MD 145-A	NW 11-362 E	f	ja	-
		MD 161-1A	NW 11-363 F	m	ja	-
		Fz 26	NW 11-235 D	m	nein	-
		Rüd 118	NW 09-488 E	m	ja	-
		Rüd 126	NW 09-487 D	m	nein	-
		Rüd 19	NW 09-460 W	f	ja	-
		Rüd 6	NW 09-459 V	f	ja	-
		Rüd ND	NW 09-494 M	m	ja	-
		Schoorlham	NW 07-117 W	f	ja	-
Tacamahaca	<i>P. cathayana</i>	-	NW 07-573 P	m	ja	-
	<i>P. koreana</i>	-	NW 09-465 C	f	ja	ja
	<i>P. maximowiczii</i>	-	NW 07-740 N	m	ja	-
		-	NW 07-725 V	f	ja	-
		-	NW 09-1058 K	-	ja	-
		-	NW 07-694 H	f	nein	-
		-	NW 07-1121 S	-	ja	-
	<i>P. maximowiczii</i> x frei	-	NW 09-64 A	-	ja	-
	<i>P. simonii</i>	-	NW 09-475 P	m	ja	-
	<i>P. szechuanica</i>	-	NW 09-1113 B	f	ja	-
	<i>P. trichocarpa</i>	Salem/ Oregon	NW 07-18 D	f	ja	-
		Trichobel	NW 07-786 T	m	nein	nein
		Weser 6	NW 07-737 K	m	ja	-
		-	NW 10-272 X	m	ja	-
		Brühl 5	NW 12-105 Z	m	ja	ja

Sektion	Art/Kreuzung	Klon- bezeichnung	NW-Nummer	Geschlecht	Etablierungserfolg	
					Festmedium	Flüssigmedium
Tacamahaca	<i>P. trichocarpa</i>	Brühl 8	NW 12-106 A	f	ja	ja
		Scott Pauley	NW 12-108 C	f	ja	ja
	<i>P. ussuriensis</i>	Heilong	NW 07-933 T	-	ja	-
	<i>P. maximowiczii</i> x <i>P. trichocarpa</i>	Matrix 11	NW 07-199 U	-	nein	-
	<i>P. maximowiczii</i> x <i>P. trichocarpa</i>	Matrix 24	NW 09-1347 L	-	ja	-
	<i>P. maximowiczii</i> x <i>P. trichocarpa</i>	Matrix 49	NW 08-1975 X	-	nein	-
<i>Populus</i>	<i>P. alba</i>	Raket	NW 11-233 B	f	ja	-
<i>Leucoides</i>	<i>P. lasiocarpa</i>	-	NW 11-1665 X	m	ja	-

Tabelle 7: Übersicht Materialabgabe von Ausgangsklonen als In-vitro-Kulturen an den Projektpartner Phytowelt (Legende: Der Zusatz „frei“ gibt eine freie Abblüte an, Geschlecht: f ≡ weiblich, m ≡ männlich, - ≡ Geschlecht nicht bekannt).

Art	Klonbezeichnung	NW-Nummer	Geschlecht	Sprossanzahl	Übergabedatum
<i>P. alba</i>	Raket	NW 11-233 B	f	16	16.11.2011
<i>P. cathayana</i>	-	NW 07-573 P	m	16	16.11.2011
<i>P. euphratica</i>	-	NW 12-465 C	-	32	18.04.2012
<i>P. koreana</i>	123/49	NW 12-104 X	f	64	04.06.2013
<i>P. lasiocarpa</i>	-	NW 11-1665 X	m	32	18.04.2012
<i>P. nigra</i>	MD 145-A	NW 11-362 E	f	3	19.05.2011
	Rüd 118	NW 09-488 E	m	5	19.05.2011
				16	16.11.2011
	Rüd 6	NW 09-459 V	f	16	16.11.2011
	Rüd ND	NW 09-494 M	m	16	16.11.2011
	Schoorlham	NW 07-117 W	f	16	16.11.2011
<i>P. maximowiczii</i>	-	NW 07-740 N	m	7 26	16.11.2011, 09.05.2012
	-	NW 07-725 V	f	16 24	16.11.2011, 02.05.2012
	-	NW 07-1121 S	-	32	18.04.2012
	-	NW 09-1058 K	-	32	18.04.2012
<i>P. maximowiczii</i> x frei	-	NW 09-64 A	-	3	19.05.2011
<i>P. maximowiczii</i> x <i>P. trichocarpa</i>	Matrix 24	NW 09-1347 L	-	32	04.06.2013
<i>P. simonii</i>	-	NW 09-475 P	m	3	19.05.2011
<i>P. szechuanica</i>	-	NW 09-1113 B	f	16	16.11.2011
<i>P. tremula</i>	Ahle 4	NW 07-3 L	m	7	19.05.2011
	Ahle 5	NW 07-4 M	m	7	19.05.2011
	Ahle 13	NW 07-5 N	m	7	19.05.2011

Art	Klonbezeichnung	NW-Nummer	Geschlecht	Sprossanzahl	Übergabedatum
<i>P. tremula</i>	Ahle 16	NW 07-6 P	m	7	19.05.2011
	Ahle 17	NW 07-7 R	m	7	19.05.2011
<i>P. tremula</i> x <i>P. tremuloides</i>	Münden 6	NW 07-9 T	m	7	19.05.2011
	Münden 7	NW 07-10 U	f	7	19.05.2011
	Münden 11	NW 07-11 V	f	7	19.05.2011
	Münden 13	NW 07-12 W	m	7	19.05.2011
	Münden 16	NW 07-13 X	m	7	19.05.2011
	Astria	NW 07-15 A	f	16	04.06.2013
<i>P. trichocarpa</i>	Brühl 5	NW 12-105 Z	m	6	15.05.2012
	Brühl 8	NW 12-106 A	f	8	15.05.2012
	Salem/ Oregon	NW 07-18 D	f	7	16.11.2011
	Weser 6	NW 07-737 K	m	32	18.04.2012
	Scott Pauley	NW 12-108 C	f	32	04.06.2013
<i>P. ussuriensis</i>	Heilong	NW 07-933 T	-	3	19.05.2011

Tabelle 8: Übersicht Rückgabe von Fusionslinien an den Projektpartner Phytowelt.

Versuchsnr.	Linie / Klon	Ploidie	Fusion	Phänotyp	Anzahl	Übergabedatum
2111/31-1	Astria	3n	-	Astria	10	4.06.2013
2111/30-01-	P1	2n	-	P1	5	
2111/30-04	P3	2n	-	P3	5	
2111/22-29	18-6	4n	P3xP7	P3	10	
2111/22-35	2-21	4n	P3xP7	P3	5	
2111/22-37	1-9	4n	P3xP7	P3	10	
2111/22-45	1-90	4n	P3xP7	P3	10	
2111/22-41	1-64		P3xP7	P3	5	
2111/22-51	3-13		P3xP7	P3	10	
2111/22-55	2-6		P3xP7	P3	5	
2111/22-57	1-34		P3xP7	P3	10	
2111/23-03	P3-5		P3xP7	P3	10	
2111/23-05	P3-12		P3xP7	P3	5	
2111/23-06	P1-4n		P1xP2	P1	5	
2112/28-03	4.3-2	4n	P3xP9	P3	1	17.06.2014
2112/28-05	1.128	4n	P3xP7	P3	2	
2112/28-09	2.2-10	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-12	1.123	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-20	6.26	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-28	4.1-3	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-30	2.2-21	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-31	4.3 A	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-32	1.11	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-33	18.3	4n	P3xP7	P3	2	
2112/28-34	2.5-44	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-43	3.14	4n	P3xP7	P3	1	

Versuchsnr.	Linie / Klon	Ploidie	Fusion	Phänotyp	Anzahl	Übergabedatum
2112/28-44	18.17	4n	P3xP7	P3	1	17.06.2014
2112/28-45	2.2-53	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-46	2.217	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-54	8.82-3	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-56	2.6	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-60	2.3-2-2	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-61	8.56-3	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-62	2.3-2-5	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-64	4.13	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-65	2.218-1	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-66	2.2-3	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-68	4.1-16	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-74	2.3-2-7	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-75	4.13-2	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-79	6.67	4n	P6xP1	P1	1	
2112/28-80	4.6	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-81	2.6-3	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-82	6.49	4n	P1xP6	P1	1	
2112/28-83	4.1-1	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-86	4.1-6	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-88	2.3-2-2	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-93	2.3-2-4	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-95	8.82-1	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-99	8.24	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-100	1.103	??	P3xP7	P3	1	
2112/28-103	6.6	4n	P3xP7	P3	2	
2112/28-105	18.3	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-118	6.25	4n	P3xP7	P3	3	
2112/28-130	18.1	4n	P3xP7	P3	2	
2112/28-134	1.121	4n	P3xP7	P3	1	
2112/28-138	2.3-2-1	4n	P3xP9	P3	2	
2112/28-140	6.4	4n	P6xP1	P1	1	
2112/28-141	4.2	4n	P3xP9	P3	1	
2112/28-142	2.3-2-6	4n	P3xP9	P3	3	

Tabelle 9: Übersicht über erhaltene Ausgangsklone.

Art	Klon	Versuchsnr.	Erhalten von	Ploidiegrad	Sprossanzahl	Übergabedatum
<i>P. x canescens</i>	INRA clone 717 1 B4	2111/23-08	Uni Göttingen, Albrecht-von-Haller-Institut, Dr. Teichmann	2n	NA	19.05.2011
<i>P. x canescens</i>	INRA clone 717 1 B4	2111/30-01	PHY	2n	7	16.11.2011
<i>P. euphratica</i>	-	2108/10-04	Uni Göttingen, Abt. Forstbotanik und Baumphysiologie, Prof. Polle	2n	1	16.05.2008
<i>P. nigra</i>	102E (Code Uni Göttingen)	2111/30-06	PHY	2n	5	16.11.2011
<i>P. nigra</i>	Aue 2	2113/6-01	PHY	2n	2	04.06.2013
<i>P. nigra</i>	Aue 2 FD83	2113/6-02	PHY	1n	5	04.06.2013
<i>P. nigra x P. maximowiczii</i>	Max 4	2112/38-01	PHY	2n	5	13.11.2012
<i>P. tremula</i>	Brauna 11	2112/38-02	PHY	2n	7	13.11.2012
<i>P. tremula x P. tremuloides</i>	Münden 2, M2-11.7	2111/30-04	PHY	2n	6	16.11.2011
<i>P. trichocarpa</i>	Weser 6	2111/30-05	PHY	2n	5	16.11.2011
<i>P. trichocarpa x P. deltoides</i>	B19	2111/30-08	PHY	2n	6	16.11.2011

Tabelle 10: Übersicht Materialerhalt von Linien aus der somatischen Hybridisierung aus dem Vorläuferprojekt „Innovative Hybridpappeln“ (Dr. Teichmann, Schwann-Schleiden-Zentrum, Abt. Zellbiologie der Pflanzen, Göttingen).

Linie	Versuchsnr.	Fusions-partner 1	Fusions-partner 2	Phänotyp	Ploidiegrad	Übergabedatum
P1-4n	2111/23-07-	<i>P. x canescens</i> (P1)	<i>P. tremula</i> (P2)	<i>P. x canescens</i>	4n	19.05.2011
P3-A	2111/23-01	<i>P. tremula x P. tremuloides</i> (P3)	<i>P. x canescens</i> (P1)	<i>P. tremula x P. tremuloides</i>	2n	19.05.2011
P3-2	2111/23-04				4n	19.05.2011
P3-3	2111/23-02				4n	19.05.2011
P3-5	2111/23-03				4n	19.05.2011
P3-12	2111/23-05				4n	19.05.2011

Tabelle 11: Übersicht Materialerhalt von Linien aus der somatischen Hybridisierung aus dem Vorläuferprojekt „Innovative Hybridpappeln“ erhalten vom Projektpartner PHY.

Linie	Versuchsnr.	Fusions-partner 1	Fusions-partner 2	Phänotyp	Ploidiegrad	Übergabedatum
21	2111/30-03	<i>P. x canescens</i> (P1)	<i>P. tremula</i> (P2)	<i>P. x canescens</i>	2n	16.11.2011
52	2111/22-15	<i>P. tremula x P. tremuloides</i> (P3)	<i>P. nigra</i> (P7)	<i>P. nigra</i>	4n	19.05.2011
59	2111/22-27				4n	19.05.2011
92	2111/22-03				4n	19.05.2011
108	2111/22-17				4n	19.05.2011
143	2111/22-19				4n	19.05.2011
148	2111/22-11				4n	19.05.2011
149	2111/22-09				4n	19.05.2011
163	2111/22-21				4n	19.05.2011
183	2111/22-07				4n	19.05.2011
202	2111/22-13				4n	19.05.2011
213	2111/22-05				4n	19.05.2011
13-37	2111/22-23	<i>P. x canescens</i> (P1)	<i>P. nigra</i> (P7)	<i>P. nigra</i>	4n	19.05.2011
13-38	2111/22-25				4n	19.05.2011
13-52	2111/22-01				4n	19.05.2011
1-9	2111/22-37	<i>P. tremula x P. tremuloides</i> (P3)	<i>P. nigra</i> (P7)	<i>P. tremula x P. tremuloides</i>	4n	19.05.2011
1-16	2111/22-31				4n	19.05.2011
1-30	2111/22-49				4n	19.05.2011
1-34	2111/22-57				2n	19.05.2011
1-64	2111/22-41				4n	19.05.2011
1-70	2111/22-43				4n	19.05.2011
1-90	2111/22-45				2n	19.05.2011
1-114	2111/22-33				4n	19.05.2011
1-133	2111/22-53				4n	19.05.2011
1-215	2111/22-47				4n	19.05.2011
2-6	2111/22-55				4n	19.05.2011
2-21	2111/22-35				4n	19.05.2011
2-51	2111/22-39				4n	19.05.2011
3-13	2111/22-51				4n	19.05.2011
18-6	2111/22-29				2n	19.05.2011

Linie	Versuchsnr.	Fusions-partner 1	Fusions-partner 2	Phänotyp	Ploidiegrad	Übergabedatum
2.29	2111/30-10	<i>P. tremula</i> x <i>P. tremuloides</i> (P3)	<i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i>	<i>P. trichocarpa</i> <i>P. x deltoides</i>	4n	16.11.2011
11.1.1	2111/30-11		<i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i>	<i>P. trichocarpa</i> <i>P. x deltoides</i>	4n	16.11.2011
11.1.2	2111/30-12		<i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i>	<i>P. trichocarpa</i> <i>P. x deltoides</i>	4n	16.11.2011

Tabelle 12: Tetraploide und aneuploide Fusionslinien aus dem aktuellen Projekt, erhalten am 04.06.2013 durch den Projektpartner PHY.

Linie/ Klon	Phänotyp in vitro	Fusion	Ploidiegrad	Anzahl	Identifizierung als somatische Hybridlinie
P29		P29	1n	2	Ausgangslinie
P27		P27	2n	5	Ausgangslinie
2.29		P3xP7	4n	1	nein
8.71-1		P3xP7	4n	4	nein
8.55.3				3	
15-1 /P2	P2	P2xP2 3n	3n	6	Autofusion
16-1 /P2	P2	P2xP2 3n	3n	3	Autofusion
17-1/ P2	P2	P2xP2 > 4n	> 4n	6	Autofusion
36-2/P1	P1	P1xP6 3n	3n	6	nein
3-1 /P12	P12	P2xP2 4n	4n	6	Autofusion
5-1/ P12	P12	P2xP2 4n	4n	6	Autofusion
9-1 /P18	P18	P18xP18 3n	3n	6	Autofusion
10-1 /P18	P18	P18xP18 3n	3n	5	Autofusion
10-1 /P31	P31	P31xP31 3n	3n	3	Autofusion
25-1 /P31	P31	P31xP31 3n	3n	4	Autofusion
7-1/ P31	P31	P31xP31 4n	4n	5	Autofusion
2-1	P18	P27xP18		7	ausstehend
4-1	P18	P27xP18		7	ausstehend
4-4	P18	P27xP18		4	ausstehend
4-5	P18	P27xP18		3	ausstehend
5-1	P18	P27xP18		7	ausstehend
7-1	P18	P27xP18		8	ausstehend
8-1	P18	P27xP18		6	ausstehend
9-1	P18	P27xP18		2	ausstehend
10-1	P18	P27xP18		5	ausstehend
11-1	P18	P27xP18		10	ausstehend
12-1	P18	P27xP18		12	ausstehend
13-1	P18	P27xP18		6	ausstehend
15-1	P18	P27xP18		5	ausstehend
1-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
2-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
3-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
4-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
7-1	P10	P10xP31		5	ausstehend
8-1	P31	P10xP31		4	ausstehend

Linie/ Klon	Phänotyp in vitro	Fusion	Ploidiegrad	Anzahl	Identifizierung als somatische Hybridlinie
9-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
11-1	P10	P10xP31		5	ausstehend
13-1	P31	P10xP31		1	ausstehend
14-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
16-1	P10	P10xP31		4	ausstehend
17-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
18-1	P10	P10xP31		5	ausstehend
19-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
20-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
21-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
22-1	P31	P10xP31		5	ausstehend
26-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
27-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
28-1	P10	P10xP31		3	ausstehend
29-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
30-1	P10	P10xP31		3	ausstehend
32-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
33-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
34-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
54-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
55-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
59-1	P10	P10xP31		1	ausstehend
62-1	P10	P10xP31		2	ausstehend
9-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
22-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
23-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
37-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
38-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
44-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
46-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
51-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
54-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
56-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
59-1	P31	P39xP31		6	ausstehend
60-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
63-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
65-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
69-1	P31	P39xP31		7	ausstehend
72-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
73-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
75-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
86-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
90-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
92-1	P31	P39xP31		5	ausstehend

Linie/ Klon	Phänotyp in vitro	Fusion	Ploidiegrad	Anzahl	Identifizierung als somatische Hybridlinie
108-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
109-1	P31	P39xP31		4	ausstehend
114-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
117-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
140-1	P31	P39xP31		5	ausstehend
143-1	P31	P39xP31		6	ausstehend
60-2	?	P10x P2		10	ausstehend
61-2	?	P10x P2		6	ausstehend
62-1	?	P10x P2		8	ausstehend
65-1	P2	P10x P2		5	ausstehend
66-1	?	P10x P2		1	ausstehend
67-1	P2	P10x P2		5	ausstehend
68-2	P10	P10x P2		4	ausstehend
70-2	P10	P10x P2		6	ausstehend
71-1	P2	P10x P2		4	ausstehend
72-1	P10	P10x P2		5	ausstehend
73-1	P10	P10x P2		3	ausstehend
74-1	?	P10x P2		4	ausstehend
75-1	?	P10x P2		4	ausstehend
75-2	?	P10x P2		5	ausstehend
76-2	?	P10x P2		5	ausstehend
77-5	?	P10x P2		1	ausstehend
78-1	?	P10x P2		1	ausstehend
79-1	P10	P10x P2		4	ausstehend
80-1	P10	P10x P2		4	ausstehend
110-1	P10	P10x P2		2	ausstehend
113-1	P10	P10x P2		1	ausstehend
116-1	P10	P10x P2		4	ausstehend
17-2		P3xP12		6	ausstehend
18-1		P3xP12		5	ausstehend
20-3		P3xP12		5	ausstehend
21-1		P3xP12		5	ausstehend
22-5		P3xP12		5	ausstehend
24-2		P3xP12		10	ausstehend
25-2		P3xP12		8	ausstehend
26-4		P3xP12		9	ausstehend
28-3		P3xP12		5	ausstehend
29-1		P3xP12		5	ausstehend
30-2		P3xP12		9	ausstehend
31-8		P3xP12		5	ausstehend
32-1		P3xP12		10	ausstehend
33-2		P3xP12		5	ausstehend
34-1		P3xP12		5	ausstehend
37-1		P3xP12		5	ausstehend

Linie/ Klon	Phänotyp in vitro	Fusion	Ploidiegrad	Anzahl	Identifizierung als somatische Hybridlinie
38-1		P3xP12		6	ausstehend
40-1		P3xP12		6	ausstehend
41-1		P3xP12		7	ausstehend
42-2		P3xP12		6	ausstehend
43-1		P3xP12		6	ausstehend
44-3		P3xP12		6	ausstehend
45-1		P3xP12		7	ausstehend