

ZÜCHTERISCHE VERBESSERUNG VON WEIDENSORTEN FÜR DEN KURZUMTRIEB

GENETIC IMPROVEMENT OF WILLOW VARIETIES FOR USE IN SHORT ROTATION FORESTRY

K. Gebhardt, S. Fehrenz, U. Frühwacht-Wilms & A. Janßen

Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA), Abt. Waldgenressourcen, D-34346 Hann. Münden

ABSTRACT

Activities and results of a new willow breeding project in Germany (FKZ: 22012409 PT-FNR) funded by the Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (German Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection) are described. Different breeding strategies are discussed. The prerequisites and practical measures that lead to breeding success include the knowledge of reproductive biology, the control of the development of male flowers, the early extraction of sufficient amounts of pollen, the rooting of female shoots with flowering inflorescences, the performance of controlled crosses and the extraction of seeds from open pollination. For the crossing experiments and selection about 350 clones from 42 willow species are available. According to recent observations and literature data clones of the species *Salix viminalis*, *S. alba*, *S. fragilis*, *S. x tinctoria*, *S. malisii*, *S. japonica*, *S. caprea*, *S. triandra*, *S. daphnoides*, *S. x smithiana*, *S. x rubens*, *S. x helix*, *S. x alopecuroides* and triple hybrids such as *S. dasyclados* have a high potential of biomass production. The optimization of germination was achieved through the use of sea sand in petri dishes. Also the application of „embryo rescue“ was helpful. Storage of seeds was possible both at 20 °C or 40 °C and after freezing in liquid nitrogen. Parallel to the breeding of new varieties a clonal

field test in the form of a block experiment with 34 varieties in three replicates (N = 2.448) was established. Promising varieties will be mass propagated *in vitro* in order to reach the high number of propagules necessary for nationwide field tests. A trademark protection will be used in order to place tested clones in the market. To control licensed propagation DNA-based methods of fingerprinting will be developed.

Keywords: willow, *Salix spec.*, species and hybrids, breeding, short rotation, mass propagation, BMBF-willow breeding program

ZUSAMMENFASSUNG

Aktivitäten und Ergebnisse eines vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz geförderten neuen Weidenzüchtungsprojektes in Deutschland (FKZ: 22012409 PT-FNR) werden beschrieben. Verschiedene Züchtungsstrategien werden diskutiert. Zu den Voraussetzungen und praktischen Maßnahmen, die den Kreuzungserfolg bedingen, zählen Kenntnisse der Reproduktionsbiologie, die Kontrolle der Antherenentwicklung, die frühzeitige Gewinnung ausreichender Pollenmengen, die Bewurzelung von weiblichen Blühreisern, die Durchführung kontrollierter

Kreuzungen und die Gewinnung freier Abblüten. Für die Kreuzungsarbeiten und Selektion stehen ca. 350 Klone von 42 Weidenarten zur Verfügung. Entsprechend unseren Beobachtungen sowie Angaben aus der Literatur haben Klone der Arten *Salix viminalis*, *S. alba*, *S. fragilis*, *S. x tinctoria*, *S. malisii*, *S. japonica*, *S. caprea*, *S. triandra*, *S. daphnoides*, *S. x smithiana*, *S. x rubens*, *S. x helix*, *S. x alopecuroides* und dreifache Hybriden wie *S. dasyclados* ein hohes Potenzial für die Biomasseproduktion.

Eine Optimierung der Keimungsbedingungen wurde durch die Verwendung von Seesand in Glasgefäßen erreicht. Auch die Anwendung der Technik des „Embryo-Rescues“ war hilfreich. Eine Lagerung von Saatgut ist sowohl bei -20 °C oder -40 °C als auch nach dem Einfrieren in Flüssigstickstoff möglich.

Parallel zur Neuzüchtung wurde mit 34 Sorten verschiedener Arten eine Feldprüfung in Form eines

Blockversuches mit drei Wiederholungen (N = 2.448) angelegt

Für erfolgversprechende Weidensorten werden Methoden der Massenvermehrung *in vitro* entwickelt, um möglichst schnell die für bundesweite Feldprüfungen gewünschten Stecklingsmengen produzieren zu können. Für bewährte Klone wird ein Warenschutz angestrebt. Um eine lizenzierte Vermehrung kontrollieren zu können, werden DNA-basierte Methoden des Fingerprintings entwickelt.

Schlagwörter: Weide, *Salix spec.*, Arten und Hybride, Züchtung, Kurzumtrieb, Massenvermehrung, BMBF-Weidenzüchtungsprogramm

1 EINLEITUNG

Von Züchtern herbeigewünscht, von Taxonomen gehasst haben Weidenhybriden als Sorten für den Kurzumtrieb und die Energieholzproduktion eine zunehmend größere ökonomische Bedeutung. Die derzeit marktbeherrschende Stellung schwedischer Weidensorten, die in ganz Europa vermarktet werden, kann den Ansprüchen einer Weidenwirtschaft mit zahlreichen Produktlinien und vielfältigsten ökologischen Bedingungen südlich von Schweden nicht allein gerecht werden. Zwölf Jahre nach Beendigung des von LINDEGAARD & BARKER (1997) beschriebenen *European-Willow-Breeding-Programs* gibt es heute auch in Deutschland erstmalig ein

Weidenzüchtungsprojekt, das vom Bundesminister für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Projektträger: Fachagentur für nachwachsende Rohstoffe e.V.) mit dem Titel „Neuzüchtung und Erprobung bisher nicht registrierter Weidenklone und -sorten“ noch bis zum 30.9.2011 gefördert wird (FKZ: 22012409, siehe hierzu <http://www.weidenzuechtung.de>). An dieser Stelle werden Grundlagen, Voraussetzungen und Züchtungsstrategien diskutiert sowie erste Aktivitäten des Projektes beschrieben.

2 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

2.1 Reproduktionsbiologie

Grundlage jeder züchterischen Tätigkeit ist die Kenntnis der Reproduktionsbiologie der zu bearbeitenden Objekte. Die im Vergleich zu Pappeln relativ großen Pollen der Weiden werden hauptsächlich von Honigbienen, Hummeln und anderen Insekten übertragen, die ihrerseits von artspezifischen

Düften angelockt und mit Nektar belohnt werden. Begünstigende Wetterlagen können aber auch eine Windbestäubung ermöglichen. Obgleich Weidenarten als leicht hybridisierbar gelten, weisen CHMELAR & MEUSEL (1979) sowie NEUMANN (1981) mit Recht darauf hin, dass eine natürliche Hybridisierung von Weidenarten keineswegs so häufig anzutreffen ist, wie allgemein angenommen wird. Morphologische

Unterschiede der Blüten- und Insektenorgane, unterschiedliche Blühzeiten, Arealunterschiede, Standortpräferenzen und der daraus resultierenden unterschiedlichen innerartlichen Vergesellschaftung, geringe Pollenproduktion, die Blütenstetigkeit von Insekten, die geringe Lebensfähigkeit des Pollens und die geringe Neigung zur Windbestäubung schränken eine natürliche Hybridisierung potenziell kompatibler Partner ein. Treffen Gameten verschiedener Arten trotz aller genannten Hindernisse aufeinander und verschmelzen dennoch nicht zu einer Zygote, sprechen die Botaniker von einer gametischen Isolation (SPRINGER, 2007). Auf der Plasmamembran der Samenzellen beziehungsweise auf der Eihülle befinden sich artspezifische Makromoleküle, die bei artgleicher Paarung wie Schloss und Schlüssel zueinander passen. Trifft nun artfremder Pollen zeitgleich mit arteigenem auf die Narbe, muss der Pollenschlauch der fremden Art schneller wachsen als der des arteigenen Pollens,

um zur Befruchtung zu führen. Schon die Versuche von WICHURA (1865) und HERIBERT-NILSSON (1918) haben gezeigt, dass zwischen den Untergattungen *Amerina* und *Caprisalix* (siehe Kasten) eine unvollständige genetische Inkompatibilität ausgebildet ist. Die Untergattungshybride *Salix x hippophaefolia (triandra x viminalis)* ist wohl eine Ausnahme, die die Regel bestätigt.

Unterschiedliche Ploidieverhältnisse der Eltern können sowohl eine fehlende Gametenproduktion als auch eine höhere Bastardsterblichkeit bewirken.

Wie bei allen Salicaceen ist die Ausbildung eines Endosperms auch bei Weiden vielfach unterentwickelt. Die Keimung ist zwar generell lichtbedürftig, sie kann jedoch u. U. auch schon vorzeitig in der geschlossenen Samenkapsel erfolgen (s. GEBHARDT, 1992).

Einteilung der Gattung *Salix* (RECHINGER, 1958)

Untergattung *Amerina* (blüht spät mit dem Blattaustrieb):

Sektion *Pentandrae*: *Salix pentandra*

Sektion *Fragiles*: *Salix fragilis*, *Salix alba*, *Salix babylonica*

Sektion *Triandrae*: *Salix triandra*

Untergattung *Caprisalix* (blüht früh vor dem Blattaustrieb):

Sektion *Caprae* (Subsektion *Laeves*): *Salix caprea*

(Subsektion *Striatae*): *Salix cinerea*

Sektion *Viminalis*: *Salix viminalis*

Sektion *Purpureae*: *Salix purpurea*

2.2 Kreuzungsarbeiten und Anzucht der Nachkommen

Aus diesen Gegebenheiten wurden praktische Maßnahmen abgeleitet, die sich als Voraussetzung für den Kreuzungserfolg bestätigt haben:

- Antherenentwicklung kontrollieren, Pollen frühzeitig gewinnen, trocken und kühl (4 °C) lagern;
- jedes männliche Kätzchen nutzen (Pollenmenge optimieren);
- Triebe mit weiblichen Blüten bewurzeln;
- wiederholte, isolierte Kreuzungen im Gewächshaus durchführen;
- alternativ freie Abblüten sammeln (vor dem Platzen der Kapseln isolieren).

Für die Kreuzungsarbeiten standen die im Salicetum und in weiteren Klonsammlungen der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt, Abt. C in Hann. Münden vorhandenen 350 Klone von 40 Weidenarten zur Verfügung (s. GEBHARDT, 1992). Bevorzugt wurden jedoch baum- und strauchartig wachsende Weidenklone mit hohem Potenzial für Biomasseproduktion verwendet (Abbildung 1).



Abbildung 1 / Figure 1

Wuchsleistungen von drei Klonen (einjährige Aufwüchse auf 11-jähriger Wurzel):
links: Klon 5/76 (mittl. Höhe: 3,10 m) vor Klon 147/63 (mittl. Höhe: 2,60 m);
rechts: vieltriebiger Klon 305/64 (mittl. Höhe 2,80 m)

Growth performance of three clones (current year shoots on a root of age 11):
left photo: clone 5/76 (mean height: 3,10 m) in front of clone 147/63 (mean height: 2,60 m);
right photo: clone 305/64 bearing many shoots (mean height: 2,80 m)

Dazu zählen nach unseren Beobachtungen sowie Angaben aus der Literatur (WEGER et al., 2005; WEGER & HAVLÍČKOVÁ, 2009; BOELKE, 2006; SCHWARZE & RÖHRICHT, 2006; HÖRANDL et al., 2002) Klonen der Arten *Salix viminalis*, *S. alba*, *S. malisii*, *S. caprea*, *S. triandra*, *S. daphnoides*, *S. purpurea* sowie *S. x smithiana*, *S. x rubens*, *S. x helix*, *S. x alopecuroides* und dreifache Hybriden wie *S. dasyclados*.

Da die meisten Weidenarten an einjährigen Aufwüchsen auf mehrjähriger Wurzel ausreichend Blütenknospen ansetzen, konnte auf die Nutzung mehrjähriger Aufwüchse zur Blütenproduktion meist verzichtet werden. In Tabelle 1 und Tabelle 2 sind die in diesem Jahr (2009) erfolgreich durchgeführten Kreuzungskombinationen und die aus freier Abblüte gewonnenen Nachkommenschaften aufgelistet: Wie erwartet, zeigten intraspezifische Kreuzungen (Abbildung 2) die beste Fertilität und produzierten zahlreiche Samenstände.



Abbildung 2 / Figure 2

Fruchtansatz bei einer intraspezifischen Kreuzung von *S. viminalis*: Die Fruchtstände enthalten geschätzt >1.000 Keimlinge.

Fruit set of an intraspecific cross of *S. viminalis*: The infructescences shown here contain roughly >1.000 seeds.

Tabelle 1 / Table 1

Erfolgreich durchgeführte gelenkte Kreuzungen des Reifejahres 2009

Success of controlled crosses in 2009 (number of potted seedlings)

Nr.	Mutter_Klon	Mutter_Art	Pollenspender	Pollen_Art	Anz_getopft
09-39	83/55	<i>viminalis</i>	21/91	<i>triandra</i>	35
09-44	722/51	<i>viminalis</i>	5/76	<i>alba</i>	4
09-48	83/55	<i>viminalis</i>	5/76	<i>alba</i>	27
09-63	83/55	<i>viminalis</i>	21/91	<i>triandra</i>	7
09-21	722/51	<i>viminalis</i>	6/87	<i>viminalis</i>	72
09-22	722/51	<i>viminalis</i>	85/55	<i>viminalis</i>	44
09-23	722/51	<i>viminalis</i>	NW 9-1009 B	<i>viminalis</i>	152
09-24	722/51	<i>viminalis</i>	80/55	<i>viminalis</i>	141
09-26	83/55	<i>viminalis</i>	NW 9-994 H	<i>viminalis</i>	151
09-28	722/51	<i>viminalis</i>	NW 9-1003 U	<i>viminalis</i>	22
09-38	83/55	<i>viminalis</i>	NW 9-1009 B	<i>viminalis</i>	32
09-40	83/55	<i>viminalis</i>	85/55	<i>viminalis</i>	100
09-42	83/55	<i>viminalis</i>	80/55	<i>viminalis</i>	12
09-54	722/51	<i>viminalis</i>	85/55	<i>viminalis</i>	45
09-62	81/55	<i>x helix</i>	NW 9-957 N	<i>x smithiana</i>	9
09-49	38/69	<i>x iorrata</i>	NW 9-957 N	<i>x smithiana</i>	222

Tabelle 2 / Table 2

Ausbeute freier Abblüten des Reifejahres 2009

Success from open pollination in 2009 (number of potted plants)

Nr.	Mutter_Klon	Mutter_Art	Standort	Anz_getopft
09-52	68/63	<i>alba</i>	Salicetum	17
09-53	36/63	<i>alba</i>	Salicetum	10
09-59	02/65	<i>alba</i>	Salicetum	10
09-61	73/63	<i>alba</i>	Salicetum	39
09-66	63/63	<i>alba</i>	Merbachfeld	9
09-68	107/63	<i>alba</i>	Merbachfeld	91
09-51	04/76	<i>alba</i>	Weserkamp	211
09-56	153/68	<i>alba</i>	Weserkamp	20
09-08	16/75	<i>caprea</i>	Bundesstr. 80	61
09-16	MF16	<i>caprea</i>	Merbachfeld	86
09-46	MF100	<i>caprea</i>	Merbachfeld	87
09-15	HF105	<i>cinerea</i>	Haferfeld	34
09-12	MF21	<i>cinerea</i>	Merbachfeld	15
09-20	MF104	<i>daphnoides</i>	Merbachfeld	104
09-34	MF104	<i>daphnoides</i>	Merbachfeld	26
09-64	MF104	<i>daphnoides</i>	Merbachfeld	4
09-09	39/69	<i>japonica</i>	Bundesstr. 80	81
09-11	39/69	<i>japonica</i>	Salicetum	116
09-07	39/69	<i>japonica</i>	Weserkamp	215
09-65	304/64	<i>pentandra</i>	Merbachfeld	17
09-69	304/64	<i>pentandra</i>	Merbachfeld	101
09-03	84/55	<i>viminialis</i>	Salicetum	17
09-04	82/55	<i>viminialis</i>	Salicetum	123
09-05	42/69	<i>viminialis</i>	Salicetum	125
09-18	722/51	<i>viminialis</i>	Salicetum	98
09-36	83/55	<i>viminialis</i>	Salicetum	12
09-13	85/55	<i>viminialis</i>	Weserkamp	4
09-14	84/55	<i>viminialis</i>	Weserkamp	189
09-19	722/51	<i>viminialis</i>	Weserkamp	286
09-25	82/55	<i>viminialis</i>	Weserkamp	151
09-55	53/75	<i>x alopecuroides</i>	Salicetum	24
09-29	96/63	<i>x helix</i>	Salicetum	67
09-01	81/55	<i>x helix</i>	Weserkamp	120
09-10	70/64	<i>x helix</i>	Weserkamp	31
09-57	103/63	<i>x rubens</i>	Salicetum	12
09-02	24/87	<i>x smithiana</i>	Weserkamp	218
09-31	50/75	<i>x smithiana</i>	Weserkamp	68
09-47	50/75	<i>x smithiana</i>	Weserkamp	24
09-67	102/63	<i>x tinctoria</i>	Salicetum	60

Eine Optimierung der Keimungsbedingungen wurde durch die Verwendung von Seesand in Petrischalen erreicht. Die Gefäße wurden bis zum Auflaufen der Keimlinge im Klimaschrank bei 23 °C und einem 12 h-Tag unter weißem Kunstlicht (ca. 1.000 Lux) platziert. Das Pikieren der Keimlinge erfolgte nach 4 bis 6 Wochen in schwach gedüngte Erde in 4 cm-Jiffy-Pot-Platten. Zur Förderung der weiteren Entwicklung wurden die pikierten Sämlinge ca. 2-4 Wochen unter Sprühnebel kultiviert und nach wenigstens einmonatiger Kultivierung bei Temperaturen von 23-26 °C in 10 cm-Biocontainer getopft. Bis zum Ende der Vegetationsperiode wurden ca. 4.000 getopfte Sämlinge zur Überwinterung im Glasgewächshaus platziert und an Kalthausbedingungen adaptiert.

Eine weitere Verbesserung der Keimung kann bei weiten Kreuzungen durch die Technik des „embryo rescues“ erfolgen. Dabei werden befruchtete Eizellen oder unreife Samen aus den Kapseln steril explantiert und auf künstlichen Nährböden kultiviert (siehe GEBHARDT, 1992).

Überraschender Weise überlebte Saatgut ohne jede Vorbehandlung sowohl die Lagerung bei -20 °C oder -40 °C als auch das einmalige Einfrieren und Auftauen in Flüssigstickstoff (Abbildung 3).

2.3 Züchtungsstrategie

Wie bei den meisten Züchtungsobjekten müssen auch bei Weiden mehrere Eigenschaften gleichzeitig berücksichtigt und verbessert werden, also Ertrag, Krankheits- und Schädlingsresistenz, Wuchseigenschaften und Holzqualität (Rindenanteil, Ligningehalt etc.). Der Versuch, so unterschiedliche Eigenschaften also allein mit dem Züchterauge phänotypisch zu erfassen, ist fehlerbehaftet. Züchtungsziel muss es sein, den möglichen genetischen Gewinn auszuschöpfen und dabei den zeitlichen Aufwand zu minimieren.

Nach dem Aufbau einer Basiskollektion mit Sämlingen, der mindestens zwei Jahre beansprucht, können erstmals Steckhölzer gewonnen werden. Wesentliche Merkmale, wie Bewurzelungsvermögen, Stockausschlag sowie Anzahl und Masse der Austriebe sind erst bei Verwendung von Steckhölzern aussagekräftig. Unterschiede in der Blattmasse und verschiedene Resistenzen (Mehltau, Rost etc.)



Abbildung 3 / Figure 3

Keimende Sämlinge nach Gefrierkonservierung der Samen in Flüssigstickstoff (-196 °C). Die Samen keimen auf Filterpapier.

Germinating seedlings after deep freezing in liquid nitrogen (-196 °C). The seedlings germinate on filter paper.

zeichnen sich oftmals schon im Sämlingsstadium oder den ersten beiden Entwicklungsjahren ab, müssen jedoch unter Feldbedingungen verifiziert werden.

Eine bewährte Strategie des Züchters ist es, wie oben beschrieben, die Eigenschaften unterschiedlicher Arten zu kombinieren und damit auch die Heterozygotie zu maximieren. Das wird ermöglicht durch interspezifische Kreuzungen oder durch Rückkreuzung. Auch die genetische Information von vier Arten lässt sich kombinieren, wenn man unterschiedliche F1-Hybriden kreuzt. Hybridwachstum setzt aber nur dann ein, wenn entsprechend der Kopplungshypothese unterschiedliche dominante, fördernde Gene aus eingekreuzten Arten / Linien mit den rezessiven Allelen im Hybriden einen heterozygoten Zustand herausbilden (KUCKUCK et al., 1985). Damit steht fest, dass dieser ideale Zustand nicht erreicht werden kann, wenn die Kreuzungspartner abnorme Chromosomensätze haben, wie das bei Weidenhybriden häufig nachgewiesen wurde (BÜCHLER, 1992). Auch chromosomale Strukturveränderungen können zu Schleifenbildungen führen, so dass keine Paarung homologer Chromosomen möglich ist. Der Züchter muss daraus schließen, dass durch die Hybridisierung

relativ schnell ein Zustand erreicht wird, in dem sich das Keimplasma nicht mehr verbessern lässt. Deshalb haben die Züchter immer daran gedacht, in einer langfristigen Strategie die Zuchtpopulationen auch innerartlich zu verbessern.

Dies geschieht zum einen durch Erhaltung der noch ungenutzten genetischen Diversität und zum anderen durch rekurrente Selektion, indem solche Eltern für weitere Züchtungsschritte verwendet werden, deren Nachkommen die gewünschten Eigenschaften zeigen (STETTLER et al., 1996; BISOFFI & GULLBERG, 1996).

Kurzfristig erfolgversprechend ist die Nutzung von mitosehemmenden Stoffen wie Kolchizin und Oryzalin, die bei vielen Arten zur Erzeugung von Ploidiemutanten eingesetzt werden oder Mutationen in Genen erzeugen, die ertragsrelevante Eigenschaften kodieren.

Wie WEIH & NORDH (2005) zeigen konnten, ist die Blattfläche von einjährigen Sämlingen ein guter Prädiktor der Biomasseleistung dreijähriger Klone auf Kurzumtriebsflächen. Im Projekt werden deshalb sowohl Sämlinge bei der Keimung als auch Spross-Kulturen in bewurzelter und unbewurzelter Zustand mit dem Ziel der Polyploidisierung kolchiziniert.

2.4 Züchtung und funktionale Genomik

Mit den heute entwickelten RNA- und DNA-basierten Techniken funktionaler und struktureller Genomik wie Next-Generation-Sequencing, Mikroarray, PCR (Polymerase-Kettenreaktion), Real-Time-PCR und Tilling (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) gelingt es, die Sequenzvariabilität anpassungs- und ertragsrelevanter Gene zu bestimmen. Nukleotid-Polymorphismen, sog. SNPs (single nucleotide polymorphisms) treten mit unterschiedlicher Dichte im Genom aller Lebewesen auf und haben dann entsprechend ihrer Position in regulatorischen Einheiten oder in Exon-Regionen der Gene unterschiedliche Wirkungen auf Proteinstrukturen und den Phänotyp von Individuen oder Arten (FLADUNG, 2006). Die Position von SNPs kann in Genkarten erfasst werden. Für manche Gene

kann aus der Position von SNPs auf deren Wirkung und Erbgang geschlossen werden.

Wir sehen in der Detektion von SNPs und Punktmutationen in ertragsrelevanten Genen eine neue Möglichkeit der Selektion und Verkürzung der traditionellen Züchtungswege. Die Technik des Tillings kann sowohl an mutagen veränderten Pflanzen als auch an Individuen von Wildpopulationen angewandt werden. Durch die Möglichkeit des Poolens von DNA verringert sich der Arbeits-, Zeit- und Kostenaufwand (COMAI et al., 2004). Bei zahlreichen landwirtschaftlichen Kulturen (Weizen, Reis, Mais, Gerste) sind solche Projekte in Arbeit oder sie wurden bereits mit Erfolg durchgeführt (FLADUNG & GEBHARDT, 2010).

2.5 Weitere Projektarbeit, Warenzeichen-Schutz und Lizenzvermehrung

Parallel zur Neuzüchtung wurde mit 34 erfolgversprechenden Sorten eine Feldprüfung in Form eines gezäunten Blockversuches mit drei Wiederholungen (N = 2.448) zuzüglich Randreihen angelegt. Die schwedischen Sorten Tordis und Inger sowie die Sorte *Salix viminalis* cv. „Zieverich“ dienen als Referenzen.

Geeignete Methoden der *in-vitro*-Vermehrung von Weidenklonen wurden von GEBHARDT (1992) sowie NAUJOKS & LIESEBACH (2005) beschrieben. Für erfolgversprechende Weidensorten werden nun unter Beteiligung eines kommerziellen Labors (Baumschulen Oberdorla GmbH) Methoden der Massenvermehrung *in vitro* weiterentwickelt, um möglichst schnell die für bundesweite Feldprüfungen gewünschten Stecklingsmengen produzieren zu können. Nach Sichtung und Bewertung von bereits durchgeführten Versuchen anderer Versuchsanstelter mit Weidenklonen aus Hann. Münden wird für einzelne Klone mithilfe eines geschützten Markenzeichens ein Warenschutz angestrebt. Es werden Lizenznehmer für die Vermehrung geschützter Klone gesucht.

Um die lizenzierte Vermehrung kontrollieren zu können, werden in Zusammenarbeit mit der Universität Marburg (Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. BIRGIT ZIEGENHAGEN) DNA-basierte Methoden des Fingerprintings entwickelt und genutzt.

3 LITERATUR

- BISOFFI, S. & GULLBERG, U. (1996): Poplar Breeding and Selection Strategies. In: *Biology of Populus and its Implications for Management and Conservation* (R.F. Stettler; H.-D. Bradshaw, Jr; P.E. Heilman & T.M. Hinckley, eds.). NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. pp.139-158.
- BÜCHLER, W. (1992): A preliminary account of chromosome numbers in the Salix-section Retusae. In: *Willow - Proceedings of the Royal Society of Edinburgh R. Watling & J.A. Raven, eds.*, p.235.
- BOELKE, B. (2006): Ertragspotenzial und Ertragsaufbau von Weiden spec. in Kurzumtriebsplantagen. Vortrag zur 1. Fachtagung der BMBF-Projekte DENDROM, AGROWOOD und AGROFORST (2006) "Anbau und Nutzung von Bäumen auf landwirtschaftlichen Flächen" 6.-7.11.06 in Tharandt, Internet: http://www.dendrom.de/daten/downloads/06_Boelcke_Weide%20in%20KUP2.pdf.
- CHMELAR, J. & MEUSEL, W. (1979): *Die Weiden Europas*. Ziemsen Wittenberg, 143 p.
- COMAI, L., YOUNG, K., TILL, B.J., REYNOLDS, S.H., GREENE, E.A., CODOMO, C.A., ENNS, LC., JOHNSON, J.E., BURTNER, C., ODDEN, A.R. & HINIKOFF, S. (2004): Efficient discovery of DNA polymorphisms in natural populations by Ecotilling. *The Plant Journal* 37(5): 778-86.
- FLADUNG, M. (2006): Entwicklung von SNP-Markern in putativ anpassungsrelevanten Genen. Vorträge für Pflanzenzüchtung, Band 70, S.139-146.
- FLADUNG, M. & GEBHARDT, K. (2010): Mit Smart-Breeding-Methoden neue Wege in der Forstpflanzenzüchtung gehen! *Forst und Holz* 65 (1), 37-40.
- GEBHARDT, K. (1992): Grundlagen und Methoden der Züchtung pharmazeutisch wertvoller Weiden. *Die Holzzucht* 46(1-4): 9-15.
- HERIBERT-NILSSON, N. (1918): Experimentelle Studien über Variabilität, Spaltung, Artbildung und Evolution in der Gattung Salix. *Lunds Universitets Arsskrift N.F. Avd. 2 Bd. XIV (28): 1-145*. Lund (Schweden).
- HÖRANDL, E., FLORINETH, F. & HADACEK, F. (2002): *Weiden in Österreich und angrenzenden Gebieten*. Eigenverlag des Arbeitsbereiches Ingenieurbiologie und Landschaftsbau, Institut für Landschaftsplanung und Ingenieurbiologie, Universität für Bodenkultur Wien, 164 Seiten.
- KUCKUCK, H., KOBABE, G. & WENZEL, G. (1985): *Grundzüge der Pflanzenzüchtung*. Verlag Walter de Gruyter, Berlin, New York, p.52.
- LAUTENSCHLAGER-FLEURY, D. (1994): *Die Weiden von Mittel- und Nordeuropa: Bestimmungsschlüssel und Artbeschreibung für die Gattung Salix L.*. Birkhäuser Verlag Basel.
- LINDEGAARD, K.N. & BARKER, J.H.A. (1997): Breeding Willows for Biomass. In: *Aspects of Applied Biology* 49, Biomass and Energy Crops. (Bullard M.J.; Ellis, R.G.; Heath, M.C.; Knight, J.D.; Lainsbury, M.A. & Parker S.R, eds.). The Association of Applied Biologists. Pp.155-162.
- NEUMANN, A. (1981): *Die mitteleuropäischen Salix-Arten*. Mitt. der forstl. Bundes-Versuchsanstalt Wien, 134. Österreichischer Agrarverlag Wien, 152 S.
- NAUJOKS, G. & LIESEBACH, M. (2005): Vegetative propagation of difficult-to-root Salix caprea L. clones for pathogenicity tests. Poster at the Workshop: ALTERNATIVE PLANTS FOR SUSTAINABLE AGRICULTURE. 7-9 September 2005, Poznań, Poland.
- RECHINGER, K.H. (1958): Salix. In: HEGI, G., 1958: *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. Bd. 3(1), München: 44-135.
- SCHWARZE, H. & RÖRICH, C. (2006): Untersuchungen zum Pappel- und Weidenanbau im Kurzumtrieb auf landwirtschaftlichen Flächen. Vortrag zur 1. Fachtagung der BMBF-Projekte DENDROM, AGROWOOD und AGROFORST (2006) "Anbau und Nutzung von Bäumen auf landwirtschaftlichen Flächen" 6.-7.11.06 in Tharandt, Internet: http://dendrom.de/daten/downloads/19_Roehricht_Untersuchungen_zu_KUP.pdf.
- SPRINGER, S. (2007): Kreuzungsexperimente mit Salix caprea und Salix cinerea. Zulassungsarbeit im Fach Biologie an der Universität Bayreuth. Internet: http://www.obg.uni-bayreuth.de/de/Forschung/Stud_Abschlussarbeiten/Abschlussarbeiten/ZA_2007_Springer_Salix_Kreuzung.pdf#pdf.
- STETTLER, R.F., ZSUFFA, L. & WU, R. (1996): The Role of Hybridisation in the Genetic Manipulation of Populus. In: *Biology of Populus and its Implications for Management and Conservation* (Stettler, R. F.; Bradshaw, H.-D. Jr.; Heilman, P.E. & Hinckley, T.M., eds.). NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, pp. 139-158.
- WEIH, M. & NORDH, N.-E. (2005): Determinants of biomass production in hybrid willows and prediction of field performance from pot studies. *Tree Physiology* 25: 1197-1206.
- WEGER, J., VLASÁK, P., ZÁNOVÁ, I. & HAVLÍČKOVÁ, K. (2005): The results of the evaluation of selected willow and poplar clones for short rotation coppice (SRC) in second harvesting period in conditions of the Czech Republic – pp.465-468, 14th European Conference & Exhibition Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, Paris, ETA Florence and WIP-Munich.
- WEGER, J. & HAVLÍČKOVÁ, K. (2009): The evaluation of selected willow and poplar clones for short rotation coppice (SRC) after three harvests. Proceedings of the 17th European Biomass Conference & Exhibition, CCH-Congress Center Hamburg, 29.06. 03.07.09 (pers. communication from weger@vukoz.cz).
- WICHURA, M. (1865): *Die Bastardbefruchtung im Pflanzenreich erläutert an den Bastarden der Weiden*. Breslau, 95 Seiten.

Danksagung

Unser besonderer Dank gilt der Fachagentur für nachwachsende Rohstoffe e.V., die als Projektträger im Auftrag des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz die Forschungsarbeiten seit 1.10.2008 unter dem FKZ: 22014208 und seit 1.5.2009 unter dem FKZ: 22012409 unterstützt.