

- SEINTSCH, B. (2010): Holzbilanzen 2006 bis 2009 für die Bundesrepublik Deutschland. Arbeitsbericht des Instituts für Ökonomie der Forst- und Holzwirtschaft 2010/3: 1–26.
- STERBA, H. (2012): Zuwachs nach Stammzahlreduktionen bei Entzug unterschiedlicher Biomassenfraktionen. In: NAGEL, J. (Hrsg.): DVFFA – Sektion Ertragskunde, Jahrestagung 2012: 82–87.
- TAMHANE, A. C. (1977): Multiple comparisons in model I one-way ANOVA with unequal variances. In: Communications in Statistics – Theory and Methods. 6, Nr. 1, 1977, 15–32.
- THIFFAULT, E., D. PARÉ, N. BÉLANGER, A. MUNSON and F. MARQUIS (2006): Harvesting intensity at clear-felling in the boreal forest: Impact on soil and foliar nutrient status. Soil Science Society of America Journal **70**: 691–701.
- VITOUSEK, P. M. (1982): Nutrient cycling and nutrient use efficiency. Am. Nat. **119**, 533–572.
- VORHOLT, H. (2010): Preisindex für Holzprodukte zur Energieerzeugung – Ein neuer Indikator für den Energiemarkt. Statistisches Bundesamt – Wirtschaft und Statistik 3/2010: 290–294.
- WALMSLEY, J. D., D. L. JONES, B. REYNOLDS, M. H. PRICE and J. R. HEALEY (2009): Whole tree harvesting can reduce second rotation forest productivity. For. Ecol. Manage. **257**(3): 1104–1111.
- WEIS, W., A. GRUBER, C. HUBER and A. GÖTTLEIN (2009): Element concentrations and storage in the aboveground biomass of limed and unlimed Norway spruce trees at Höglwald. Eur J Forest Res **128**: 437–445.
- WIRTH, C., J. SCHUMACHER and E.-D. SCHULZE (2004): Generic biomass functions for Norway spruce in Central Europe – a meta-analysis approach toward prediction and uncertainty estimation. Tree Physiology **24**: 121–139.
- WISSENSCHAFTLICHER BEIRAT DER BUNDESREGIERUNG GLOBALE UMWELTVERÄNDERUNGEN (1994): Welt im Wandel: Die Gefährdung der Böden. Jahrestgutachten 1994, Economica-Verlag, Bonn.
- WUTZLER, T., C. WIRTH and J. SCHUMACHER (2008): Generic biomass functions for Common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Central Europe – predictions and components of uncertainty. Canadian Journal of Forest Research, **38**(6): 1661–1675.

Artintegrität und geographisch-genetische Strukturen des heimischen Wildapfels (*Malus sylvestris* (L.) MILL.)

(Mit 4 Abbildungen und 3 Tabellen)

AKI M. HÖLTKEN^{*}, WILFRIED STEINER und JÖRG R. G. KLEINSCHMIT

(Angenommen Juli 2014)

SCHLAGWÖRTER – KEY WORDS

Wild- und Kulturapfel; Hybridisierung; DNA-Marker; genetische Ressourcen; Herkünfte.

European crab apple; apple cultivars; hybridization; DNA-marker; genetic resources; provenances.

1. EINLEITUNG

Der Wildapfel (*Malus sylvestris* (L.) MILL.) zählt zu den seltensten Gehölzarten Europas und wird als besonders gefährdet eingestuft (STEPHAN et al., 2003,

AAS, 2013). Wenn auch forstökonomisch nahezu bedeutungslos, ist seine ökologische Relevanz z.B. als Vogelbrutstätte oder auch als Nahrungsquelle für zahlreiche Tierarten (Blüten, Früchte) umso höher (ENZENBACH und LAUTERBACH, 2013; MODY, 2013). Um die Existenz des heimischen Wildapfels zu sichern und seinen Fortbestand zu gewährleisten, sind neben ökologisch-standörtlichen Rahmenbedingungen insbesondere auch genetische Aspekte von entscheidender Bedeutung (vgl. auch KLEINSCHMIT et al., 2012; SCHNITZLER et al.; 2014).

Als äußerst lichtbedürftige und langsam-wüchsige Baumart ist das natürliche Vorkommen des Wildapfels eher auf Standorte beschränkt, an denen die Konkurrenz unserer dominanten Wirtschaftsbaumarten deutlich nachlässt. Außer in lichten, eichenreichen Laubmischwäldern, Hecken, an Waldrändern oder felsigen

^{*}) Korrespondierender Autor: AKI M. HÖLTKEN, Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA), Abteilung Waldgenressourcen, Professor-Oelkers-Straße 6, D-34346 Hann. Münden. E-Mail: aki.hoeltken@nw-fva.de.

gen Hängen ist diese Art auch in Hartholzauen anzutreffen, da der Wildapfel Überflutungen in Fließgewässerbereichen deutlich besser verträgt als viele andere Baumarten (AAS, 2013; MAURER, 2013). Aber nicht nur Eingriffe in Landschaftsstrukturen, wie z.B. Flussbegradigungen, sondern auch veränderte Strategien in der Forstwirtschaft haben zu einem starken Rückgang geeigneter und bevorzugter Habitatstrukturen geführt. Im Rahmen historischer Waldbewirtschaftungsformen dürfte das Vorkommen des Wildapfels sowie weiterer Wildobstarten zunächst sogar gefördert worden sein (z.B. Elsbeere, Speierling, Holzbirne, Vogelkirsche etc.). Denn diese Baumarten zählten neben den Eichen zu den „fruchtbaren“ im Oberholz vieler Mittelwälder gehaltenen Baumarten (SIEDER, 2003). Durch ihr Stockausschlagsvermögen sowie ihre Fähigkeit zur Ausbildung von Wurzelbrut konnten sie sich im Nieder- und Mittelwaldbetrieb gegenüber der Buche vielerorts behaupten (vgl. auch HÖLTKEN, 2005). In den letzten Jahrhunderten hingegen führten Intensivierungen im Rahmen der geregelten Forstwirtschaft mit konkurrenzstarken Wirtschaftsbaumarten zur Auslöschung vieler lokaler und regionaler Wildobst-Bestände, so dass heutige Vorkommen oft Relikte früherer Waldbauformen darstellen (SCHOPPA, 2000).

Es gibt aber noch weitere Gefahrenquellen für den Wildapfel. Geringe Populationsgrößen und Verlust der reproduktiven Vernetzung durch starke Isolation einzelner Individuen in Verbindung mit einem effizienten gametophytischen Selbstinkompatibilitäts-System machen Reliktorkommen auch anfällig gegenüber genetischer Introgression aus Kulturapfel-Beständen. Denn die Kulturapfel-Sorten (*M. domestica*) stammen nach HARRIS et al. (2002) nicht vom Europäischen Wildapfel ab, sondern meist von zentral-asiatischen Arten wie z. B. *M. sieversii* (Kasachstan, Kirgisistan, Tadschikistan, Nord-China). Da zwischen den meisten *Malus*-Arten aber keine Reproduktionsbarrieren vorhanden sind, besteht die Gefahr eines fortschreitenden Verlusts der Wildform mit all seinen Anpassungseigenschaften an die hier vorherrschenden standörtlichen Bedingungen (siehe auch CORNILLE et al., 2012). So konnten COART et al. (2003) an 76 potenziellen Wildäpfeln aus Belgien und Deutschland zeigen, dass sich ihr Genpool zwar deutlich von denen verschiedener Kulturapfelsorten abgrenzt, in Einzelfällen aber auch Genotypen von Kulturäpfeln in Wildformen nachzuweisen sind. Jedoch sollte der Bestandsschutz des Wildapfels nicht nur die Identifizierung und Vermehrung der Wildform beinhalten. Gerade im Sinne der Förderung seltener und bedrohter Gehölzarten sollten auch die potenziellen adaptiven Eigenschaften der Wildform berücksichtigt werden. Denn dessen genetische Ausstattung ist für die Anpassung und Anpassungsfähigkeit an aktuelle und zukünftig sich ändernde Umweltbedingungen des Pflanzortes und damit für die dynamische Erhaltung einer Art von entscheidender Bedeutung (KONNERT, 2008; HÖLTKEN et al., 2013). Im Rahmen eines von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) finanzierten Projektes wurden in den Jahren 2010 bis 2013 zehn seltene Baumarten, darunter unser Wildapfel, bundesweit erfasst und dokumentiert. Für die genetische Analyse

wurden in allen Flächen-Bundesländern potenziell „wildnahe“ Vorkommen ausgewählt. Diese umfangreiche und auch einzigartige Datensammlung wird in dieser Studie in zweifacher Hinsicht unter die Lupe genommen: Im ersten Teil wird die Methode zur genetischen Unterscheidung von Wild- und Kulturapfel dargestellt. Anschließend sollen geographisch-genetische Strukturen

Tab. 1
Bundesweit erhobene potentielle Wildapfelvorkommen sowie die in die DNA-Analyse eingegangenen Individuenzahlen.
Potential European crab apple stands raised in a nationwide inventory and the number of samples analysed by DNA markers.

Bundesland	Kürzel	Ort / Region	(n)
Brandenburg	BB-1	Rassmannsdorfer Werder	12
	BB-2	Brieselang	30
	BB-3	Altenhof	50
	BB-4	Zehdenick	31
Baden-Württemberg	BW-1	Mergentheim	10
	BW-2	Mergentheim	16
	BW-3	Furtwangen	5
	BW-4	NSG Feldberg	29
	BW-5	Unteres Donautal	16
Bayern	BY-1	Bad Rodach	5
	BY-2	Mittelstetten	15
	BY-3	Schönfelder Holz	17
Hessen	HE-1	Kühkopf-Knoblochsau	25
	HE-2	Sababurg	22
Meckl.-Vorpommern	MV-1	Buggenhagen	24
	MV-2	Nossentiner Heide	18
	MV-3	Schuenhagen	20
Niedersachsen	NI-1	Hasbruch	22
	NI-2	Grünenjäger	25
	NI-3	Bramsche	5
	NI-4	Hämelerwald	27
	NI-5	Beverner Wald	24
Nordrhein-Westfalen	NW-1	Nideggen	10
	NW-2	Kleve	13
Rheinland-Pfalz	RP-1	Hördt	15
	RP-2	NSG Virneburg	15
Schleswig-Holstein	SH-1	Lauenburg	11
	SH-2	Flensburg	19
Saarland	SL-1	Eppelborn	14
Sachsen	SN-1	NSG Voigts Busch	9
Sachsen-Anhalt	ST-1	NSG Kreuzhorst	22
	ST-2	Wörlitz	22
	ST-3	Wippra	24
	ST-4	Anarode	18
Thüringen	TH-1	LEG Wald Ostramondra	30
	TH-2	Rev. Straufhain	15
	TH-3	Gräfenwarth	10
	TH-4	Hagenberg	30

des Wildapfels in Deutschland näher analysiert werden, um einen ersten Eindruck über potenzielle Herkunftsbereiche für die künftige Erarbeitung von Schutzstrategien für den Wildapfel herleiten zu können.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Pflanzenmaterial

Aus den bundesweit erfolgten Erhebungen ist für die DNA-Analytik ausschließlich herbargetrocknetes Blattmaterial verwendet worden. Im Folgenden sind die untersuchten Wildapfel-Vorkommen als auch die Kulturapfelsorten näher dargestellt:

Wildapfel: Insgesamt sind in dieser Studie 725 potenzielle Individuen des Wildapfels genetisch untersucht worden. Dazu wurden 38 verschiedene Vorkommen in 13 Bundesländern ausgewählt, sodass alle Bundesländer mit Ausnahme der Stadtstaaten in der Sammlung vertreten waren. Eine Übersicht über die untersuchten Vorkommen ist in *Tabelle 1* zu finden.

Kulturapfel: Es wurden sowohl alte Sorten, wie auch neuere Züchtungen untersucht. Folgende 66 Sorten sind genetisch untersucht worden (in alphabetischer Reihenfolge): Alkmene, Baumanns Renette, Breaburn, Champagner Renette, Clivia, Croncels, Danziger Kantapfel, Dülmener Rosenapfel, Erbachhofer Weinapfel, Finkenwerder Herbstprinzenapfel, Freiherr von Berlepsch, Gala, Gascogne, Geheimrat Oldenburg, Gelber Bellefleur, Gelber Edelapfel, Gelber Richard, Gloster, Goldparmäne, Halberstädter Jungfernäpfel, Helios, Idared, Ingrid Marie, Jamba, Jonared, Kaiser Alexander, Karola, Kassler Renette, Landsberger Renette, Maunzenapfel, Nela, Ontario, Pia, Piflora, Pikant, Pilot, Pinova, Pirol Syn. Pirella, Piros, Pomfital, Prinzenäpfel, Professor Jakob Zwergapfel, Reanda, Rebella, Relinda, Remo,

Renora, Resista, Retina, Rewena, Rheinischer Ruhm, Riglindes, Rosanna, Rosenapfel von Hollywood, Rote Goldparmäne, Rote Sternrenette, Roter Jonathan, Rubinola, Schafsnase, Schöner von Nordhausen, Schweizer Orange, Signe Tillish, Topaz, Weißer Klarapfel, Weißer Winterglockenapfel und Winter Bananenapfel.

2.2 DNA-Methoden

Die DNA-Extraktion aus Blattmaterial erfolgte nach einem modifizierten Protokoll von DUMOLIN et al. (1995). Nach einer Konzentrationsbestimmung wurden die DNA-Stammlösungen standardgemäß auf 5 ng/µl verdünnt. Anschließend wurden an allen Proben jeweils sechs Kern-Mikrosatelliten (SSRs) mit Hilfe der PCR-Technik amplifiziert. Dabei wurden diejenigen SSRs ausgewählt, die auch schon erfolgreich zur Untersuchung der Gefährdung von Wildapfel-Samenplantagen durch Genfluss von KLEINSCHMIT et al. 2012 eingesetzt wurden (Beschreibung der Marker siehe *Tabelle 2*). Die Auftrennung der Mikrosatelliten-Fragmente nach ihren Größen wurde mit Hilfe der Kapillar-Elektrophorese an einem Beckman-Sequenzierautomaten mit 8 Kapillaren durchgeführt.

2.3 Statistische Auswertungen

Einordnung der Individuen in reproduktive Gruppen: Die relative Zuordnung der einzelnen Individuen zu reproduktiven Gruppen erfolgte mit dem Programm STRUCTURE 2.3.2 (PRITCHARD et al., 2009; FALUSH et al., 2003, 2007). Diese Methode eignet sich nicht nur für die Gruppierung von Individuen in verschiedene taxonomische Einheiten (Arten bzw. Unterarten, Hybridanteile), sondern ermöglicht auch die Analyse von Populationsstrukturen und Reproduktionsverhältnissen. Das Programm führt eine modellbasierte Bayesische Cluster-

Tab. 2

Bezeichnungen der untersuchten Kern-Mikrosatelliten (nSSRs), ihre Primer-Sequenzen, die in der Literatur beschriebenen Fragmentlängen (in Basenpaaren) sowie die dazugehörigen Literaturquellen.

Name of the studied nuclear microsatellite markers (nSSRs), primer sequences, the fragment lengths in basepairs according to corresponding literature.

SSR-Locus	Primer-Sequenzen	Basenpaare	Literatur
nz23g04	F: TTTCTCTCTTTCCCAACTC R: AGCCGCCTTGCATTAATAAC	82-125	GIANFRANCESCHI et al. 1998
ch02d12	F: AACCAGATTTGCTTGCCATC R: GCTGGTGGTAAACGTGGTG	175-219	GUILFORD et al. 1997 GIANFRANCESCHI et al. 1998
gd162	F: GAGGCAAGTGACAAAGAAAGATG R: AAAATGTAACAACCCGTCCAAGTG	212-260	HOKANSON et al. 2001
ch01h01	F: GAAAGACTTGCAGTGGGAGC R: GGAGTGGGTTTGAGAAGGTT	89-145	GUILFORD et al. 1997 GIANFRANCESCHI et al. 1998
ch01h10	F: TGCAAAGATAGGTAGATATATGCCA R: AGGAGGGATTGTTTGTGCAC	88-148	GUILFORD et al. 1997 GIANFRANCESCHI et al. 1998
gd96	F: CGGCGGAAAGCAATCACC R: GCCAGCCCTCTATGGTTCCAGA	145-202	HOKANSON et al. 2001

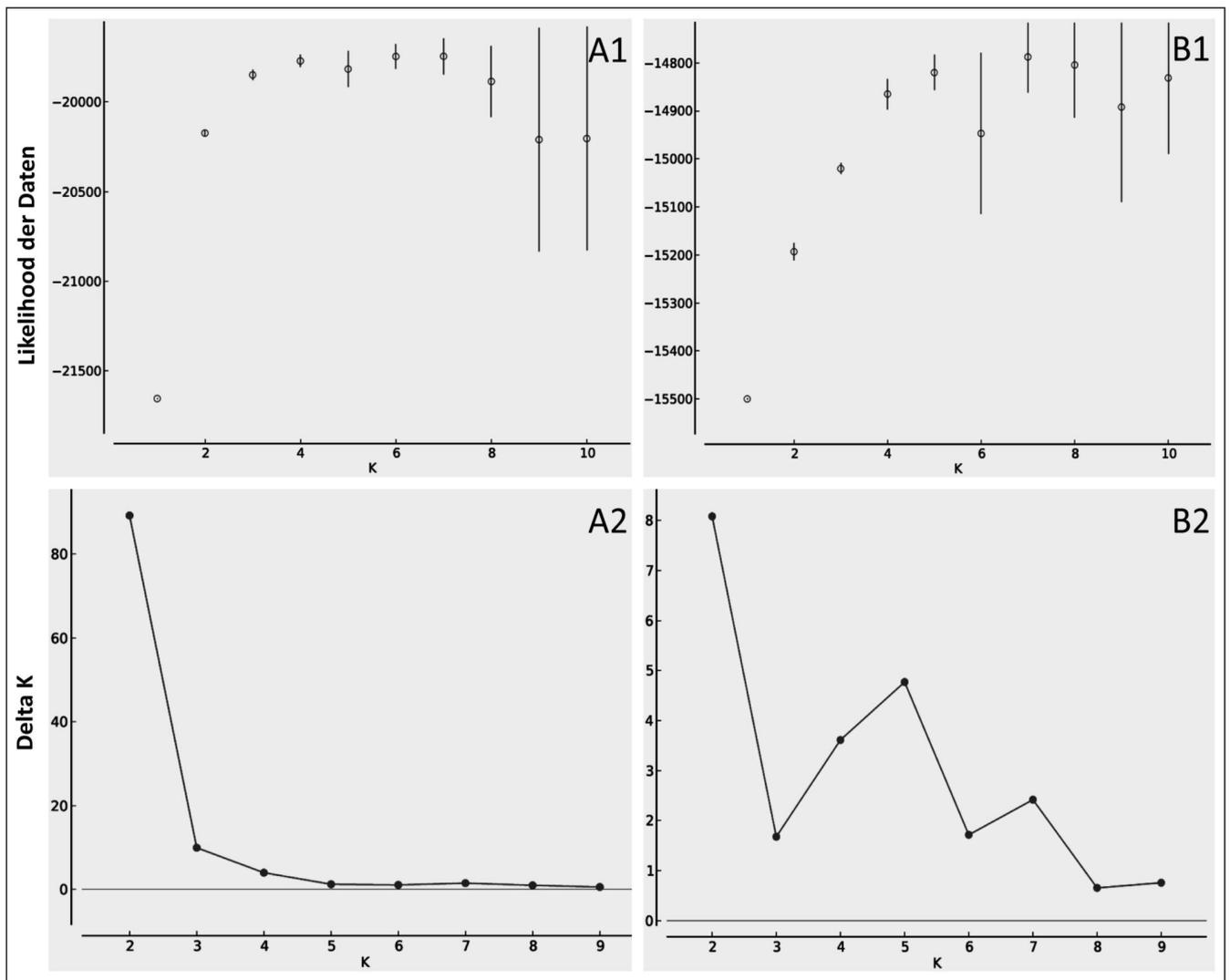


Abb. 1

Oben: (A1, B1) mittlere Werte der Wahrscheinlichkeiten der genetischen Daten incl. Standardabweichungen über zehn replizierte Läufe, aufgetragen über die Anzahl der zu schätzenden Cluster K.
 Unten: Kurve der DeltaK-Werte aufgetragen gegen die Anzahl der zu schätzenden Cluster
 (A1 und A2: Kulturäpfel und Wildäpfel zusammen; B1 und B2: Nur Wildäpfel ohne Kulturäpfel und ohne Hybriden, die einen Mischungsanteil von mehr als 20% Kulturäpfel aufwiesen.

Above: (A1, B1) means of the probabilities of the genetic data over the ten replicated runs and their standard deviations plotted against the number of estimated clusters K.

Below: (A2, B2) curve of DeltaK-values plotted against the number of estimated clusters K

(A1 and A2: Apple cultivars as well as European crab apple all together in one analyses; B1 and B2: European crab apple only, without cultivars and without hybrids between them with an admixture proportion of more than 20% of the cultural varieties).

methode durch, welche die genetischen Mischungsanteile jedes einzelnen Individuums quantifiziert und so die individuelle Zuordnung zu den verschiedenen Clustern (Reproduktionseinheiten) bestimmt.

Diese Gruppierungs-Methode wurde in dieser Studie zweifach genutzt: Im ersten Schritt sollten die Wildäpfel von den Kulturäpfel incl. ihrer Hybriden getrennt werden. Anschließend wurden alle Kulturäpfel sowie die Hybriden, die einen Mischungsanteil von mehr als 20% der Kulturform aufwiesen, aus dem Probensatz der potenziellen Wildäpfel entfernt. Nur der verbliebene Teil

der nach dieser Schätzung „artreinsten“ Wildäpfel wurde daraufhin einer weiteren STRUCTURE-Analyse unterzogen und auf geographische Strukturen hin untersucht.

Die Schätzung der genetischen Mischungsanteile in STRUCTURE erfolgte jeweils unter der Annahme von bestehendem genetischem Austausch („admixture model“) und korrelierenden Allelhäufigkeiten zwischen den Populationen („correlated allele frequency model“). Zur Schätzungen der Mischungsanteile wurden unter der Annahme von je einem bis zehn Clustern (K = 1 bis

10) je zehn Läufe durchgeführt. Jeder Lauf bestand aus Monte Carlo Markov Ketten mit 10000 Generationen „burn-in“ und 10000 beprobten Generationen. Basierend auf diesen Informationen wurden die konditionalen Wahrscheinlichkeiten für die Einordnung der Individuen in eine vorgegebene Anzahl an Clustern (hier $K = 1$ bis 10) errechnet. Anschließend wurde diejenige Anzahl an Clustern ermittelt, bei welcher die Erhöhung der Wahrscheinlichkeit am größten ist (EVANNO et al., 2005). Hierzu wurde die Online-Version von STRUCTURE Harvester 0.6.5 (EARL, 2011) genutzt.

Im Folgenden wurde die STRUCTURE-Analyse ausschließlich für die Individuen des Wildäpfels durchgeführt. Dabei haben wir die nach HUBISZ et al. (2009) modifizierte Methode verwendet, welche die Vorklassifikation der Proben in 38 Vorkommen nutzt (siehe *Tabelle 1*) ohne geographische Informationen zu verarbeiten, so dass auch bei Datensätzen mit geringerem Informationsgehalt (geringe Populationsgrößen, geringere Markerzahlen etc.) vorhandene Populationsstrukturen effizienter erkannt werden können (siehe auch Einstellung „Locprior“ in der STRUCTURE-Software).

Genetische Vielfalt und allelische Häufigkeitsprofile: Taxonomische Unterschiede zwischen Kollektiven (hier: Wildapfel – Kulturapfel) können häufig auch mit Hilfe von allelischen Häufigkeitsprofilen anschaulich dargestellt werden (vgl. dazu auch eine Studie zu heimischen Eichenarten in HÖLTKEN et al., 2012). Deshalb haben wir solche Häufigkeitsprofile sowohl für den Kulturapfel als

auch für die aus der STRUCTURE-Analyse eindeutig identifizierten Wildäpfel graphisch dargestellt. Als Vielfaltsmaße haben wir sowohl die absolute Anzahl an Allelen (N) als auch deren effektive Anzahl v_2 angegeben ($v_{2(a)} = 1/\sum p_{i(a)}^2$ ($p_{i(a)}$ = relative Häufigkeit von Allel i am Genort a , vgl. HATTEMER et al. 1993). Letzterer berücksichtigt demnach relative Häufigkeiten, wodurch der Einfluss geringer Stichprobengrößen minimiert wird. Zur Kalkulation dieser Parameter nutzten wir die Software GSED (Genetic Structures from Electrophoresis Data) von E. GILLET (unveröffentlicht, download: www.uni-goettingen.de/de/95607.html).

Genetische Abstände: Als Maß für die genetischen Abstände zwischen Wild- und Kulturapfel wurden die paarweisen genetischen Abstände nach GREGORIUS (1974) verwendet. Dieser Parameter misst den relativen Anteil derjenigen Allele, die zwischen zwei Kollektiven ausgetauscht werden müssen, um jeweils identische genetische Strukturen (allelische Häufigkeiten) zu erhalten. Die Werte dieses Parameters liegen stets zwischen Null und Eins (0 = identische Allelhäufigkeiten, 1 = vollständige Differenzierung, d.h. Populationen besitzen kein Allel gemeinsam).

3. ERGEBNISSE

3.1 Differenzierung von Wild- und Kulturapfel

STRUCTURE-Ergebnisse: Die Zusammenstellung der statistischen Daten zur Eingruppierung der Individuen

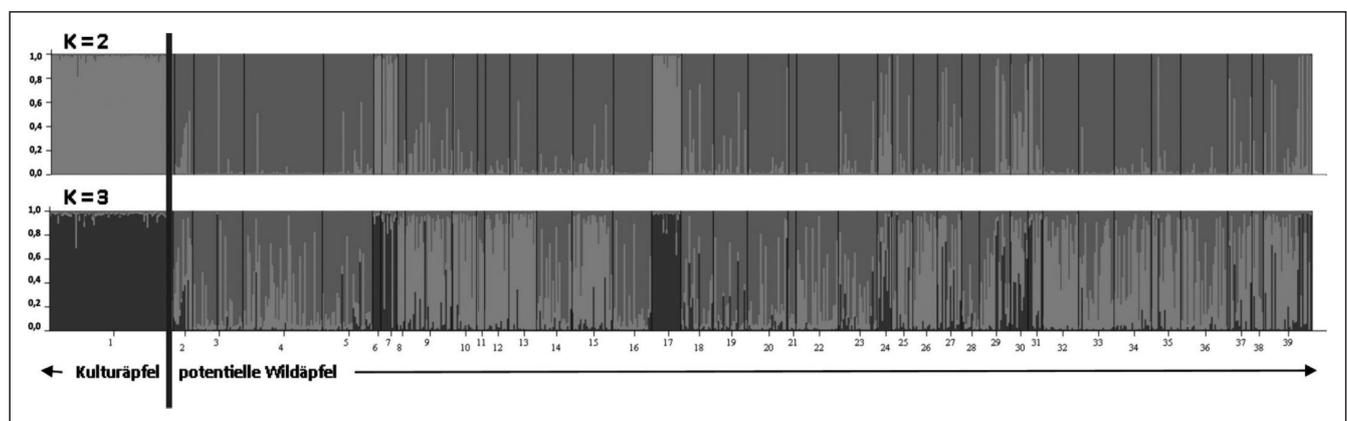


Abb. 2

Graphische Darstellung Gruppenzugehörigkeit eines jeden Individuums zum Kultur- bzw. potentiellen Wildapfel nach der STRUCTURE-Analyse, wobei die Farbkomponenten jedes einzelnen schmalen Balkens die Mischungsanteile der Cluster innerhalb der Individuen anzeigen; dargestellt sind die Läufe mit der höchsten mittleren Wahrscheinlichkeit der Daten bei Vorgaben von jeweils zwei und drei Clustern; die Nummern kennzeichnen die jeweiligen Vorkommen aus *Tabelle 1*, die durch schwarze Balken voneinander getrennt sind: 1 (Kulturäpfel), 2 (BB-1), 3 (BB-2), 4 (BB-3), 5 (BB-4), 6 (BW-1), 7 (BW-2), 8 (BW-3), 9 (BW-4), 10 (BW-5), 11 (BY-1), 12 (BY-2), 13 (BY-3), 14 (HE-1), 15 (HE-2), 16 (MV-1), 17 (MV-2), 18 (MV-3), 19 (NI-1), 20 (NI-2), 21 (NI-3), 22 (NI-4), 23 (NI-5), 24 (NW-1), 25 (NW-2), 26 (RP-1), 27 (RP-2), 28 (SH-1), 29 (SH-2), 30 (SL-1), 31 (SN-1), 32 (ST-1), 33 (ST-2), 34 (ST-3), 35 (ST-4), 36 (TH-4), 37 (TH-2), 38 (TH-3), 39 (TH-1).

Graphical representation of the membership of each individual in one of the assumed clusters; the figure shows STRUCTURE clustering results obtained for two and three clusters (K), showing the runs with the highest mean likelihood of the data.

Each individual is represented by a thin vertical line partitioned into K coloured segments proportional to its membership in the corresponding genetic cluster. Black lines separate different populations. The numerical classification of the populations corresponds to *table 1*: 1 (apple cultivars), 2 (BB-1), 3 (BB-2), 4 (BB-3), 5 (BB-4), 6 (BW-1), 7 (BW-2), 8 (BW-3), 9 (BW-4), 10 (BW-5), 11 (BY-1), 12 (BY-2), 13 (BY-3), 14 (HE-1), 15 (HE-2), 16 (MV-1), 17 (MV-2), 18 (MV-3), 19 (NI-1), 20 (NI-2), 21 (NI-3), 22 (NI-4), 23 (NI-5), 24 (NW-1), 25 (NW-2), 26 (RP-1), 27 (RP-2), 28 (SH-1), 29 (SH-2), 30 (SL-1), 31 (SN-1), 32 (ST-1), 33 (ST-2), 34 (ST-3), 35 (ST-4), 36 (TH-4), 37 (TH-2), 38 (TH-3), 39 (TH-1).

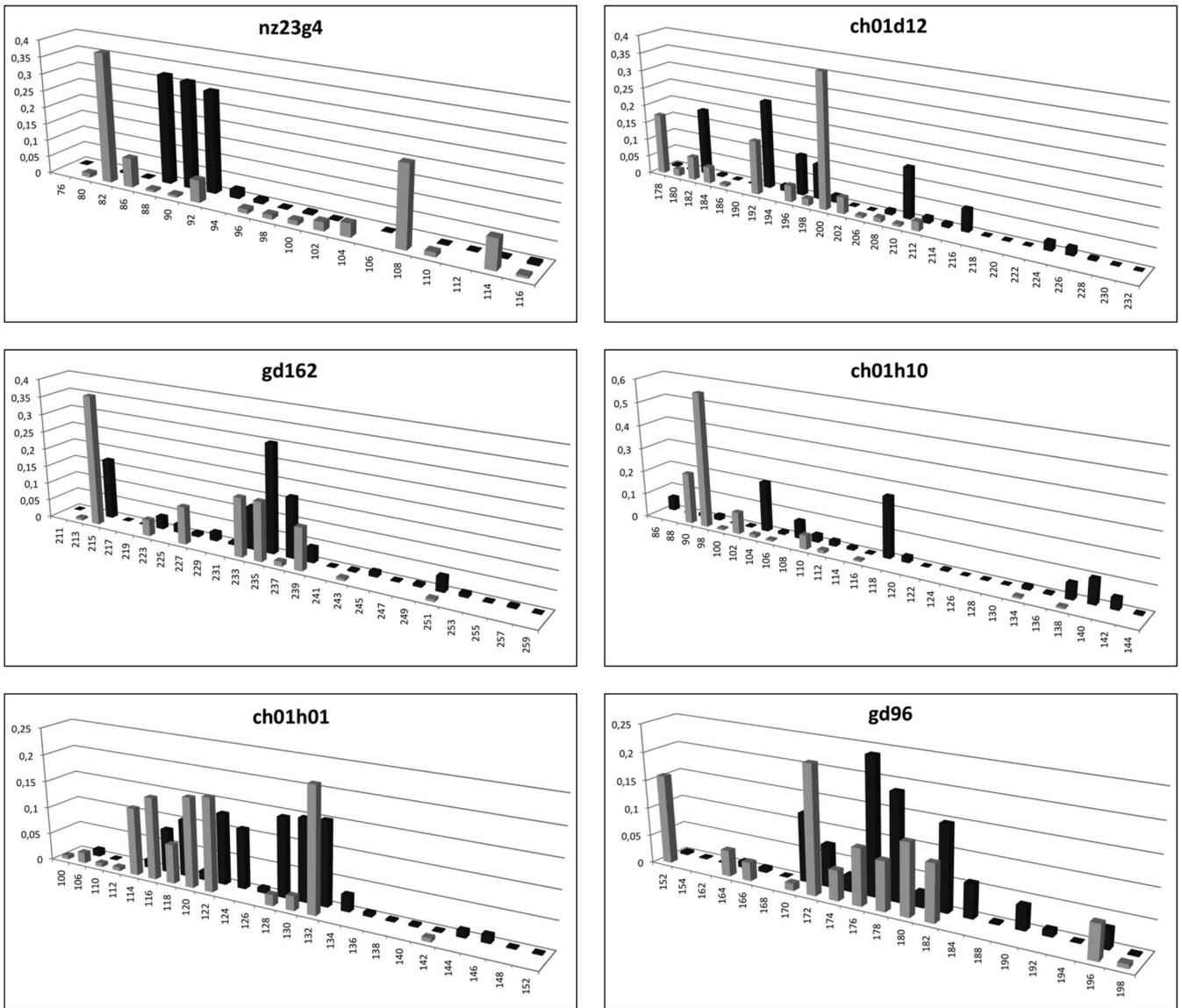


Abb. 3

Allelische Profile an den Mikrosatelliten-Loci *nz23g4*, *ch01d12*, *gd162*, *ch01h10*, *ch01h01* und *gd96* für den Kulturapfel (■) und den Wildapfel (■); X-Achse = gefundene Allele in Basenpaaren, Y-Achse = relative Allelhäufigkeiten.

Allelic profiles for the microsatellite loci *nz23g4*, *ch01d12*, *gd162*, *ch01h10*, *ch01h01* and *gd96* for the apple cultivars (■) and the European crab apple (■); X-axis: detected alleles in basepairs; Y-axis: relative allele frequencies.

in Wild- und Kulturapfel sind in der linken Hälfte der *Abbildung 1* (A1, A2) dargestellt.

Die Kurve der mittleren Wahrscheinlichkeiten für die Einteilung der beobachteten Genotypen in eine vorgeschriebene Anzahl von *K* Gruppen (*Abb. 1* A1) ist anfangs sehr steil, beginnt aber bereits ab drei Clustern zu stagnieren. Die größte Veränderung der Wahrscheinlichkeiten ist bereits bei einem Split der Individuen in zwei Gruppen zu verzeichnen. Die Einteilung der Individuen bleibt zwischen den zehn replizierten Läufen bis zu einer Gruppenzahl von sieben nahezu identisch, erst ab einer Anzahl von acht Clustern wird die Gruppenzuordnung der Individuen instabil und beginnt zwischen den Läufen zu variieren. Auch die Delta *K*-Werte zeigen,

dass die Einteilung der Individuen in zwei Gruppen bei dieser Einstellung der STRUCTURE-Parameter am wahrscheinlichsten ist.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass die Erhöhung von zwei auf mehr Cluster bei dieser STRUCTURE-Analyse kaum einen Gewinn an Informationen brachte. In *Abb. 2* sind die Ergebnisse der Läufe für zwei und drei Cluster aufgeführt und es ist zu erkennen, dass die Kulturäpfel deutlich von den Wildäpfeln zu unterscheiden sind.

Es wird ferner deutlich, dass sich innerhalb der vermeintlichen Wildapfel-Vorkommen auch einige nahezu reine Kulturäpfel eingeschlichen haben (mit über 90%

Tab. 3

Untersuchte Kern-Mikrosatelliten (nSSRs), die Längenbereiche der in dieser Studie gefundenen nSSR-Fragmente in Basenpaaren (Bp.), die absolute Anzahl an Allelen (N) sowie deren Diversität v_2 (effektive Allelzahl, vgl. HATTEMER et al. 1993) über alle untersuchten Wildäpfel und Kulturapfelsorten; genetischer Abstand d_0 zwischen dem Kultur- und Wildapfel.

Studied nuclear microsatellites (nSSRs), the range of the fragment lengths found in this study in basepairs (Bp.), the absolute number of observed alleles (N), the effective number of alleles (diversity v_2 according to HATTEMER et al. 1993) across all investigated European crab apple individuals as well as all studied apple cultivars; the genetic distance d_0 between apple cultivars and wild apple.

nSSR-Genorte	Wildapfel (603 Individuen)			Kulturapfel (66 Sorten)			d_0
	Bp.	N	v_2	Bp.	N	v_2	
nz23g04	76-116	16	3,45	80-116	15	4,53	0,880
ch02d12	178-232	26	6,93	178-212	14	4,87	0,644
gd162	211-259	23	5,94	213-251	10	4,60	0,434
ch01h10	86-144	26	7,21	90-138	11	2,58	0,877
ch01h01	106-152	21	8,72	100-142	13	6,59	0,472
gd96	152-198	20	7,06	152-198	12	7,87	0,517
Genpool		132	6,55		75	5,17	0,637

Kulturapfelanteil). Dies betrifft im Wesentlichen die Bestände BW-1, BW-2 und MV-2. Insgesamt sind immer wieder auch potenzielle Hybriden zu erkennen mit mehr oder weniger starken Anteilen vom Wild- und Kulturapfel. Hier sind insbesondere die Vorkommen BB-1, BW-4, NI-1, NW-1, SL-1 und TH-1 zu nennen. Die Bestände mit dem durchschnittlich höchsten Wildapfelanteil (höchste „Wildnähe“) sind BB-2, BB-3, BB-4, MV-1, NI-2, NI-3, RP-1, SH-1, ST-1, ST-2, ST-3 und TH-4.

Allelische Häufigkeitsprofile und Strukturen: Zur Beschreibung allelischer Strukturen sind die Kulturäpfel sowie nur die artreinsten Wildäpfel in die Analytik eingegangen. Innerhalb der potenziellen Wildäpfel sind alle vermeintlichen Hybriden mit einem Kulturapfel-Anteil von mehr als 20% aus der Statistik entfernt worden. Insgesamt sind von den 725 analysierten Proben, nach Abzug der kulturnahen Exemplare und Hybriden, 602 Individuen für weitere Untersuchungen übrig geblieben.

Es zeigt sich, dass wir zwar nur sehr wenige „artspezifische“ allelische Varianten erwarten können, aber dennoch weisen zwei der untersuchten SSR-Genorte große Unterschiede in ihren allelischen Häufigkeiten auf (siehe Abb. 3, Tab. 3). Am Genlocus nz23g4 überwiegen beim Kulturapfel die Allele 82 und 108, während beim Wildapfel die Allele 88, 90 und 92 am häufigsten vertreten sind. Ähnliches gilt für den SSR-Locus ch01h10, der beim Kulturapfel mit nahezu 60% von Allel 98 (Allel 90 mit ca. 20%) dominiert wird. Hier werden mit einem Wert von $d_0 = 0,88$ auch die größten genetischen Abstände erreicht. Die geringsten genetischen Abstände zwischen Wild- und Kulturapfel sind mit $d_0 = 0,43$ am

Genort gd162 zu verzeichnen. Hier teilen sich Wild- und Kulturapfel die häufigsten allelischen Varianten 215, 233, 235, 237 und 239. Alle, auch die geringeren hier gemessenen Abstandswerte, erwiesen sich im Permutationstest als höchst signifikant (***)

Über alle Genorte hinweg müssten insgesamt 63,7% der allelischen Varianten zwischen Wild- und Kulturapfel ausgetauscht werden, um identische genetische Strukturen an den hier untersuchten Mikrosatelliten-Genorten zu erreichen.

Die untersuchten Wildapfelbestände weisen gegenüber den ausgewählten Kultursorten eine höhere genetische Vielfalt auf. Das ist zum einen an den absoluten Allelzahlen (132 beim Wildapfel, 75 bei den Kultursorten) als auch an deren effektiven Häufigkeiten (= Diversität v_2) zu erkennen. Besonders auffallend ist dieser Unterschied am Genort ch01h10 ($v_2 = 7,21$ zu 2,58). Im Gegensatz zum Kulturapfel mit nur einem vorherrschenden Allel, konnte beim Wildapfel, außer den häufigen Allelen von 104, 118 und 140, eine Streuung von seltenen Varianten über die nahezu gesamte Bandbreite von 86–144 Basenpaaren beobachtet werden (siehe Abb. 3).

3.2 Geographische-genetische Strukturen des Wildapfels

In der rechten Hälfte von *Abbildung 1* (B1, B2) sind die statistischen Auswertungen der STRUCTURE-Läufe für den Wildapfel (ohne Individuen mit einem Kulturapfel-Anteil von mehr als 20%) dargestellt. Die Kurve der mittleren Wahrscheinlichkeiten für die Einteilung der Individuen in eine vorgeschriebene Anzahl von Gruppen (*Abb. 1*, B1) ist bis zu $K = 4$ Gruppen sehr steil

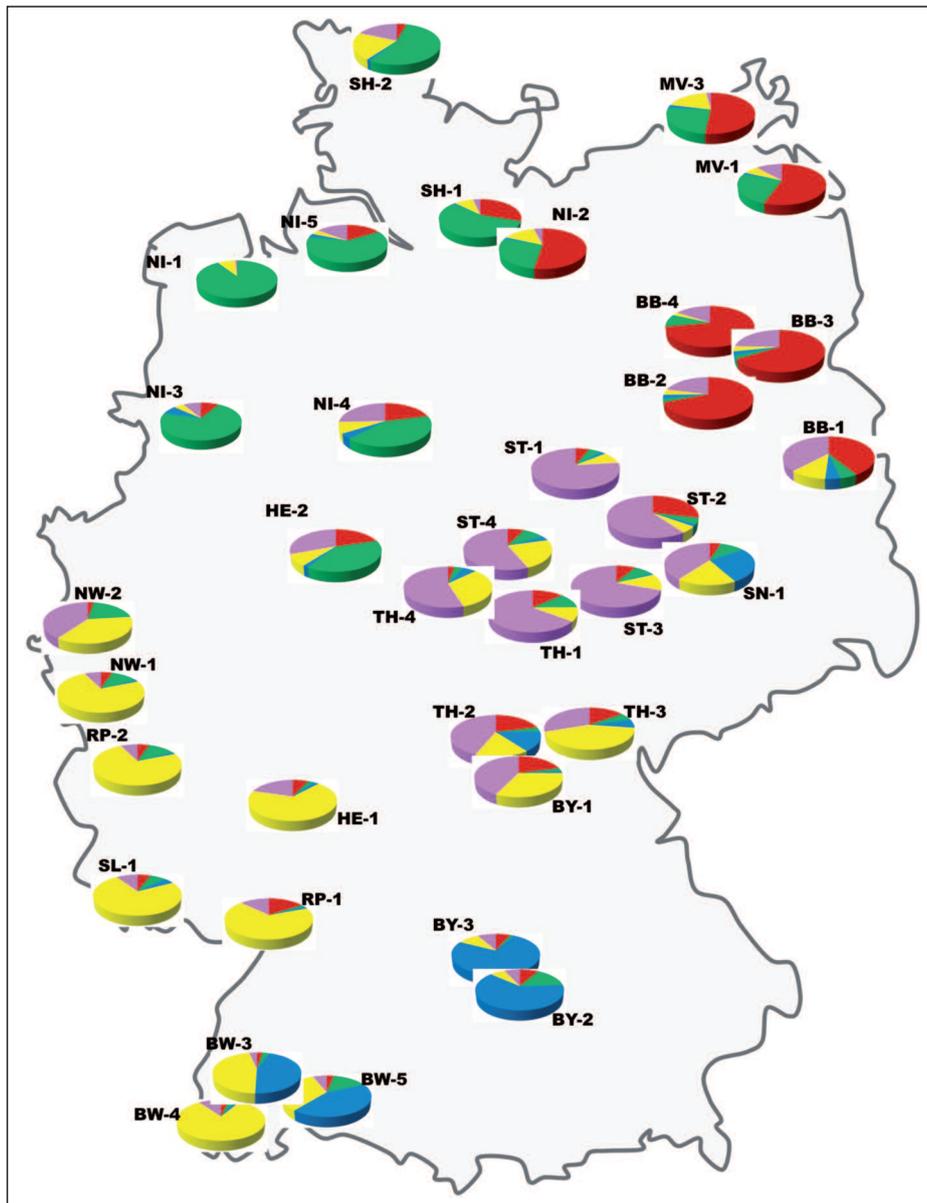


Abb. 4

Mittlere genetische Gruppenzugehörigkeiten der analysierten Vorkommen des Wildäpfels bei K = 5 Clustern.

Mean clustering results of the analysed European crab apple stands for K = 5 clusters.

und beginnt ab fünf Clustern zu stagnieren. Die größte Veränderung der Wahrscheinlichkeiten ist hier bei einem Split der Individuen von vier in fünf Gruppen zu verzeichnen. Die Einteilung der Individuen bleibt zwischen den zehn replizierten Läufen bis zu einer Gruppenzahl von fünf nahezu unverändert. Ab einer Anzahl von sechs Clustern wird die Gruppenzuordnung der Individuen unregelmäßig mit relativ hoher Variation zwischen den Läufen. Die Delta K-Werte ergeben für die Einteilung der Individuen sowohl in zwei als auch in fünf Gruppen die höchsten Werte (Abb. 1, B2).

In *Abbildung 4* sind die Ergebnisse des STRUCTURE-Laufs für die Einordnung der potenziell artreinsten

Wildäpfel in fünf Gruppen vorgestellt. Wir haben hier auf die Darstellung von Einzelindividuen in Form von Balkendiagrammen verzichtet. Um die Unterschiede zwischen den einzelnen geographischen Regionen besser veranschaulichen zu können, haben wir anstelle der individuellen Eingruppierungen die Mittelwerte der einzelnen Vorkommen in Form von Kuchendiagrammen gewählt.

Es ist deutlich zu erkennen, dass der Wildäpfel in Deutschland verschiedenen Zonen zugeteilt werden kann. Der nordwestdeutsche Raum (hpts. Niedersachsen) ist deutlich vom ostdeutschen Bereich getrennt. Innerhalb Ostdeutschlands wiederum sind Sachsen-

Anhalt und Thüringen deutlich von Brandenburg getrennt. Das südliche Niedersachsen und das nördliche Hessen sowie die Bestände in Mecklenburg-Vorpommern dagegen zeigen Mischstrukturen zwischen dem nordwestlichen und östlichen Bundesgebiet.

Der südliche und südwestliche Teil bildet eigene Gruppen. Die Bestände BY-2 und BY-3 sind deutlich von denen in Rheinland-Pfalz, Saarland, dem südlichen Hessen sowie dem westlichen Baden-Württemberg getrennt. Die Gebirge des Schwarzwalds bilden möglicherweise eine Trennlinie im süddeutschen Raum.

4. DISKUSSION

Zur taxonomischen Unterscheidung von Wild- und Kulturapfel stehen zwar eine Reihe von morphologischen Merkmalen zur Verfügung (z.B. Blatt- und Blütenbehaarung oder Fruchtgröße und -farbe), aber deren Ausprägung wird stark von den lokalen Umweltbedingungen beeinflusst. So kann die Blattbehaarung zwischen den Jahreszeiten sehr unterschiedlich ausfallen und die Blüten- und Fruchtbildung je nach soziologischer Stellung über mehrere Jahre auch vollständig entfallen (REIM et al., 2011). In dieser bundesweiten Studie konnten wir zeigen, dass mit DNA-basierten Methoden ein Hilfsmittel zur Verfügung steht, das im Vergleich zu komplexen morphologischen Bestimmungsverfahren einen enormen Informationsgewinn darstellt. Diese Untersuchung untermauert die mit ähnlichen Methoden gewonnenen Erkenntnisse von KLEINSCHMIT et al. (2012) und REIM et al. (2013a,b), die sich allerdings nur auf eine geringere Anzahl an Kultursorten und potenzielle Wildapfelvorkommen (Niedersachsen, Hessen, Ostergebirge) beschränken. Im Wesentlichen bestätigt diese Studie auch die mit der Haupt-Komponenten-Analyse erzeugten Ergebnisse von KLEINSCHMIT et al. (2012) mit dem Unterschied, dass hier Mischungsanteile zwischen Wild- und Kulturform durch Hybridisierung geschätzt werden können (vgl. BLE, 2013, Endbericht Wildapfel). Damit können unsere Ergebnisse auch einer Reihe verschiedener anderer Arbeiten zugeordnet werden, die den Ursprung sehr vieler Kulturapfelsorten in Zentral-Asien sehen (vgl. GHARGHANI et al., 2009; RICHARDS et al., 2009).

Zusätzlich zu weiteren populationsbiologischen und phänologischen Kriterien, wie z.B. Individuenzahlen, Flächengrößen, Vitalität, Reproduktionsfähigkeit etc., erlauben DNA-basierte Verfahren somit interessante Beurteilungsmöglichkeiten hinsichtlich der Erhaltungswürdigkeit und -dringlichkeit genetischer Ressourcen potenzieller Wildapfelvorkommen. Aber nicht nur an heimischen Wildobst-Species, auch an anderen „seltenen“ Waldbaumarten werden ähnliche Ansätze hinsichtlich der Erfassung von Generhaltungsobjekten verfolgt. Interessante Ergebnisse konnten so auch für die Flaumeiche (*Quercus pubescens*) gewonnen werden, die insbesondere mit der heimischen Trauben-Eiche hybridisiert (grundlegende genetische Arbeiten dazu siehe LEPAIS et al., 2009; NEOPHYTOU et al., 2010; HÖLTKEN et al., 2012). Gerade im Hinblick auf Klimaveränderung stellt die Erfassung artreiner Vorkommen sowie von

Hybridschwärmen die Basis für umfassende Forschungsarbeiten dieser beiden Arten dar, insbesondere hinsichtlich der Trockentoleranz (vgl. KÄTZEL et al., 2012, 2014). DNA-basierte Verfahren zur Quantifizierung der Artintegrität sind somit auch in Zukunft sehr wichtig, sowohl für die Erhaltung ursprünglicher Ausgangsressourcen für züchterische Zwecke (z.B. Resistenzzüchtung bei Kulturobstarten) als auch für zukünftige waldbauliche Maßnahmen.

Interessant ist auch die geographische Auswertung der STRUCTURE-Ergebnisse, die eine Einteilung der genetischen Information des Wildapfels in verschiedene geographische Regionen ermöglicht (s. Abb. 4). Dies ist für viele windbestäubte Arten auf Grundlage dieser Methode bislang meist nur begrenzt und großräumiger möglich gewesen (s. Unterscheidung von slavonischer und deutscher Stieleiche, *Quercus robur* L. in HÖLTKEN et al. 2012).

Als eine wesentliche Ursache können Unterschiede in der Effizienz der Ausbreitung genetischer Information angesehen werden. Während die Pollen unserer windbestäubten Hauptbaumarten über große Entfernungen transportiert werden können (SCHÜLER, 2005), bleibt die Vermischung bei entomophilen Arten wie unserem Wildobst auf die maximalen Ausbreitungsdistanzen (Flugweiten) der Insekten beschränkt. Dies führt nachweislich zu einer höheren genetischen Differenzierung zwischen Vorkommen, was der Vergleich populationsgenetischer Ergebnisse verschiedener Studien eindeutig belegt (vgl. DEGEN et al., 2010; JOLIVET et al., 2011, 2012; REIM et al., 2012). Unser Ergebnis der STRUCTURE-Analyse steht zum großen Teil auch in Einklang mit den zuvor schon von HUBER et al. (2013) gefundenen genetischen Abstandswerten zwischen den einzelnen Wildapfel-Vorkommen (gleicher Datensatz aus dem bundesweiten BLE-Projekt). Hier sind die geringsten genetischen Distanzen zwischen Vorkommen innerhalb Brandenburgs ($d_0 = 0,25$ bis $0,31$), Sachsen-Anhalts und Thüringens ($d_0 = 0,25$ bis $0,32$) zu verzeichnen. Die größten genetischen Unterschiede wurden zwischen weiter entfernt liegenden Beständen gemessen ($d_0 = 0,64$ zwischen NW-3/MV-3 oder NI-1/BY-3).

Für die wissenschaftlich fundierte Ausweisung von Beerntungsgebieten gibt es bislang nur unzureichende Datengrundlagen. Bei näherer Betrachtung von Abb. 4 fällt aber auf, dass die ermittelte geographische Verteilung der genetischen Information auffallende Ähnlichkeit mit den nach SCHMIDT und KRAUSE (1997) auf der Grundlage ökologischer Einheiten beschriebenen sechs Vorkommensgebieten innerhalb Deutschlands aufweisen. Unsere Studie untermauert demnach die Bedeutung von Herkunftsgebieten für die Auswahl von Vermehrungsgut, auch bei wirtschaftlich nicht relevanten Baum- und Straucharten. Bislang waren durch das Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) verbindliche Herkunftsgebiete nur für forstlich bedeutende Baumarten festgelegt. Viele weitere Gehölz- und Straucharten, wie z.B. den Wildapfel, betraf diese Vorschrift nicht. Hierfür sind erst in § 40 Abs. 4 BNatSchG kürzlich weitere Grundlagen geschaffen worden, die ebenfalls die Verwendung von Pflanzenmaterial aus der jeweiligen geographischen Region regeln sollen.

Mit dieser Studie konnten wir belegen, dass der Genpool des Wildapfels innerhalb verschiedener Vorkommensgebiete Deutschlands deutliche Unterschiede aufweist. Diese Erkenntnisse sollten für die Erarbeitung von Konzepten zu dessen Schutz und Erhaltung dringend Beachtung finden, denn gerade bei so seltenen Arten wie dem Wildapfel werden gut funktionierende genetische Systeme (z.B. Paarungs- und Reproduktionssysteme etc.) benötigt, um auch künftig funktionsfähige Populationen aufrecht zu erhalten. Voraussetzung dafür ist eine möglichst gute Anpassbarkeit und auch Anpassungsfähigkeit an bestehende und sich künftig ändernde Umweltbedingungen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Strategien zum Schutz des Wildapfels [*Malus sylvestris* (L.) MILL.], einem der forstbotanischen Raritäten Mitteleuropas, sollten sowohl ökologische als auch genetische Aspekte beinhalten. Denn nicht nur der Rückgang geeigneter Habitate, auch die daraus resultierende reproduktive Isolation einzelner Reliktpopulationen birgt das Risiko der Extinktion der letzten, wenigen Vorkommen. Darüber hinaus können geringe Populationsgrößen in Verbindung mit genetischer Introgression aus Kulturapfel-Beständen zu einem Verlust an Wildnähe und damit einer Verringerung adaptiven Potenzials beitragen.

Im Rahmen eines umfangreichen Projektes (2010–2013), finanziert von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), sind zehn seltene Baumarten, darunter auch die bedeutendsten Vorkommen des Wildapfels, bundesweit erfasst worden. Diese einzigartige Daten- und Probensammlung wurde in dieser Studie dazu verwendet, die genetischen Strukturen unseres heimischen Wildapfels näher zu analysieren.

Es konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe populationsgenetischer Methoden sowohl die Differenzierung von Wild- und Kulturapfel als auch eine Schätzung von Mischungsanteilen in Hybriden durchgeführt werden kann. Zusätzlich zu weiteren populationsbiologischen und phänologischen Kriterien, erlauben DNA-basierte Verfahren somit interessante Beurteilungsmöglichkeiten hinsichtlich der Erhaltungsfähigkeit genetischer Ressourcen potenzieller Wildapfelvorkommen.

Ferner konnte der gesamte Genpool des Wildapfels in Deutschland unterschiedlichen geographischen Reproduktionseinheiten zugeordnet werden. Dieser Sachverhalt bestätigt die Bedeutung von Herkunftsgebieten für die Auswahl von Vermehrungsgut als Grundlage für den Schutz und die Vermehrung angepasster und künftig anpassungsfähiger Populationen unseres Wildapfels.

6. SUMMARY

Title of the paper: *Species integrity and spatial genetic structures of the European crab apple (Malus sylvestris (L.) MILL.)*

Conservation strategies for the indigenous European crab apple [*Malus sylvestris* (L.) MILL.], one of the forest botanical rarities in Europe, should imply ecological as well as genetic aspects. The decline of suitable habitats

and the resulting reproductive isolation of relict stands imply the risk of extinction of the few remaining populations. In addition, low population sizes in combination with genetic introgression from apple cultivars involve the danger of losing wild type adaptive potential.

In the framework of a large project (2010–2013), funded by the Federal Office of Agriculture and Food, a nationwide inventory of ten rare native tree species has been carried out, among them the most important European crab apple populations. This unique data and sampling material was used to investigate the genetic resources by means of DNA markers.

This study demonstrates that population genetic methods enable to distinguish between European crab apple and apple cultivars as well as the proportion of admixture within hybrids. In addition to further population or phenological criteria, DNA-based methods turned out to be an interesting tool to detect wild type resources and to evaluate their need of protection.

Furthermore, we were able to group the existing crab apple gene pool within Germany into different reproductive units. This fact confirms the significance of provenances for the choice of wild type reproductive material in order to protect and to propagate adapted and adaptable populations of our European crab apple.

7. RÉSUMÉ

Titre de l'article: *Intégrité spécifique et structures géographiquement génétiques du pommier sauvage indigène (Malus sylvestris (L.) MILL.)*

Des stratégies de protection du pommier sauvage (*Malus sylvestris* (L.) MILL.), une des raretés de botanique forestière en Europe centrale, devraient se composer aussi bien d'aspects écologiques que d'aspects génétiques. Car il n'y a pas que le recul de son habitat mais aussi l'isolation de reproduction qui en résulte pour les quelques populations reliques, qui constituent un danger d'extinction des quelques derniers exemplaires. En outre de faibles tailles de population qui se mélangent génétiquement aux peuplements de pommiers de culture, peuvent causer une perte du caractère sauvage et par là-même conduire à une diminution du potentiel adaptatif.

Dans le cadre d'un vaste projet (2010–2013), financé par le Ministère fédéral de l'agriculture et de l'alimentation (BLE), dix espèces rares ont été prises en considération dans toute l'Allemagne, parmi lesquelles aussi la survie très importante du pommier sauvage. Ce rassemblement de données et d'échantillons a été utilisé dans cette étude, pour analyser de manière plus proche les structures génétiques de notre pommier sauvage indigène.

Il pourrait être mis en évidence qu'à l'aide de méthodes de génétique des populations, on peut étudier la différenciation du pommier sauvage du pommier de culture de même que l'estimation des proportions de mélange dans les hybrides. En complément, pour obtenir d'autres critères d'ordre phénologique et de biologie des populations, les analyses d'ADN offrent des possibilités intéressantes de diagnostic au regard de la capacité de maintien des ressources génétiques de l'existence potentielle du pommier sauvage.

De plus l'ensemble du pool génétique du pommier sauvage en Allemagne pourrait être ordonné en différentes unités géographiques de reproduction. Ces circonstances justifient l'importance de sauvegarder des zones de provenance pour le choix des semences à multiplier comme base pour la protection et la multiplication de populations de notre pommier sauvage, adaptées et capable de s'adapter dans l'avenir.

8. DANKSAGUNG

Diese Studie entstand im Zuge eines vom Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) finanzierten Projektes in den Jahren 2010 bis 2013. Gedankt sei den vielzähligen Projekt- und Kooperationspartnern für die bundesweite Auswahl, Erfassung und Beprobung der hier untersuchten Wildapfelvorkommen.

9. LITERATUR

- AAS, G. (2013): Der Wildapfel – Biologie und Ökologie einer gefährdeten Baumart. LWF Wissen **73**: 7–14.
- BLE (2013): Erfassung und Dokumentation genetischer Ressourcen seltener und gefährdeter Baumarten in Deutschland. Endbericht Wildapfel, 126 S.
- COART, E., X. VEKEMANS M. J. M. SMULDERS, I. WAGNER, J. VAN HUYLENBROECK, E. VAN BOCKSTAELE und I. ROLDÁN-RUIZ (2003): Genetic variation in the endangered wild apple (*Malus sylvestris* (L.) MILL.) in Belgium as revealed by amplified fragment length polymorphism and microsatellite markers. *Molecular Ecology* **12**: 845–857.
- CORNILLE, A., P. GLADIEUX, M. J. M. Smulders, I. ROLDAN-RUIZ, F. LAURENS, B. LE CAM, A. NERSESYAN, J. CLAVEL, M. OLONOVA, L. FEUGEY, I. GABRIELIAN, X.-G. ZHANG, M. I. TENAILLON und T. GIRAUD (2012): New Insight into the History of Domesticated Apple: Secondary Contribution of the European Wild Apple to the Genome of Cultivated Varieties. *PLoS Genet* **8**(5): e1002703.
- DEGEN, B., A. M. HÖLTKEN und M. ROGGE (2010): Use of DNA-fingerprints to control the geographic origin of forest reproductive material. *Silvae Genetica* **59**: 268–273.
- DUMOLIN, S., B. DEMESURE und R. J. PETIT (1995): Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genetics* **91**, 1253–1256.
- EARL, D. A. und B. M. von HOLDT (2011): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* **4**: 359–361.
- ENZENBACH, B. und M. LAUTERBACH (2013): Der Wildapfel – ein Rundumversorger für Vögel. LWF Wissen **73**: 37–40.
- EVANNO, G., S. REGNAUT und J. GOUDET (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611–2620.
- FALUSH, D., M. STEPHANS und J. K. PRITCHARD (2003): Inference of population structure: Extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* **164**, 1567–2620.
- FALUSH, D., M. STEPHANS und J. K. PRITCHARD (2007): Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* **7**, 574–578.
- GHARGHANI, A., Z. ZAMANI, A. TALAIE, N. C. ORAGUZIE, R. FATAHI, H. HAJNAJARI, C. WIEDOW und S. E. GARDINER (2009): Genetic identity and relationships of Iranian apple (*Malus × domestica* BORKH.) cultivars and landraces, wild *Malus* species and representative old apple cultivars based on simple sequence repeat (SSR) marker analysis. *Genetic Resources & Crop Evolution* **56**: 829–842.
- GREGORIUS, H. R. (1974): Genetischer Abstand zwischen Populationen. I. Zur Konzeption genetischer Abstandsmessung. *Silvae Genetica* **23**: 22–27.
- HARRIS, S. A., J. P. ROBINSON und B. E. JUNIPER (2002): Genetic clues to the origin of the apple. *Trend in Genetics* **18**, 426–430.
- HATTEMER, H. H., M. ZIEHE und F. BERGMANN (1993): Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaften. Sauerländers Verlag.
- HÖLTKEN, A. M. (2005): Genetische Untersuchungen zu den Voraussetzungen und Konsequenzen einer rezedenten Lebensweise am Beispiel der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.). Dissertation Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie, Georg-August-Universität Göttingen.
- HÖLTKEN, A. M., J. BUSCHBOM und R. KÄTZEL (2012): Die Artintegrität unserer heimischen Eichen *Quercus robur* L., *Q. petraea* (MATT.) Liebl. und *Q. pubescens* WILLD. aus genetischer Sicht. *Allg. Forst- u. J.-Ztg.* **183**, 100–110.
- HÖLTKEN, A. M., B. DEGEN und M. ROGGE (2013): DNA-Analysen für den Nachweis der Verwendung gebiets-eigener Gehölze. *Jahrbuch der Baumpflege*, Verlag Haymarket Media, S. 259–265.
- HUBER, G., W. STEINER und R. KÄTZEL (2013): Verbreitung, Genetik und Erhaltungsstrategien des Wildapfels in Deutschland und in Bayern. LWF Wissen **73**, 14–27.
- HUBISZ, M., J., D. FALUSH, M. STEPHANS und J. K. PRITCHARD (2009): Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Res.* **9**: 1322–1332.
- JOLIVET, C., A. M. HÖLTKEN, H. LIESEBACH, W. STEINER und B. DEGEN (2011) Spatial genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.): I. variation among natural populations of different density. *Tree Genetics & Genomes* **7**: 271–283.
- JOLIVET, C., A. M. HÖLTKEN, H. LIESEBACH, W. STEINER und B. DEGEN (2012): Mating patterns and pollen dispersal in four contrasting wild cherry populations (*Prunus avium* L.). *European Journal of Forest Research* **131**: 1055–1069.
- KÄTZEL, R., F. BECKER, J. SCHRÖDER, J. GLATTHORN, A. M. HÖLTKEN und S. LÖFFLER (2012): Flaum- und Zerr-Eiche in Brandenburg – Alternative Baumarten im Klimawandel? *Eberswalder Forstliche Schriftenreihe* **49**: 23–36.
- KÄTZEL, R., T. KAMP, A. M. HÖLTKEN, F. BECKER, H. J. RIEDERER und J. SCHRÖDER (2014, in Druck): Die Vorkommen der Flaum-Eiche (*Quercus pubescens* WILLD.) und ihrer Hybriden nördlich der Alpen. *Landbauforschung – Applied Agricultural and Forestry Research*.
- KLEINSCHMIT, J. R. G., B. HOSIUS und L. LEINEMANN (2012): Gefährdung von Wildapfelsamenplantagen durch Genfluss – Risk of gene flow in wild apple seed orchards. *Forstarchiv* **83**, 19–25.
- KONNERT, M. (2008): Genetische Vielfalt der Wälder – Grundlage ihrer Anpassungsfähigkeit. *Unser Wald* **2**: 8–9.

- LEPAIS, O., R. J. PETIT, E. GUICHOUX, J. E. LAVABRE, F. ALBERTO, A. KREMER und S. GERBER (2009): Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Molecular Ecology* **18**, 2228–2242.
- MAURER, W. D. (2013): Baum des Jahres 2013: Der Wildapfel (*Malus sylvestris*). *Forstinfo* **1/13**, 6–8.
- MODY, K. (2013): Der Wildapfel – Nahrungsgrundlage und Lebensraum phytophager Arthropoden. *LWF Wissen* **73**: 44–50.
- NEOPHYTOU, C., F. A. ARAVANOPOULOS, S. FINK und A. DOUNAVI (2010): Detecting interspecific and geographic differentiation patterns in two interfertile oak species (*Quercus petraea* (MATT.) Liebl. and *Q. robur* L.) using small sets of microsatellite markers. *Forest Ecology and Management* **259**: 2026–2035.
- PRITCHARD, J. K., X. WEN und D. FALUSH (2009): Documentation for structure software: Version 2.3. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>
- REIM, S., A. PROFT, S. HEINZ und M. HÖFER (2011): Diversity of the European indigeneous wild apple *Malus sylvestris* (L.) MILL. in the East Ore Mountains, Germany: I. Morphological characterisation. *Genet. Resources Crop Evol.* **59**: 1101–1114.
- REIM, S., A. M. HÖLTKEN und M. HÖFER (2013a): Diversity of the European indigeneous wild apple *Malus sylvestris* (L.) MILL. in the East Ore Mountains, Germany: II. Genetic characterisation. *Genet. Resources Crop Evol.* **60**: 879–892.
- REIM, S., A. PROFT, S. HEINZ und M. HÖFER (2013b): Conservation measures for *Malus sylvestris* in the East Ore Mountains, Germany. *Forstarchiv* **84**: 144–151.
- RICHARDS, C. M., G. M. VOLK, A. A. REILLEY, A. D. HENK, D. R. LOCKWOOD, P. A. REEVERS und P. L. FORSLINE (2009): Genetic diversity and population structure in *Malus sieversii*, a wild progenitor species of domesticated apple. *Tree Genetics & Genomes* **5**(2): 339–347.
- SCHMIDT, P. A. und A. KRAUSE (1997): Zur Abgrenzung von Herkunftsgebieten bei Baumschulgehölzen für die freie Landschaft. In: *Natur und Landschaft*, S. 92–95.
- SCHNITZLER, A., C. ARNOLD, A. CORNILLE, O. BACHMANN und C. SCHNITZLER (2014): Wild European Apple (*Malus sylvestris* (L.) MILL.) Population Dynamics: Insight from Genetics and Ecology in the Rhine Valley. Priorities for a Future Conservation Programme. *PLOS ONE* e96596. doi:10.1371/journal.pone.0096596.
- SCHOPPA, F. N. (2000): Konsequenzen wald- und forstgeschichtlicher Entwicklungen für die aktuelle genetische Zusammensetzung von Waldbaumpopulationen in Mitteleuropa. Dissertation Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie, Georg-August-Universität Göttingen.
- SCHÜLER, S. (2005): Pollen-mediated gene flow of trees in the temperate zone. Dissertation Universität Hamburg. Sierke-Verlag. 162 S.
- SIEDER, P. (2003): Angewandter Waldbau, Waldbausysteme und -strategien. Waldbau zur Jahrtausendwende, Band 4. Shaker Verlag Aachen.
- STEPHAN, B. R., I. WAGNER und J. KLEINSCHMIT (2003): EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use of wild apple and pear (*Malus sylvestris*/*Pyrus pyraeaster*). International Plant Genetic Resources Institute, Rom, 6 Seiten.