

Genetisch geprüfte Qualität und Identität

Die silvaSELECT-Vogelkirschen-Klonmischung „Escherode I“

Von Andreas Meier-Dinkel, Wilfried Steiner, Olga Artes, Bernhard Hosius und Ludger Leinemann

Beim Anbau der Vogel-Kirsche (Prunus avium) zur Produktion hochwertiger Sortimente für Furniere und Massivholzmöbel spielt die Wuchsform der Bäume eine entscheidende Rolle. Die höchsten Preise werden mit grad-schaftigen, feinästigen Bäumen erzielt. Das übliche, zurzeit am Markt verfügbare Pflanzgut der Vogel-Kirsche aus Bestandesabsaaten oder aus Samenplantagen enthält in der Regel nur einen geringen Anteil Bäume mit einem Potenzial für eine sehr gute Stammform. Eine viel versprechende Alternative sind daher vegetative Nachkommen selektierter Elitebäume.

Bereits im Jahr 1984 wurde in der Abt. C der früheren Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt ein Versuchsprogramm mit dem Ziel der Auswahl und vegetativen Vermehrung von Kirschen-Elitebäumen gestartet. Seit 2004 sind 26 Kirschenklone aus diesen Versuchen als geprüftes Vermehrungsgut zugelassen. Vegetative Nachkommen dieser Klone besitzen damit nachweisbar gegenüber dem Durchschnitt gesteigerte Qualitäts- und Wuchseigenschaften [5]. Obwohl diese Klone auch einzeln vermarktungsfähig sind, werden sie nur als Klonmischung „Escherode I“ unter dem geschützten Warenzeichen „silvaSELECT“ angeboten. Wesentlicher Vorteil einer Klonmischung ist die Erhaltung einer variablen genetischen Basis. Die Vermehrung und Vermarktung erfolgt in Lizenz der neuen Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt.

Für das Qualitätsmanagement der Klonmischung werden molekulargenetische Methoden („genetischer Fingerabdruck“) eingesetzt. Damit sind die Identität bzw. die

Herkunft der einzelnen Klone sowie die Zusammensetzung der Klonmischung an jeder Stelle des Produktionsprozesses überprüfbar.

Genetisch geprüfte Qualität zur Erzeugung hochwertigen Holzes

Die Auswahl der Elitebäume für die Mikrovermehrung und anschließende Klonprüfung erfolgte in drei Selektionsschritten.

1. Im ersten Schritt wurden nach einem strengen Maßstab Plusbäume in Schleswig-Holstein, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen anhand phänotypischer Kriterien ausgewählt, von denen einzelbaumweise Saatgut aus freier Ablüte zur Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen geerntet wurde.
2. In diesen Nachkommenschaftsprüfungen erfolgte in einem zweiten Selektionsschritt die Auswahl der besten Halbgeschwisterfamilien nach Stammform und Wuchsleistung, wodurch ein möglichst hoher Grad an Erblichkeit bei den betrachteten Merkmalen erreicht werden sollte.
3. In einem dritten Selektionsschritt wurden in den ausgewählten Familien im Alter 12 bzw. 9 Jahre die am besten veranlagten Individuen für die Vegetativvermehrung ausgewählt. Diese Elitebäume wurden im Alter 17 bzw. 14 Jahre auf die Stabilität ihrer guten Eigenschaften überprüft.

Die Methode der Mikrovermehrung von Vogel-Kirsche ist bei MEIER-DINKEL [4] beschrieben.

Mit den mikrovegetativ vermehrten Klonen der selektierten Elitebäume wurden Klonprüfungen angelegt. Die 26 zugelassenen silvaSELECT-Klone stammen aus zwei Prüfungen an jeweils zwei Standorten, in denen 11 bzw. 35 Klone im Vergleich zu

Sämlingsstandards geprüft wurden. Für die Zulassung wurden die Merkmale Stammform und Wuchsleistung herangezogen und ausgewertet. In den beiden Klonprüfungen waren 7 bzw. 19 Klone dem Sämlingsstandard in mindestens einem der beiden Merkmale Stammform und Höhe auf beiden Flächen signifikant überlegen. Für diese 26 Klone wurde 2004 eine Zulassung zur Erzeugung von Vermehrungsgut der Kategorie „geprüftes Vermehrungsgut“ nach dem Forstvermehrungsgutgesetz erteilt.

Genetisch überprüfte Identität

Die Kontrolle der Identität der einzelnen Klone in der silvaSELECT-Klonmischung gewährleistet, dass nur solches Vermehrungsgut der Kirsche in den Vertrieb gelangt, von dem zu Recht eine Qualitätssteigerung erwartet werden kann.

Die Erstellung von genetischen Fingerabdrücken hat über forensische Methoden im Zusammenhang mit Kapitalverbrechen oder den Nachweis der Vaterschaft einige Bekanntheit erlangt. Bei Waldbäumen werden vergleichbare Methoden zur Überprüfung der Herkunft von forstlichem Vermehrungsgut, zur Untersuchung der Reproduktionsverhältnisse in Waldbaumpopulationen und zur Erfassung ihrer genetischen Variation eingesetzt [7].

Zur Qualitätssicherung für das silvaSELECT-Klongemisch wurde DNS aus dem Zellkern mithilfe von speziell für die Kirsche entwickelten molekularen Genmarkern untersucht [1, 2, 6]. Bei den so genannten „Mikrosatelliten“ handelt es sich um relativ kurze DNS-Fragmente, die Unterschiede bezüglich der Anzahl von Wiederholungen einfacher Variationsmotive aufweisen (Näheres siehe Kasten).

Überprüfte genetische Variabilität

Über die Kontrollfunktion hinaus erlauben die hier angewandten molekulargenetischen Methoden die Einschätzung der genetischen Qualität des silvaSELECT-Klongemisches bezüglich genetischer Vielfalt und

Tab. 1: Genetische Vielfalt und Diversität in drei Vorkommen der Vogel-Kirsche (HÖLTKEN 2005) im Vergleich zum silvaSELECT-Klongemisch

	Ror	Wib	Set	silvaSelect
Diversität	2,9	3,0	3,6	3,7
Vielfalt	33	33	38	47

A. Meier-Dinkel und W. Steiner sind Mitarbeiter der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt (Abt. C) Hann. Münden. O. Artes und B. Hosius sind Mitarbeiter von ISOGEN am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Göttingen. L. Leinemann ist Mitarbeiter des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen.



Abb. 1: Sprosskultur eines Vogel-Kirschenklons (*Prunus avium*) während der Vermehrungsphase



Abb. 2: Einzelbaumnachkommenschaftsprüfung in der Revierförsterei Groß Dahlum im Alter 20 Jahre. Drei ausgewählte Elitebäume für die Mikrovermehrung im Vordergrund



Abb. 3: Klonprüfung in der Revierförsterei Hahausen im Alter 9 Jahre. Einbaumparzellen. Die Aufnahme entstand nach der ersten Grünäsung

Diversität, im Vergleich zu „natürlichen“ Vorkommen. Dazu wird das silvaSELECT-Klongemisch mit Vorkommen der Kirsche [3] bezüglich der Parameter genetische Vielfalt und Diversität verglichen (Tab. 1).

Der Vergleich zeigt, dass für beide Parameter die jeweils höchsten Werte im silvaSELECT-Klongemisch realisiert sind. Im Fall der genetischen Vielfalt, die die Anzahl unterschiedlicher genetischer Varianten in einem Kollektiv widerspiegelt, übertrifft das silvaSELECT-Klongemisch die natürlichen Bestände um gut 20 %. Soweit Vielfalt und Diversität als genetische Qualitätsparameter verstanden werden können, zeigt dieser Vergleich, dass mit der silvaSELECT-Klonmischung auch diesbezüglich überdurchschnittliche Werte erreicht werden.

Folgerung

Die hier dargestellten Methoden und Ergebnisse belegen, dass Kirschenvermehrungsgut mit der Bezeichnung silvaSELECT höchsten Anforderungen genügt. Dies gilt in erster Linie aufgrund der in Nachkommenschaftsprüfungen nachgewiesenen Mehrleistung bezüglich Masse und Qualität. Darüber hinaus ermöglichen es modernste DNS-Analyseverfahren die Identität und damit die Qualität des Vermehrungsgutes zu gewährleisten. Im Hinblick auf die nachhaltige Bewirtschaftung von Waldgesellschaften zeigt das silvaSELECT Klongemisch keine Anzeichen für eine Einschränkung der genetischen Vielfalt und Diversität.

Literaturhinweise:

[1] CIPRIANI, G.; LOT, G.; HUANG, W. G.; MARRAZZO, M. T.; PETERLUNGER, E.; TESTOLIN, R. (1999): AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach (*Prunus persica*). Isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics* 99 (1-2): 65-72. [2] DIRLEWANGER, E.; COSSON, P.; TAVAUD, M.; ARANZANA, M. J.; POIZAT, C.; ZANETTO, A.; ARUS, P.; LAIGRET, F. (2002): Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica*) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium*). *Theoretical and Applied Genetics* 105 (1): 127-138. [3] HÖLTKEN, A. M. (2005): Genetische Untersuchungen zu den Voraussetzungen und Konsequenzen einer rezedenten Lebensweise am Beispiel der Vogel-Kirsche (*Prunus avium*) Dissertation an der Fakultät für Waldökologie und Forstwissenschaften der Universität Göttingen. <http://webdoc.sub.gwdg.de/diss/2005/hoeltken>. [4] MEIER-DINKEL, A. (1985): In vitro Vermehrung ausgewählter Genotypen der Vogel-Kirsche (*Prunus avium*). *Allg. Forst- u. J.-Ztg.* 157 (7): 139-144. [5] MEIER-DINKEL, A.; SVOLBA, J.; KLEINSCHMITT, J. (1997): Selektierte, mikrovermehrte Vogel-Kirschen-Klone. *AFZ-DerWald* 18: 963-964. [6] TESTOLIN, R.; MARRAZZO, T.; CIPRIANI, G.; QUARTA, R.; VERDE, I.; DETTORI, M. T.; PANCALDI, M.; SANSAVINI, S. (2000): Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica*) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome* 43 (3): 512-520. [7] WEISING, K.; NYBOM, H.; WOLFF, K.; KAHL, G. (2005): DNA Fingerprinting in plants. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York and Singapore.

Beispiel eines „genetischen Fingerabdrucks“

Als Beispiel kann die Abfolge der Nukleotidbasen C (Cytosin) und A (Adenin) dienen. Die Anzahl der Wiederholungen des Motivs CA bestimmt die Länge eines spezifischen DNS-Strangs an einem spezifischen Mikrosatelliten-Genort im Genom. Da für die genetische Charakterisierung der Kirschenklone DNS aus dem Zellkern untersucht wurde, folgt, dass an jedem Mikrosatelliten-Genort jeweils zwei Erbanlagen vorhanden sind. Diese Erbanlagen werden im Zuge der Analyse mit einem automatischen Sequenzierer (ABI 3100) bezüglich ihrer Fragmentlänge charakterisiert. Die Fragmentlänge bezeichnet die Anzahl der Basenpaare (bp), aus denen sich die untersuchten Teilstücke der DNA zusammensetzen (Tab. 1). An einem Genort können damit Kombinationen von jeweils zwei Fragmenten bestimmter Länge auftreten. Diese Fragmente können gleiche oder unterschiedliche Länge besitzen. Die Anzahl der möglichen Kombinationen an jedem der unter-

suchten Mikrosatelliten-Genorte wird von der Anzahl der Fragmente unterschiedlicher Länge (den unterschiedlichen Allelen) bestimmt. Aus der Untersuchung mehrerer Mikrosatelliten-Genorte resultiert eine hohe Anzahl möglicher Multilocus-Genotypen, die als „Zahlencode“ in einer Datenbank erfasst werden und Grundlage der eindeutigen genetischen Charakterisierung der silvaSELECT-Klone sind (s. Tab. 2).

Der Ablauf einer Kontrolluntersuchung ist in der Abb. 4 am Beispiel der Untersuchung eines Genortes dargestellt. Auf der linken Seite sind jeweils drei Individuen eines Klons dargestellt, die mithilfe der oben beschriebenen Methodik untersucht werden. Das Ergebnis der Untersuchung ist auf der rechten Seite dargestellt. Es zeigt sich, dass das Individuum C2 ein deutlich abweichendes Muster aufweist und bei der Überprüfung in der Datenbank auch keine Identität zu einem der anderen Klone festgestellt werden kann.

Tab. 2: Genetischer Fingerabdruck mit sechs Mikrosatelliten-Genorten für drei Klone

Klon	Mikrosatelliten-Genorte										
	005	021	034	040	410	412					
	Fragmentlängen										
A	126	136	110	232	234	124	130	128	113	119	
B	110	136	99	224		132	138	122	130	119	125
C	116	136	99	110	222	226	126	128		123	125

Abb. 4: Ablauf der Analysen am Beispiel eines Mikrosatelliten-Genorts

