

# Umwelt- und pflanzenbedingte Variation von Stabilisotopen

Wilfried Steiner und Bernhard Hosius

## Zusammenfassung

Stabilisotopen lassen sich zur Überprüfung von Produktangaben, z. B. dem Erzeugungsort, einsetzen. Ob sie sich auch für die Herkunftskontrolle bei forstlichem Vermehrungsgut einsetzen lassen, wurde im Rahmen eines BMBF-Projektes untersucht. Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit sind Untersuchungen zur Variation der Stabilisotopen-Zusammensetzung (ausgedrückt als  $\delta$ -Werte) innerhalb von Erntebeständen (Samenplantagen). Es zeigte sich eine sehr große Variation zwischen Einzelbaumabsaaten und zwischen Reifejahren. Die Korrelationen der  $\delta$ -Werte verschiedener Gewebeteile einzelner Bäume waren nur sehr schwach. Bei Vergleichen zwischen Genotypen (Klonen) und zwischen Ramets eines Klons war kein Einfluss des Genotyps auf die  $\delta$ -Werte erkennbar. Ergebnisse von Douglasien- und Eichen-Bestandesabsaaten lassen kein Muster erkennen, mit dem eine regionalspezifische Zuordnung innerhalb Deutschlands möglich wäre. Für die Herkunftskontrolle bedeutet die hohe Variabilität innerhalb von Beständen, dass sich je nach Erntejahr- und Ernteverlauf unterschiedliche Werte ergeben können. Eine Zuordnung von  $\delta$ -Werten zu Standorten ist nicht mit der für Deutschland erforderlichen Auflösung möglich. Die Verwendung von Stabilisotopen für Zwecke der Herkunftssicherung bedarf daher eines Referenzprobensystems, wie es für den Einsatz genetischer Methoden bereits üblich ist.

**Schlagwörter:** Stabilisotopen, Variabilität, Herkunftskontrolle, Genetik, Samenplantagen

## Environmental and genetic effects on the variation of stable isotopes

### Abstract

Stable isotopes are used for verification of product specifications, e. g. production place. A BMBF funded project evaluated their applicability to provenance control of forest reproductive material. Emphasis of the present work is on analyses of the variation of the composition of stable isotopes (expressed by  $\delta$ -values) within seed harvest stands (seed orchards). A big variation was shown between single tree seed lots and between ripening years. The correlations of  $\delta$ -values of different tissues of single trees have been very weak. The comparison of different genotypes (clones) and of ramets of the same genotype did not reveal any genetic impact on  $\delta$ -values. Results of seed lots of Douglas fir and oak stands did not show a geographic pattern within Germany. According to the high variability within seed stands, different  $\delta$ -values are to be expected for different harvesting years and differing harvesting processes. A geographic mapping of  $\delta$ -values within Germany is not possible with the fine scale needed. The use of stable isotopes for ensuring provenance security therefore has to rely on a system of reference samples as it is already in use for the application of genetic methods.

**Key words:** stable isotopes, variability, provenance control, genetics, seed orchards

## 1. Einleitung

### 1.1 Bedeutung von Herkunft und Herkunftssicherheit

Die Bedeutung der Herkunft von forstlichem Vermehrungsgut für Stabilität und Ertrag wird immer wieder betont, so auch im einleitenden Aufsatz dieses Tagungsbandes (JANBEN 2008). Die Modellkalkulationen von KLEINSCHMIT (2002) in älteren Herkunftsversuchen belegen eindrucksvoll das enorme ökonomische Potenzial, das in der Wahl der richtigen Herkunft liegt: 50 % höhere bzw. 40 % geringere Deckungsbeiträge gegenüber dem Versuchsmittel sind bei Buche und Eiche möglich.

Gleichwohl zeigt die Erfahrung, dass der Herkunftswahl in der Forstpraxis häufig keine entsprechend hohe Bedeutung beigegeben wird. Dies mag auch daran liegen, dass die Herkunftsangaben durch den Abnehmer nicht überprüft werden können. Für eine erfolgreiche Umsetzung der Ergebnisse der Herkunftsforschung, die ihren Niederschlag in Herkunftsempfehlungen findet, sind daher Mechanismen zur Gewährleistung der Herkunftssicherheit erforderlich.

Neben dem engeren forstlichen Interesse hat zunehmend auch der Naturschutz Interesse an Fragen der Herkunft und der Herkunftskontrolle, um z. B. bei Ausgleichs- und Ersatzmaßnahmen gezielt Gehölze regionaler Herkunft verwenden zu können (z. B. BMVEL 2003; SEITZ & KOWARIK 2003; SEITZ et al. 2007).

Eine verbesserte Herkunftssicherheit mindert die Gefahr der Verwendung ungeeigneten Saat- und Pflanzgutes und kommt damit dem Wald und der freien Landschaft insgesamt zu Gute. Auf dem Markt für Vermehrungsgut von Bäumen und Sträuchern werden die Möglichkeiten für fehlerhafte Angaben und daraus resultierender Wettbewerbsverzerrung reduziert.

### 1.2 Methoden und Verfahren der Herkunftssicherheit

Es gibt eine Reihe von Methoden, die heute routinemäßig bei der Überprüfung einzelner Partien von Saat- oder Pflanzgut eingesetzt werden können:

- Das Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) gibt durch seine umfangreichen Dokumentationspflichten von der Saatguternte bis zur Pflanzenauslieferung die Legitimation für Überprüfungen. Angaben der Erntemengen in Verbindung mit Angaben zur äußeren Beschaffenheit (Tausendkorngewicht, Reinheit) und zur Keimfähigkeit erlauben Mengenabschätzungen und damit Plausibilitätsprüfungen.
- Über Artbestimmungen (insbesondere bei Eiche) werden nach wie vor immer wieder unzutreffende Angaben aufgedeckt.
- Genetische Untersuchungen haben in ihrer Bedeutung für Kontrollzwecke in den letzten 20 Jahren stetig an Bedeutung gewonnen, wobei neben den klassischen Isoenzymanalysen zunehmend DNA-Techniken zum Einsatz kommen.

Insbesondere für die genetischen Methoden gilt, dass sie in der Regel in ein Verfahren integriert sein müssen, um eine Herkunftsangabe überprüfen zu können. Die Kenntnis genetischer Merkmale allein reicht für eine Herkunftszuordnung meist nicht aus, sondern üblicherweise wird die Übereinstimmung einer Probe mit einer Referenzprobe überprüft. Auf dem Prinzip des Vergleichs mit Referenzproben wurden Zertifizierungssysteme wie z. B. das in Süddeutschland seit 2002 eingeführte ZÜF-System aufgebaut (KONNERT et al. 2008; WEZEL 2008).

### 1.3 Stabilisotopen als geeignete Methode für die Herkunftssicherheit?

Die Untersuchung von Stabilisotopen wird schon seit längerem in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie zur Überprüfung von Herkunftsangaben eingesetzt (FÖRSTEL 2008), auch für Holz wird sie mittlerweile angewandt (FÖRSTEL et al. 2008).

Die Einsatzmöglichkeiten dieser Methode für die Herkunftsüberprüfung forstlichen Vermehrungsgutes wurden im Rahmen eines Projektes untersucht, dessen Ergebnisse in diesem Tagungsband zusammengefasst sind. Das Prinzip dieser Methode wird im Beitrag von FÖRSTEL (2008) dargestellt, auch die im Folgenden verwendeten  $\delta$ -Werte als quantitatives Maß für die Stabilisotopen-Zusammensetzung einer Untersuchungsprobe werden dort erläutert.

## 2. Fragestellung und Untersuchungsansatz

Wünschenswert wäre die Möglichkeit, Untersuchungsproben möglichst genau einer geografischen Lage, im Idealfall einer konkreten Beerntungseinheit zuordnen zu können. Dies setzt aber das Vorliegen hochspezifischer Verteilungsmuster von Stabilisotopen voraus. Um eine Vorstellung über die tatsächlich beobachtbare geografische Variabilität zu erhalten, wurden Bestandesabsaaten untersucht.

Wie stabil und reproduzierbar die  $\delta$ -Werte für einen Erntebestand sind, hängt stark von der Variabilität innerhalb dieses Erntebestandes ab. Um diese extrem kleinräumige Variation zu erfassen, werden Vergleiche zwischen Saatgutpartien verschiedener Bestandteile, verschiedener Einzelbäume und verschiedener Reifejahre untersucht.

Die Untersuchung verschiedener Gewebeteile derselben Pflanze sowie von Saatgut verschiedener Genotypen (Klone) und verschiedener Ramets (derselben Genotypen) soll Informationen liefern, ob neben der Umwelt auch pflanzeigene Einflüsse auf die Stabilisotopen-Zusammensetzung erkennbar sind.

## 3. Material und Methoden

### 3.1 Bestandesabsaaten

Bestandesabsaaten standen vor allem von den Baumarten Eiche und Douglasie zur Verfügung. Sie stammten aus kommerziellen Beerntungen und wurden mit Zustimmung der Eigentümer anonymisiert und nur mit geografischen Angaben für die vorliegende Untersuchung zur Verfügung gestellt.

### 3.2 Samenplantagen

Die Untersuchung der kleinräumigen Variation wurde auf Samenplantagen durchgeführt. Samenplantagen können als Modellpopulationen für Saatguterntebestände angesehen werden. Sie bieten darüber hinaus folgende Vorteile:

- Es gibt weniger Konkurrenz, da die Abstände der Einzelbäume relativ groß sind und auf gute Fruktifikationsbedingungen geachtet wird;
- die Standortbedingungen innerhalb einer Plantage sind in der Regel homogener als in normalen Beständen;
- die einzelbaumweise Beerntung ist einfacher durchzuführen;
- und vor allem bieten Samenplantagen für einzelne Genotypen mehrfache identische Wiederholungen (Ramets).

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Samenplantagen, auf die im Folgenden Bezug genommen wird. Die Eschen- und Douglasien-Samenplantagen sind noch nicht amtlich zugelassen, die Traubeneichen-Samenplantage ist als Ausgangsmaterial für die Gewinnung von Geprüftem Vermehrungsgut (Registernummer 03 1 81807 001 4) zugelassen.

### 3.3 Genetische Inventuren

Alle in die Untersuchung einbezogenen Samenplantagen wurden zuvor einer genetischen Inventur mittels Isoenzymanalysen unterzogen. Die Untersuchungsmethoden entsprachen im Wesentlichen den Empfeh-

lungen von KONNERT et al. (2004a, b, c). Die Untersuchungen dienten der Überprüfung der Klonidentitäten. Wenn Abweichungen erkannt wurden, welche durch Verwechslungen in der Anzucht- oder Anlagephase sowie durch durchgewachsene Unterlagen möglich sind, wurden die abweichenden Individuen für die Entnahme vorgeesehen und bei der Untersuchung zu möglichen genetischen Effekten nicht berücksichtigt.

Insgesamt zeigten die genetischen Untersuchungen nur zu einem relativ geringen An-

teil von wenigen Prozent Widersprüche zu den postulierten Klonzugehörigkeiten auf.

### 3.4 Untersuchung von Stabilisotopen

Alle Analysenwerte von Stabilisotopen wurden im Rahmen des Projektes von der Firma Agroisolab nach einer Fettextraktion der Proben mit Dichlormethan gewonnen, sie entsprechen somit der fettfreien Partition. Auf die Trennung von Samen und Samenschale wurde verzichtet. Die Verarbeitung und Interpretation der von Agroisolab gelieferten Daten erfolgte durch die Autoren.

Tabelle 1: Beschreibung der in die Untersuchungen einbezogenen Samenplantagen  
Table 1: Description of the investigated seed orchards

<b>Baumart</b>	<b>Douglasie</b>	<b>Traubeneiche</b>	<b>Esche</b>
Bezeichnung	„Danndorf“	„Berkel“	„Grohnde“
Anlagejahr	1992	1955	1984
Größe (ha)	4,6	1,0	1,1
Anzahl Klone	281	40	45
Anz. Individuen	687	110	329
Lage	Nieders. Forstamt Dann-dorf, Revier Zum Giebel, Abt. 203	Nieders. Forstamt Lie-benburg, Revier Haus Escherde, Abt. 2076	Nieders. Forstamt Olden-dorf; Revier Wilmeröder-berg, Abt. 132
Ausgangsmaterial	Stecklinge; aus Züchtungsprogramm mit überwiegend nordamerikanischen Originalherkünften ausgewählte juvenile Plusbaum-Stecklinge	Pfropflinge von Plus-bäumen aus Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Hessen, Rheinland-Pfalz	Pfropflinge von Plus-bäumen aus Nordrhein-Westfalen
Untersuchungen von Stabilisotopen	76 Einzelbaumabssaten von 55 Klonen (Reifejahr 2004)	86 Einzelbaumabssaten von 35 Klonen (Reifejahr 2005); 80 Einzelbaumabssaten von 33 Klonen (Reifejahr 2006)	37 Einzelbaumabssaten von 6 Klonen (Reifejahr 2006); Blatt- und Zweigproben von je 9 Bäumen (3 Klone) (Erntejahr 2006)

## 4. Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Umweltbedingte Variation

#### 4.1.1 Verschiedene Erntebestände

##### *Eiche*

Saatgutproben von Stiel- und Traubeneichen aus der Beerntung 2006 wurden als Bestan-

desmischproben untersucht. Das Ergebnis für zwei Elemente (Stickstoff und Kohlenstoff) ist in den Abbildungen 1 und 2 dargestellt.

In Abbildung 1 lässt sich zwar eine deutliche Differenzierung zwischen den Arten erkennen, allerdings sind die  $\delta$ -Werte nicht überlappungsfrei und daher für eine Überprüfung

der Artzugehörigkeit nicht zu verwenden. Es dürften überwiegend die unterschiedlichen Standorte der beiden Arten sein, die sich hier

in getrennten Schwerpunkten auch bei den Stabilisotopen widerspiegeln.

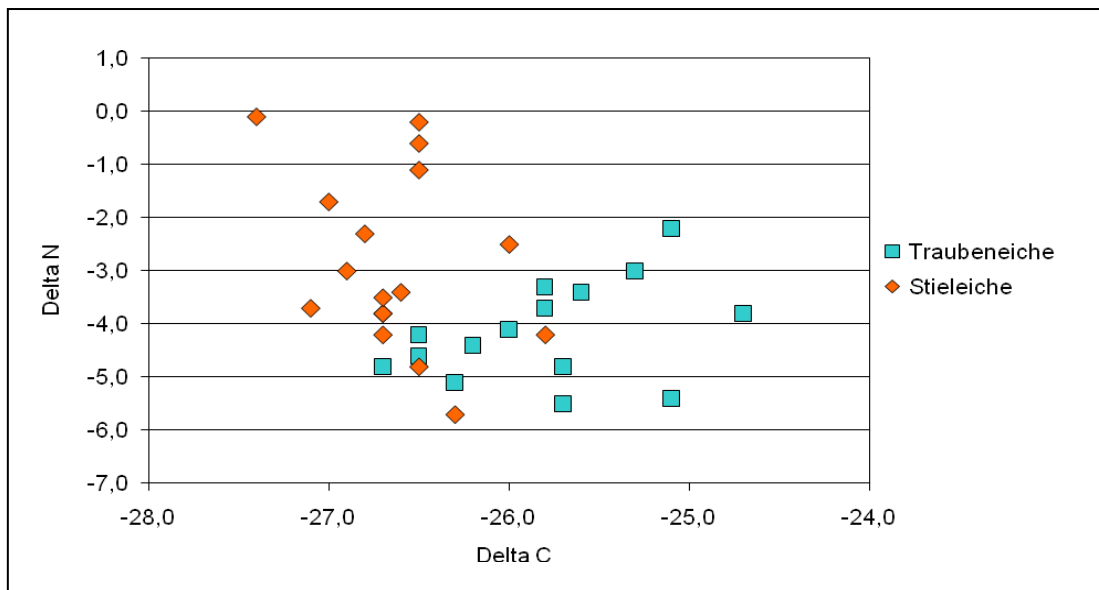


Abb. 1:  $\delta$ -Werte für Kohlenstoff (C) und Stickstoff (N) von Bestandes-Mischproben aus Beerntungen deutscher Eichenbestände (2006). Die Bestandesernten zeigen eine Variation entsprechend der Artzugehörigkeit: Stieleiche (18 Bestände) – Traubeneiche (16 Bestände).

Fig. 1:  $\delta$ -values of carbon (C) and nitrogen (N) of seed mixtures of harvested German oak stands (2006). The harvested seedlots of stands exhibited a variation according to species: pedunculate oak (18 stands) - sessile oak (16 stands).

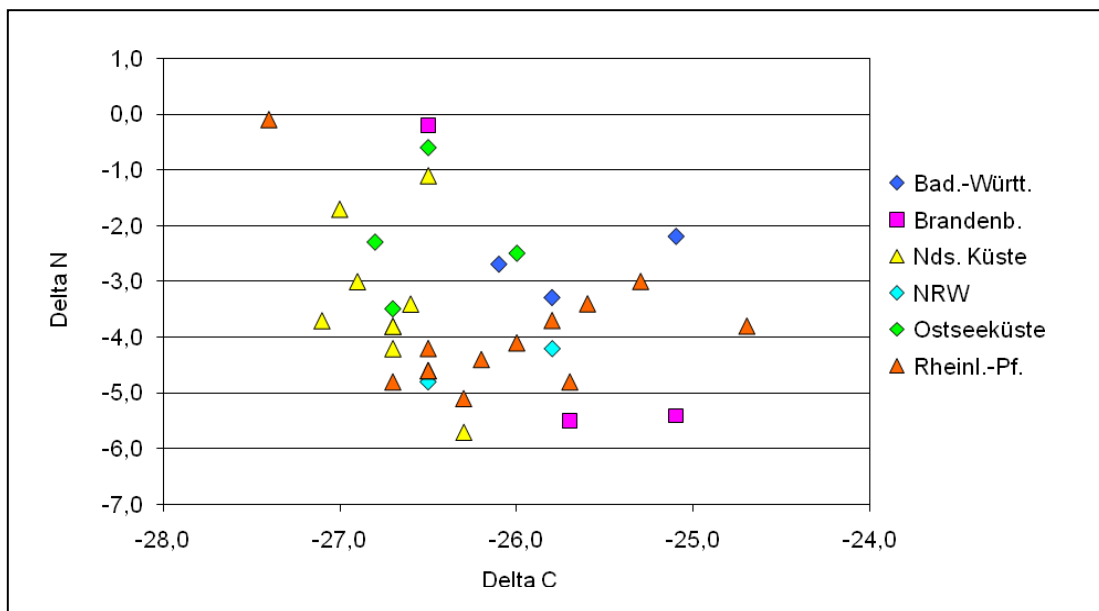


Abb. 2: Regionale Variation der Samen von Stiel- und Traubeneichenbeständen (Material s. Abb. 1)

Fig. 2: Regional variation of seedlots from stands of pedunculate and sessile oak (material see Fig. 1)

In Abbildung 2 werden dieselben Daten nach geografischen Großräumen gruppiert dargestellt. Ein deutlich erkennbares geografisches Verteilungsmuster gibt es nicht. Die Zuordnung von Saatgutproben zu geografischen Regionen oder gar Herkunftsgebieten ist demnach mit Stabilisotopen nicht möglich.

### *Douglasie*

Bestandesmischproben aus 21 Beständen wurden hinsichtlich ihrer Stabilisotopen-Zusammensetzung charakterisiert. Zusätz-

lich wurde für eine Samenplantage ein Mittelwert rechnerisch hergeleitet. Das Ergebnis für zwei Elemente (Stickstoff und Kohlenstoff) ist in Abbildung 3 dargestellt.

Wie bei Eiche zeigt sich auch hier: Die  $\delta$ -Werte für Stabilisotopen im Saatgut unterscheiden sich zwischen verschiedenen Erntebeständen. Es ist aber kein deutliches regionales Muster erkennbar. Mit  $\delta$ -Werten allein lässt sich ein Erntebestand oder Herkunftsgebiet somit nicht bestimmen.

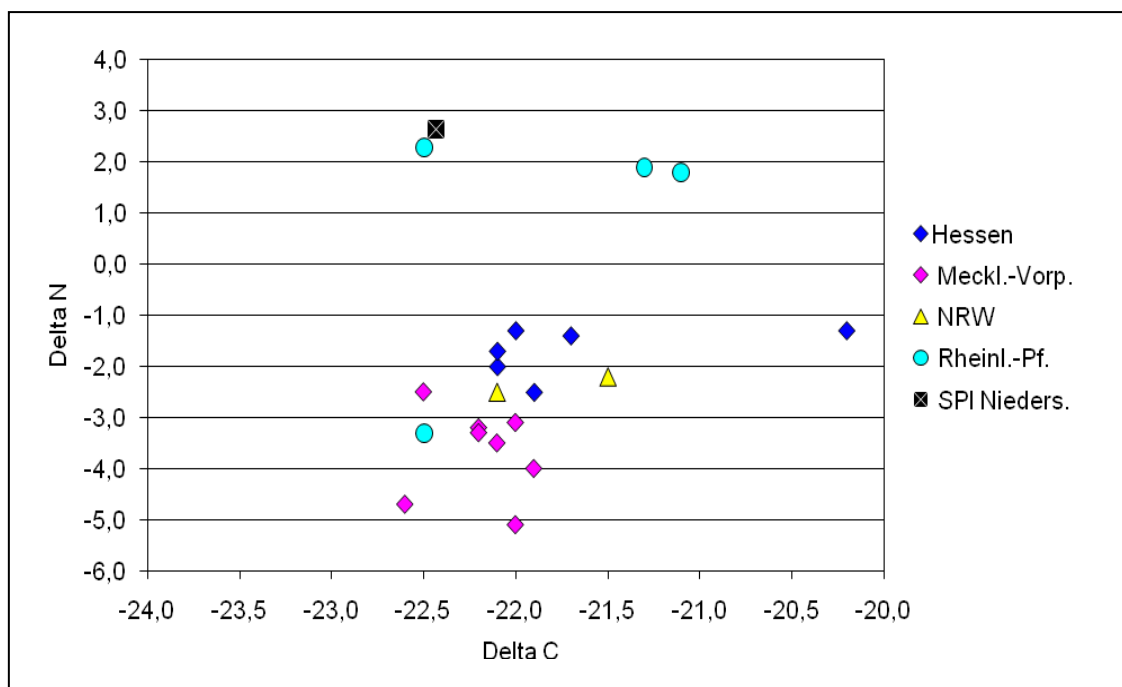


Abb. 3: Regionale Variation der  $\delta$ -Werte von Saatgut aus 21 deutschen Beständen sowie von einer niedersächsischen Samenplantage der Douglasie.

Fig. 3: Regional variation of  $\delta$ -values of seedlots of 21 German stands and a seed orchard of Douglas fir in Lower Saxony.

#### **4.1.2 Variation innerhalb von Beständen**

Auf Samenplantagen wurde Saatgut von Einzelbäumen geerntet und einzelbaumweise hinsichtlich seiner Isotopenzusammensetzung untersucht.

### *Douglasie*

Abbildung 4 zeigt die Variation innerhalb einer Douglasien-Samenplantage. Zum bes-

seren Vergleich der Größenordnungen sind die bereits in Abbildung 3 dargestellten Werte für Bestandesmischproben hier wiederholt. Es zeigt sich, dass die Einzelbaumabsaaten innerhalb einer relativ kleinen Fläche eine Streuung aufweisen, die zumindest für Kohlenstoff die Variationsbreite der 21 Bestandesmischproben aus mehreren Bundesländern übersteigt.

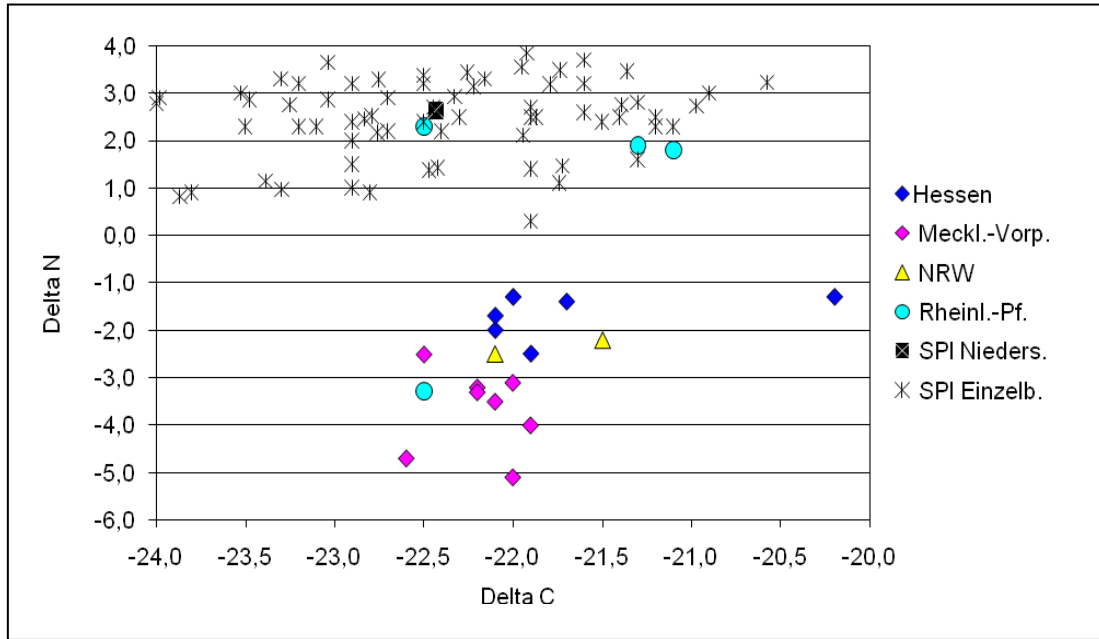


Abb. 4: Variation der  $\delta$ -Werte von Einzelbaumabsaaten (Symbol  $\times$ ) einer Douglasien-Samenplantage im Vergleich zu Bestandesabsaaten von 21 deutschen Beständen.

Fig. 4: Variation of  $\delta$ -values of seedlots from single trees (symbol  $\times$ ) of a seed orchard of Douglas fir in comparison to seedlots from 21 German seed stands.

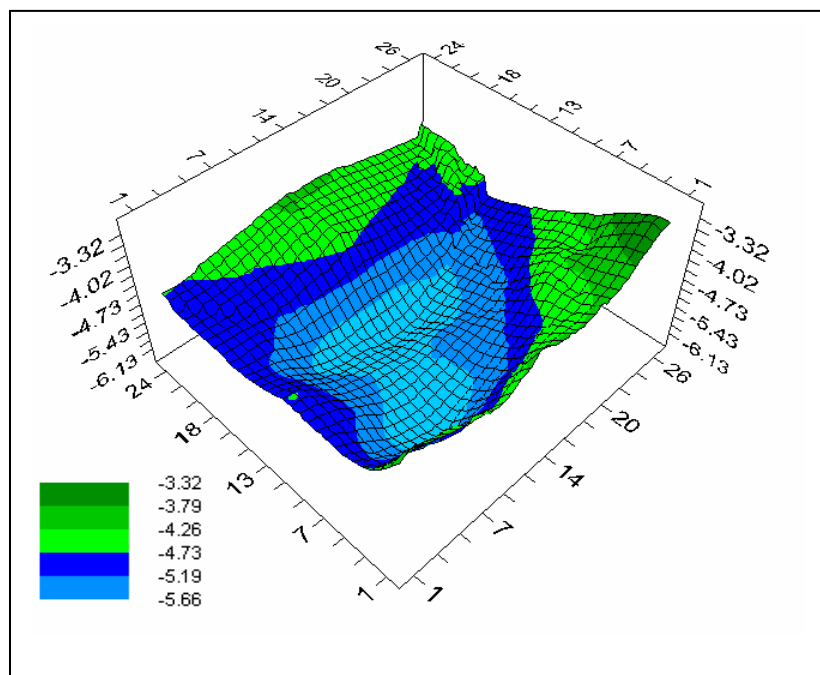
**Eiche**

In Abbildung 5 wird die räumliche Verteilung der Isotope des organischen Stickstoffs ( $N_{org}$ ) innerhalb einer Traubeneichen-Samenplantage für das Reifejahr 2005 gezeigt. Ein deutlicher Trend über die Fläche

ist erkennbar, der auch durch eine Grobkartierung stickstoffzeigender Pflanzen bestätigt wurde. Offensichtlich wirkt sich die unmittelbar benachbarte Ackerfläche mit Eintrag von mineralischem Dünger aus.

Abb. 5: Traubeneiche-Samenplantage: Verteilung der  $\delta$ -Werte von  $N_{org}$  für 2005 einzelbaumweise geerntete Eicheln. X- und y-Koordinaten stellen den Pflanzverband (6 m x 6 m) dar; in der dritten Dimension sind die farblich markierten  $\delta$ -Werte dargestellt (Legende).

Fig. 5: Seed orchard of sessile oak: distribution of  $\delta$ -values of  $N_{org}$  for oak seeds from single trees harvested in 2005. X- and y-coordinates show the planting position while in the third dimension the  $\delta$ -values are shown in colours (legend).



Der Durchschnittswert für die gesamte Ernte der Samenpflanzung (Pflanzmischprobe) hängt damit stark davon ab, in welchen Teilen der Pflanzung wie viel Saatgut produziert bzw. geerntet wird.

Abbildung 6 zeigt die Zusammensetzung der Sauerstoffisotopen ( $H/D_{org}$ ) für dieselbe Samenpflanzung und dieselben Proben wie in

Abbildung 5. Die Variation zwischen den Einzelbaumabsaaten ist sehr groß, im Gegensatz zum organischen Stickstoff ist hier kein Trend über die Fläche erkennbar.

Die Werte für organischen Sauerstoff ( $^{18}O_{org}$ ) variieren ähnlich stark und ebenfalls ohne erkennbares räumliches Muster.

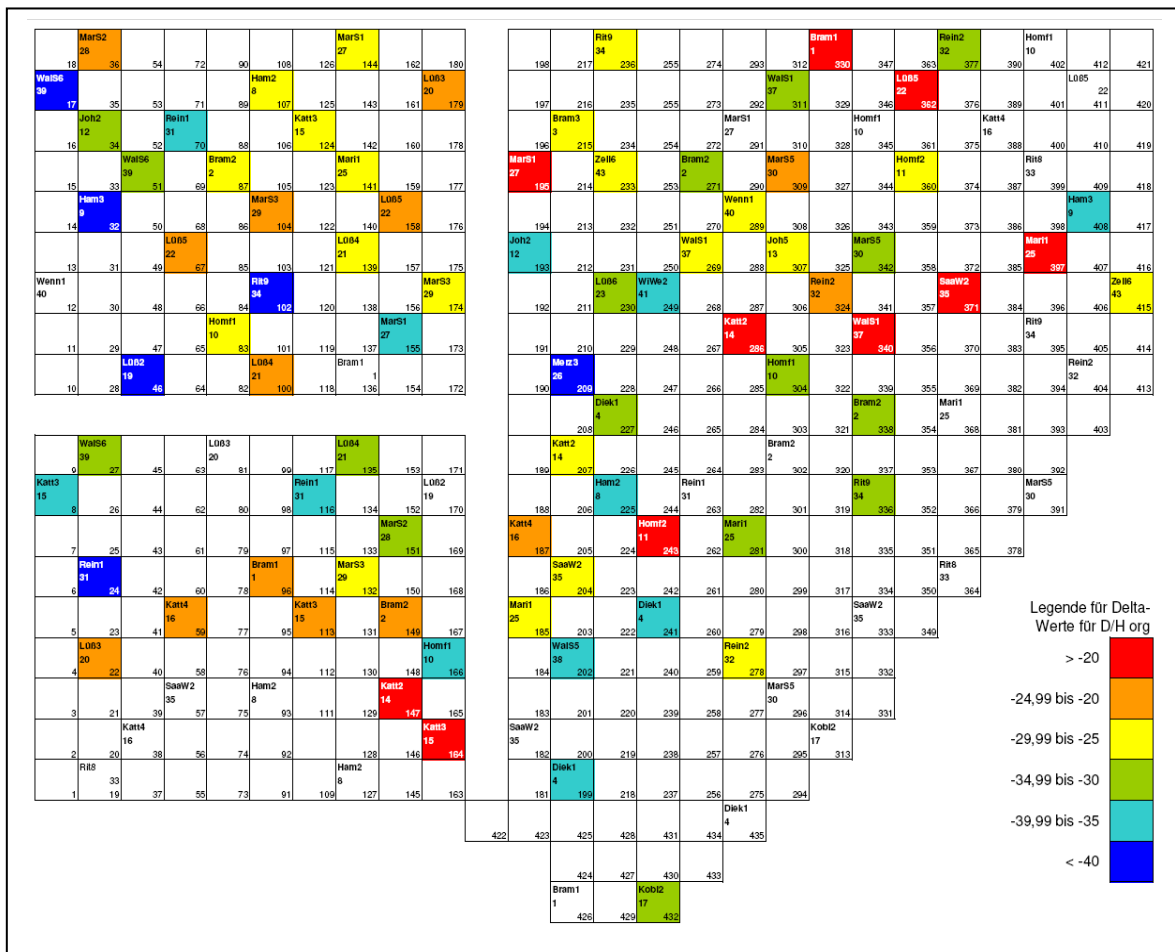


Abb. 6: Traubeneiche-Samenpflanzung: Verteilung der  $\delta$ -Werte von Wasserstoff ( $H/D_{org}$ ) für einzelbaumweise untersuchte Eicheln der Ernte 2005.

Farben repräsentieren Klassen von  $\delta$ -Werten gem. Legende; bei weißen Quadraten war keine Ernte möglich. Quadrate enthalten Platznummern (r. u.) und bezeichnen den Wuchsplatz (6 m x 6 m) für Einzelbäume. Nur auf Plätzen mit Klonbezeichnungen stehen Bäume.

Fig. 6: Seed orchard of sessile oak: Distribution of  $\delta$ -values of hydrogen ( $H/D_{org}$ ) of oak seed from single trees harvested in 2005.

Colours represent classes of  $\delta$ -values (see legend); at white marked squares no harvest was possible. Squares show numbers of planting positions of single trees at a distance of 6 m x 6 m. Only at positions marked with clone names trees are growing.



4.1.3 Reifejahre

Die Untersuchungen an Eicheln der Traubeneichen-Samenplantage (s. 4.1.2) aus dem Reifejahr 2005 wurden auch an Eicheln des Reifejahrs 2006 durchgeführt. Das Ergebnis ist unter Verwendung der gleichen Farb-signatur in Abbildung 7 dargestellt.

Die Unterschiede zwischen den Reifejahren sind enorm. Die arithmetischen Durchschnittswerte für alle Proben unterscheiden sich bei organischem Wasserstoff um 10,3 (2005:  $\delta = -28,0$  bei  $n = 81$ ; 2006:  $\delta = -17,7$  bei  $n = 80$ ). Betrachtet man nur die Bäume, für deren Absaaten aus beiden Jahren Werte für Wasserstoff vorliegen, so ergeben sich

ähnliche Werte (Unterschied: 9,8; 2005:  $\delta = 27,9$ ; 2006:  $\delta = 18,1$ ; jeweils  $n = 58$ ).

Bei anderen Elementen waren die Jahresunterschiede der  $\delta$ -Werte nicht so ausgeprägt. Bei Sauerstoff betragen sie aber immerhin auch -2,8 (bei allgemeiner Durchschnittsbildung von je 80 Messwerten) bzw. -2,6 (bei Beschränkung auf Pflanzplätze, für die aus beiden Jahren Messwerte vorliegen). Angesichts der engeren Schwankungsbreite der Sauerstoff- $\delta$ -Werte ist diese Größenordnung dennoch beachtlich.

Die auffallenden Unterschiede zwischen den beiden Reifejahren könnten durch veränderte Umweltbedingungen verursacht worden

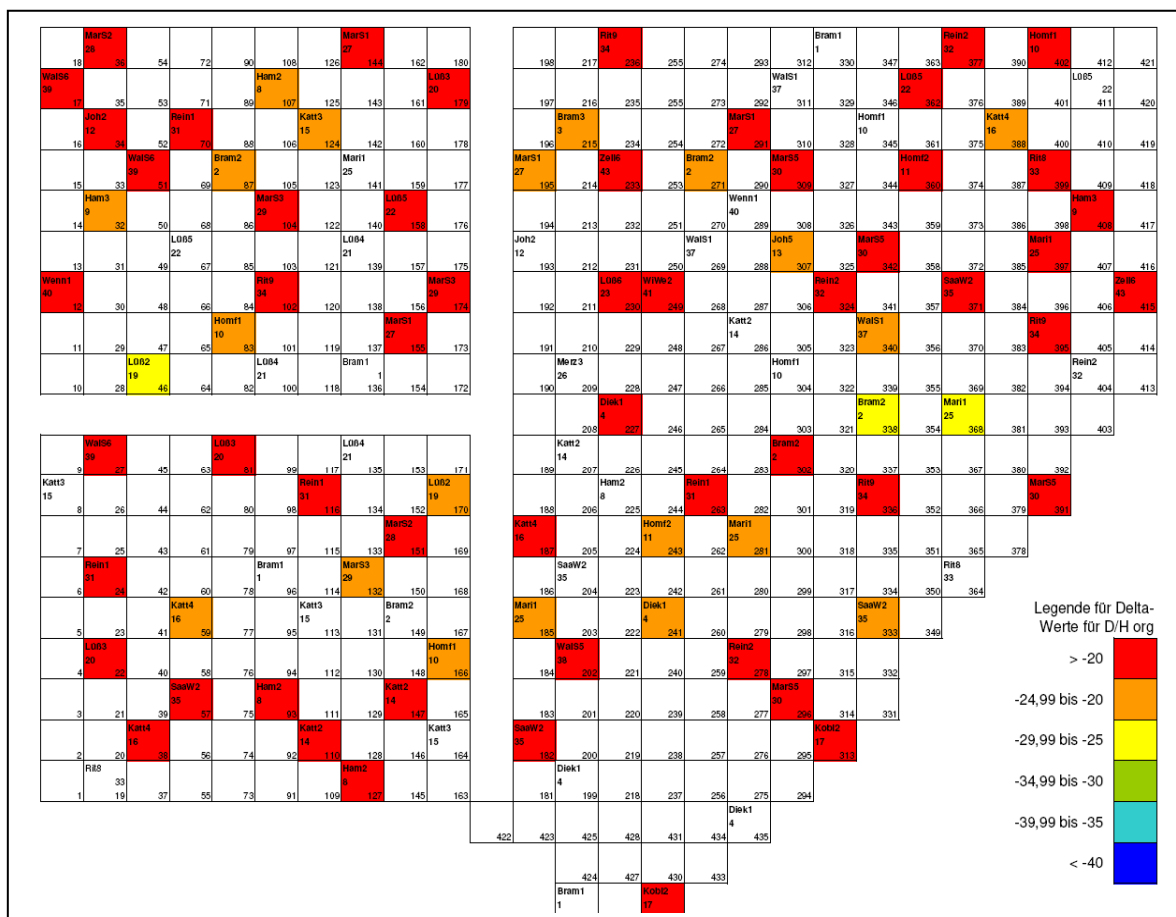


Abb. 7: Traubeneiche-Samenplantage: Verteilung der  $\delta$ -Werte von Wasserstoff (H/D<sub>org</sub>); wie Abb. 6, nur für das Erntejahr 2006.

Fig. 7: Seed orchard of sessile oak: Distribution of  $\delta$ -values of hydrogen (H/D<sub>org</sub>); as Fig. 6 for the year 2006.

sein, die für alle Bäume gleichermaßen wirken, so dass sich eine systematische Verschiebung ergeben müsste. Die für die Einzelbäume vorgenommenen Korrelationsberechnungen lassen aber keine derartigen Zusammenhänge erkennen. Am ehesten zeigt sich dies noch bei Stickstoff mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,55 und einem Bestimmtheitsmaß von 0,3. Für Stickstoff war auch ein räumliches Muster nachzuweisen, das sich in den beiden Jahren in seinen Grundzügen wiederholte. Abbil-

dung 8 zeigt die Grafiken der Korrelationen zwischen den beiden Erntejahren für Wasserstoff ( $n = 58$ ), Stickstoff ( $n = 61$ ), Sauerstoff ( $n = 57$ ) und Kohlenstoff ( $n = 62$ ).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Variation von Jahr zu Jahr zwar einen generellen Trend zeigt, die Veränderungen aber von Baum zu Baum sehr unterschiedlich sind. Prognosen von einem Jahr auf ein anderes sind daher nicht möglich.

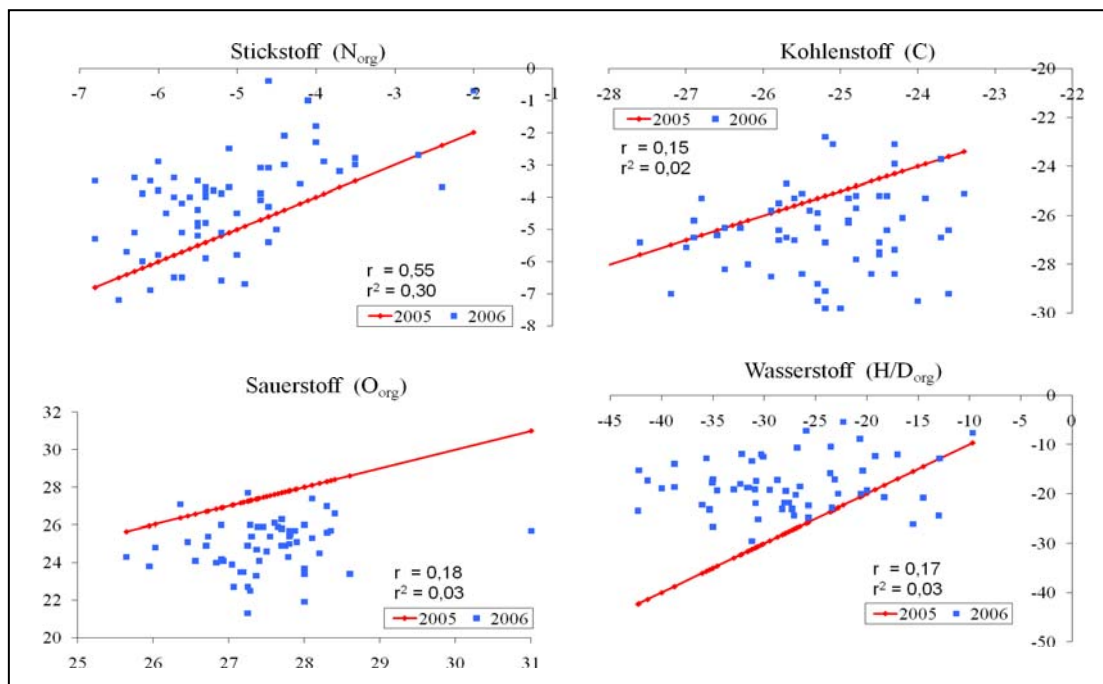


Abb. 8: Traubeneichen-Samenplantage: Korrelationen der  $\delta$ -Werte von Einzelbaumabsaaten zwischen den Erntejahren (2005 und 2006). Korrelationskoeffizient:  $r$ , Bestimmtheitsmaß:  $r^2$

Fig. 8: Seed orchard of sessile oak: correlations of the  $\delta$ -values of seed lots from single trees between the two years of harvest (2005 and 2006). Correlation coefficient:  $r$ , coefficient of determination:  $r^2$

## 4.2 Pflanzeigene Variation

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass die Stabilisotopen-Zusammensetzung ausschließlich durch abiotische Umweltbedingungen bestimmt wird, letztlich auf physikalische Effekte der Fraktionierung durch unterschiedliche Atomgewichte zurückgeht. Solche Fraktionierungseffekte treten aber in besonderem Maße auch bei physiologischen

Prozessen auf. So ist auch zu erklären, dass sich  $\delta$ -Werte in unterschiedlichen Pflanzenteilen derselben Pflanze unterscheiden. Auf einer Eschen-Samenplantage wurde dieser Effekt untersucht (s. 4.2.1).

Da physiologische Abläufe nicht nur durch Umweltbedingungen sondern auch durch die Genetik bestimmt werden, ist zumindest vorstellbar, dass zwischen unterschiedlichen

Genotypen auch typische Unterschiede bei den  $\delta$ -Werten erkennbar sind. Auch dieser mögliche Effekt wurde auf der Eschen-Samenplantage untersucht. Samenplantagen mit ihrer mehrfachen Wiederholung einzelner Genotypen eignen sich besonders für diese Fragestellung.

#### 4.2.1 *Verschiedene Gewebeteile*

Erwartungsgemäß zeigten sich Unterschiede zwischen verschiedenen, aber in der gleichen Vegetationsperiode gebildeten Pflanzenteilen (Samen, Blätter, einjährige Zweige) von Esche. Die  $\delta$ -Werte zeigten keine engen Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Gewebeteilen.

Bei Wasserstoff galt zwar für jedes untersuchte Individuum, dass  $\delta$  (Samen) >  $\delta$  (Zweig) >  $\delta$  (Blatt). Auch bei Sauerstoff gab es eine einheitliche, aber gegensätzliche Abweichungsrichtung:  $\delta$  (Blatt) >  $\delta$  (Zweig) >  $\delta$  (Samen). Insgesamt sind die Abweichung aber zu uneinheitlich, um aus dem  $\delta$ -Wert eines Gewebes hinreichend genau auf den  $\delta$ -Wert eines anderen Gewebes schließen zu können. Wenn Stabilisotopen zur Überprüfung einer (Einzelbaum-) Saatgutpartie eingesetzt werden sollen, so ist eine Referenzpartie des Saatgutes erforderlich. Ein Abgleich mit anderen  $\delta$ -Werten des Samenalters reicht nicht aus.

#### 4.2.2 *Verschiedene Klone und Ramets*

Wenn es genetische Einflüsse auf die Stabilisotopen-Zusammensetzung gibt, müssten sich die  $\delta$ -Werte des Saatgutes verschiedener Mutter-Genotypen (Klone) voneinander unterscheiden. In gewissem Umfang tun sie dies auch tatsächlich. Als Beispiel seien 6 Genotypen der Eschen-Samenplantage genannt, auf der die  $\delta$ -Werte für Sauerstoff z. T. sehr große Unterschiede zwischen den Klonen zeigten, von  $\delta(^{18}\text{O}) = 18,3$  für den Klon Vi 80 bis  $\delta(^{18}\text{O}) = 19,9$  für Vi 149.

Dennoch lassen sich diese Werte nicht als eindeutigen Beleg für genetische Effekte auf

die Stabilisotopen-Zusammensetzung werten, sondern können auch als Zufallsergebnisse bei der Mittelwertbildung für Klone angesehen werden. Der Grund dafür liegt in der generell sehr großen Streuung zwischen den verschiedenen Einzelbaumabsaaten, die sich auch in der großen Streuung der Einzelbaumabsaaten verschiedener Ramets (Wiederholungen desselben Klons an unterschiedlichen Pflanzplätzen) zeigen. Gleiche Genotypen produzieren Saatgut mit sehr unterschiedlichen  $\delta$ -Werten (Abb. 9), so dass ein genetischer Effekt aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden kann.

Die in Abbildung 9 dargestellten Ergebnisse für Sauerstoff einiger Klone zeigten im Vergleich zu anderen Elementen und auch zu Ergebnissen von anderen Samenplantagen die größten Mittelwertunterschiede. Berücksichtigt man diese anderen Werte, so erscheint ein genetischer Effekt eher unwahrscheinlich.

Andererseits muss aber bedacht werden, dass Ramets meist keine exakten Wiederholungen eines Klons sind, da sie auf Samenplantagen üblicherweise durch Pfropfungen entstanden sind. Damit ist zwar eine genotypische Identität der Kronen gewährleistet, die Unterlagen und damit die Wurzeln sind aber Sämlinge und damit genetisch unterschiedlich. Genetische Effekte auf die Stabilisotopen-Zusammensetzung könnten also dadurch verwischt werden, dass bereits im Wurzelbereich und in der Verwachsungszone unterschiedliche Fraktionierungsvorgänge stattfinden, die durch gleichartig verlaufende Fraktionierungsvorgänge in den (genetisch identischen) Kronen nicht mehr ausgeglichen werden. Hierzu wären Untersuchungen an genetisch vollständig identischen Pflanzen, z. B. Stecklingen erforderlich.

Diese Voraussetzung ist auf der Douglasien-Samenplantage „Danndorf“ erfüllt, da bei den dort verwendeten Stecklingen die gesamten Pflanzen einschließlich Wurzel genetisch identisch sind. Eine Ähnlichkeit der  $\delta$ -Werte bei Ramets desselben Klons ist auch

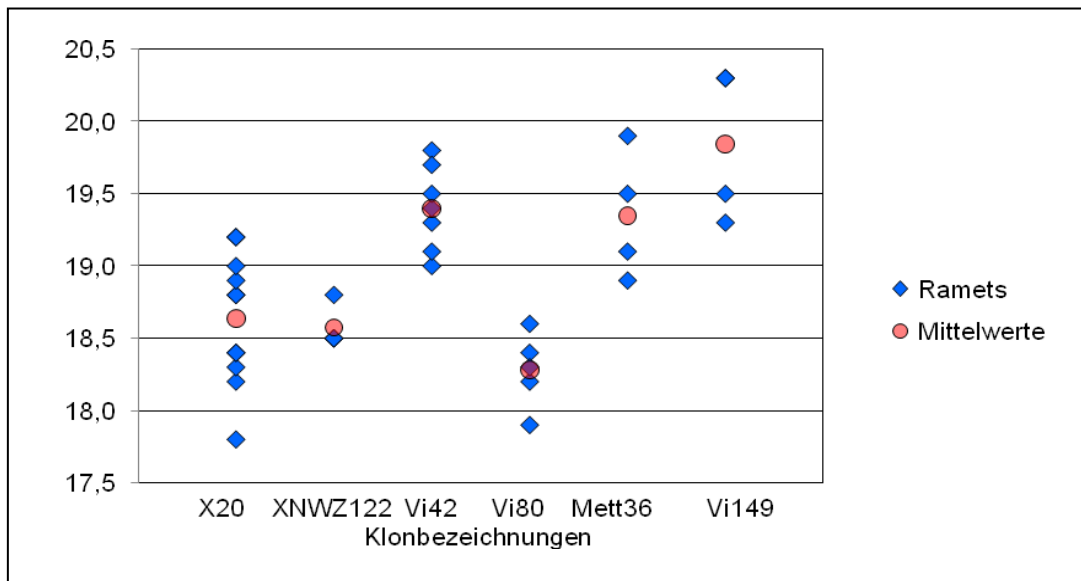


Abb. 9:  $\delta$ -Werte für organischen Sauerstoff ( $^{18}\text{O}_{\text{org}}$ ) von Einzelbaumabsaaten einer Eschen-Samenplantage des Reifejahrs 2006. Dargestellt sind Werte für einzelne Ramets von unterschiedlichen Pflanzplätzen sowie Mittelwerte für sechs Klone.

Fig. 9:  $\delta$ -values of organic oxygen ( $^{18}\text{O}_{\text{org}}$ ) of seed lots of single trees in a seed orchard of European ash harvested in 2006. The values of single ramets grown at different positions as well as the mean of six clones are shown.

hier nicht erkennbar. Allerdings muss bei dieser Aussage bedacht werden, dass die Anzahl (untersuchter) Wiederholungen hier relativ gering ist. Bei einer Erhöhung der Anzahl untersuchter Ramets könnte eventuell doch ein gewisser genetischer Einfluss erkannt werden. Für die Variation der Werte dürfte jedoch vor allem die Umweltvariation verantwortlich sein, ein kleiner genetischer Effekt kann nicht ausgeschlossen werden, die Messmethode mit ihrer extrem guten Reproduzierbarkeit (s. FÖRSTEL et al. 2008) kommt als Erklärung dagegen nicht in Frage.

## 5. Schlussfolgerungen und Ausblick

Da die Stabilisotopen-Zusammensetzung von Saatgut innerhalb einer Ernteeinheit sehr stark variiert, hängt sie auch stark von der Erntestrategie (welche Bäume in welchen Anteilen) und Nacherntebehandlung

(Herstellung der Samenplantagenmischung) ab. Daher sind sorgfältige Stichproben zur Charakterisierung eines Bestandes bzw. einer Bestandesabsaat nötig. Da zudem in unterschiedlichen Reifejahren eine unterschiedliche Beteiligung und Intensität der abblühenden und dann fruktifizierenden Partnern zu erwarten ist, müssen auch Stabilisotopen im Saatgut von Jahr zu Jahr sehr stark variieren. Damit reicht eine einmalige Charakterisierung von Saatgut nicht aus.

Die Abhängigkeit der  $\delta$ -Werte von der Art der Stichprobenahme erinnert somit stark an die Bedeutung der Stichprobenahme für genetische Untersuchungen. Bei Buche wurden derartige Abhängigkeiten von JANBEN (2000) beschrieben, und auch DOUNAVI (2000) weist die Bedeutung der kleinräumigen genetischen Variation innerhalb von Beständen nach.

Die Verwendung von Stabilisotopen für die Herkunftssicherung setzt damit die Integration in ein System mit Referenzproben für

jede einzelne Ernte voraus. Unter dieser Voraussetzung können Stabilisotopen im Bereich des Saatguts neben anderen Methoden (wie z. B. genetischen Markern) eingesetzt werden und in Verfahren der Herkunftssicherung integriert werden. Mit dieser Methode ergeben sich jedoch nur dann Verbesserungen wenn die Analysen insgesamt kostengünstiger gestaltet werden können.

ohne ein Referenzprobensystem erreichbar ist, reicht für Kontrollzwecke innerhalb Deutschlands nicht aus. Es wäre jedoch vorstellbar, dass auf europäischem Maßstab doch so deutliche geografische Muster erkennbar sind, dass großräumige Verbringungen von Saatgut nachgewiesen werden können. Dazu wäre allerdings erforderlich, dass entsprechende Datenbanken aufgebaut werden.

Die geografische Auflösung, die für forstliches Vermehrungsgut mit Stabilisotopen

## Danksagung

Besonderer Dank gilt Serge Havel für die technische Assistenz. Für die Förderung und Projektbetreuung danken wir dem Bundesministerium für Bildung und Forschung sowie dem Projektträger Jülich

## Literatur

- BMVEL [BUNDESMINISTERIUM FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ, ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT] (Hrsg.) (2003): Verwendung einheimischer Gehölze regionaler Herkunft für die freie Landschaft. Ein Beitrag zur Erhaltung und Förderung der biologischen Vielfalt. Bonn, 7 S.
- DOUNAVI, A. (2000): Familienstrukturen in Buchenbeständen (*Fagus sylvatica*). Forstwissenschaftliche Dissertation, Universität Göttingen. Niedersächsische Staats- und Universitätsbibliothek Göttingen. 142 S.
- FÖRSTEL, H. (2008): Natürliche Variation und Messung stabiler Isotopen. In: GEBHARDT, K. (Hrsg.): Herkunftskontrolle an forstlichem Vermehrungsgut mit Stabilisotopen und genetischen Methoden. Ergebnisse des BMBF-Verbundprojektes FKZ 330587 und des Symposiums „Herkunftskontrolle“ vom 07. und 08.02.2008 in Kassel. ISBN 978-3-00-024808-5. S. 17-36.
- FÖRSTEL, H.; BONER, M.; SOMMER, T.; ERVEN, C.; ZAHNEN, J.; GRIEBHAMMER, N.; SONNENBERG, A. (2008): Nutzung der natürlichen Variation stabiler Isotope in Holz als Fingerabdruck zur Überprüfung der Herkunftskontrolle. Forst u. Holz 63: 31-34.
- GEBHARDT, K. (Hrsg.) (2008): Herkunftskontrolle an forstlichem Vermehrungsgut mit Stabilisotopen und genetischen Methoden. Ergebnisse des BMBF-Verbundprojektes FKZ 330587 und des Symposiums „Herkunftskontrolle“ vom 07. und 08.02.2008 in Kassel. ISBN 978-3-00-024808-5. 146 S.
- JANBEN, A. (2000): Untersuchung zur genetischen Variation der Buche in Hessen: Der Einfluss von Ernteverfahren auf die genetische Struktur von Saatgut eines Buchenbestandes. Hessische Landesanstalt für Forsteinrichtung, Waldforschung und Waldökologie, Forschungsbericht, Band 27.
- JANBEN, A. (2008): Bedeutung der Herkunftswahl bei forstlichem Vermehrungsgut. In: GEBHARDT, K. (Hrsg.): Herkunftskontrolle an forstlichem Vermehrungsgut mit Stabilisotopen und genetischen Methoden. Ergebnisse des BMBF-Verbundprojektes FKZ 330587 und

- des Symposiums „Herkunftskontrolle“ vom 07. und 08.02.2008 in Kassel. ISBN 978-3-00-024808-5. S. 7-15.
- KLEINSCHMIT, W. (2002): Herkunftsfrage aus Sicht der Betriebswirtschaft. In: Nordwestdeutscher Forstverein (Hrsg.): Jahrestagung 2002 in Hann. Münden: 28-33.
- KONNERT, M.; CREMER, E.; HUSSENDÖRFER, E.; DOUNAVI, A.; WIMMER, T. (2004a): Isoenzymuntersuchungen bei Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) - Anleitungen zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. Online-Version der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Forstliche Genressourcen und Forstsaatgutrecht“, [www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/douglasie-arbeitsanleitung.pdf](http://www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/douglasie-arbeitsanleitung.pdf)
- KONNERT, M., FROMM, M.; WIMMER, T. (2004b): Anleitung für Isoenzymuntersuchungen bei Stieleiche (*Quercus robur*) und Traubeneiche (*Quercus petraea*) - Anleitungen zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. Online-Version der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Forstliche Genressourcen und Forstsaatgutrecht“, [www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/stieleiche-arbeitsanleitung.pdf](http://www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/stieleiche-arbeitsanleitung.pdf)
- KONNERT, M.; SCHMIDT, J.; FROMM, M.; HUSSENDÖRFER, E.; DOUNAVI, A.; HAAS, R.; LEHRMANN, C.; WIMMER, T. (2004c): Isoenzymuntersuchungen bei Esche (*Fraxinus excelsior* L.) - Anleitungen zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. Online-Version der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Forstliche Genressourcen und Forstsaatgutrecht“, [www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/esche-arbeitsanleitung.pdf](http://www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/esche-arbeitsanleitung.pdf)
- KONNERT, M.; CREMER, E.; FÖRSTEL, H. (2008): Umsetzung und Verbesserung des ZüF-Verfahrens mit Hilfe genetischer Analysen und der Stabilisotopenmethode am Beispiel von Bergahorn, Fichte und Weißtanne. In: Gebhardt, K. (Hrsg.) Herkunftskontrolle an forstlichem Vermehrungsgut mit Stabilisotopen und genetischen Methoden. Ergebnisse des BMBF-Verbundprojektes FKZ 330587 und des Symposiums „Herkunftskontrolle“ vom 07. und 08.02.2008 in Kassel. ISBN 978-3-00-024808-5. S. 85-100.
- WEZEL, G. (2008): Sechs Jahre ZÜF-Verfahren. Forstpflanzen mit überprüfbarer Herkunft. AFZ-DerWald 12: 660-663.
- SEITZ, B.; KOWARIK, I. (2003): Perspektiven für die Verwendung gebietseigener Gehölze. NEOBIOTA 2: 3-26.
- SEITZ, B.; JÜRGENS, A.; KOWARIK, I. (2007): Erhaltung genetischer Vielfalt: Kriterien für die Zertifizierung regionalen Saat- und Pflanzguts. BfN-Skripten 208, 48 S.

#### **Anschrift der Autoren:**

Dr. WILFRIED STEINER; DR. BERNHARD HOSIUS  
Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldgenressourcen  
Prof.-Oelkers-Str. 6, 34346 Hann. Münden, Deutschland

Dr. BERNHARD HOSIUS  
Fa. ISOGEN im Institut für Forstgenetik  
Büsgenweg 2, 37077 Göttingen, Deutschland