

Herkunftskontrolle mittels genetischer Marker am Beispiel Weißtanne

Im Klimawandel spielt die Weißtanne eine wichtige Rolle und wird auf geeigneten Standorten als eine mögliche Ersatzbaumart bewertet [2]. Herkünfte aus Rumänien (wärmeres Klima als in Bayern) könnten als Ergänzung und zur Anreicherung des heimischen Genpools im Klimawandel für unterschiedliche Regionen Bayerns von Interesse sein. Dieses Vorgehen gilt als ein möglicher Lösungsansatz, um den Genpool der residenten Populationen anzureichern und eine lokale Anpassung an den Klimawandel zu fördern [3].

TEXT: MUHIDIN ŠEHO, BARBARA FUSSI, DARIUS KAVALIAUSKAS, MARIA TEODOSIU, ALWIN JANSSEN

Die Weißtanne bevorzugt ozeanische bis subkontinentale Klimaverhältnisse. Optimale Wuchsbedingungen findet sie auf feuchten Böden in wenig frostgefährdeten und sommerkühlen Lagen mit mindestens drei Monaten Vegetationszeit. Sie meidet das trocken-warme Klima des Flachlandes. Große Teile Bayerns liegen heute im Weißtannen-Optimum. Die warmen Regionen Bayerns werden bei weiterer Temperaturerhöhung ungeeignet für die Weißtanne [1]. Der Bedarf an Weißtannen-Saatgut hat in den letzten Jahren kontinuierlich zugenommen und wird sehr wahrscheinlich auf hohem Niveau bleiben. Bereits heute gibt es in einigen Regionen Bayerns Versorgungsengpässe mit hochwertigem Vermehrungsgut der Weißtanne.

Genetische Analysen zur Herkunfts- kontrolle und zur Abschätzung des Anpassungspotenzials sollten durchgeführt werden, bevor Vermehrungsgut empfohlen und eingebracht wird. Aus verschiedenen Studien ist bereits bekannt, dass der Schwerpunkt der Vielfalt bei den europäischen und mediterranen Tannenarten sowie dass die genetische Vielfalt innerhalb der Weißtanne im Süden Europas liegt [4, 5]. Durch die Rückwanderung über unterschiedliche Wege (Ost-/West-Alpen) nach der letzten Eiszeit ist die Herausbildung der aktuellen Muster in Bayern/ Deutschland (Abb. 2) begründet. Aufgrund der Bayerischen Herkunftsempfehlungen war es bis Ende 2018 möglich, Saatgut der Samenplantagen Avrig und Neamt (SPL Garcina) als Ersatzherkunft für die Herkunftsgebiete 827 06 und 827 10, Teil B nach Deutschland zu



Abb. 1: Zapfen der Weißtanne aus einer Samenplantage

importieren und Pflanzmaterial zu produzieren. Es ist geplant, in den neuen Herkunfts- und Verwendungsempfehlungen wiederum Samenplantagen aus Rumänien als „klimaplastische Herkünfte“ zur Verwendung in Bayern zu empfehlen. Dabei werden die Ergebnisse der bayerischen Weißtannen-Herkunftsversuche berücksichtigt. Auf fünf Versuchsstandorten in Bayern waren eine Herkunft aus den südlichen Karpaten (Avrig) und eine Herkunft aus den nördlichen Karpaten (Lapus) überdurchschnittlich [6]. Neben der Samenplantage Avrig sind in Rumänien weitere neun Samenplantagen zugelassen, die nach einer erfolgreichen Bewertung in die Verwendungsempfehlungen aufgenommen werden können. 2015 erfolgte die bundesweite Anlage von Weißtannenherkunftsversuchen, in denen zehn rumänische Herkünfte angebaut wurden. Vermehrungsgut von drei Herkünften wurde dabei aus Samenplantagen (Avrig, Baia Sprie und Sfantul Gheorghie) gewonnen.

Wie wurde vorgegangen?

Die Weißtanne hat ein großes natürliches Verbreitungsgebiet in Europa und hat nach der letzten Eiszeit viele Standorte erfolgreich besiedelt. Daneben erfolgte vielerorts eine Einbringung durch den Menschen. Ein wichtiges Refugium während der Eiszeit war der Balkan (Abb. 2). Aus diesem erfolgte die Wiederbesiedlung über die Dinarischen Alpen und die Karpaten. Die Tannenwälder Bayerns wurden hauptsächlich über die Ost-Alpen besie-

Schneller ÜBERBLICK

- » Die Nachfrage nach hochwertigem und herkunftssicherem Saatgut der Weißtanne für den Waldumbau steigt
- » Deshalb wird die Saatgutversorgung mit klimaplastischen Herkünften der Weißtanne aus anderen Ländern Europas erweitert
- » Die Herkunftskontrolle wird mittels genetischer Analysen durchgeführt
- » Es erfolgt eine eindeutige Zuordnung der Samen zu den Erntebäumen

delt, aus Wäldern, die ursprünglich in Mittelitalien die Eiszeiten überdauert haben. Die Wiederbesiedlung der Karpaten entstammt hauptsächlich den Refugien des südlichen Balkans.

Die bisherige Zusammenarbeit zwischen dem Bayerischen Amt für Waldgenetik (AWG) und dem National Institute for Research and Development in Forestry (Rumänien) wurde durch die Bayerische Staatskanzlei finanziert und bildete die Grundlage für eine gemeinsame Publikation [7]. Die Ergebnisse dieser Studie belegen in allen 36 untersuchten Populationen eine hohe genetische Vielfalt ($H_e = 0,779$ bis $0,834$ und $A_r = 11,61$ bis $14,93$). Die Bayes'sche Clusteranalyse ergab, dass es zwei genetisch unterschiedliche Gruppen für Weißtannenpopulationen gibt: einen größeren Cluster, der die Karpaten des inneren Ostens, die Karpaten der Krümmung, die Südkarpaten und das Banatgebirge umfasst, und den zweiten Cluster, der den größten Teil der Populationen der Nord- und äußeren Ostkarpaten abdeckt. Die eindeutige genetische Differenzierung der Weißtannenpopulationen führt zur Ausweisung von zwei Herkunftsregionen, die bei der Nutzung berücksichtigt werden sollten.

Im Rahmen eines Gastaufenthalts von Dr. Maria Teodosiu (kofinanziert vom rumänischen Ministerium für Forschung und Innovation im Rahmen des Projekts PN19070305) wurde die Samenplantage Avrig genetisch charakterisiert. Die Plantage stockt in den südlichen Karpaten auf 615 m ü. NN. 1979 wurde sie auf einer Gesamtfläche von 5 ha begründet und beinhaltet 39 Klone, die mehrmals wiederholt und zufällig verteilt angepflanzt wurden. Die Wiederholungen eines Klons werden als „Ramets“ bezeichnet. Als Vergleichspopulation wurden die Klone der Samenplantage Sfântul Gheorghe (SP_SG) verwendet. Diese Samenplantage wurde 1981 mit 26 Klonen auf einer Fläche von 10 ha etabliert. Die Plusbäume wurden dabei in der gleichen Herkunftsregion wie bei der Samenplantage Avrig gewonnen.

Das verwendete Vermehrungsgut wurde auf dem Markt gekauft und stammte aus der Samenplantage Avrig in Rumänien. Für diesen Vergleich wurden 96 zufällig ausgewählte Samen verwendet. Die daraus extrahierte DNA wurde danach in einer Polymerasekettenreaktion (PCR) für die geni-

„Insgesamt ist die genetische Vielfalt in beiden rumänischen Weißtannen-Samenplantagen hoch.“

MUHIDIN ŠEHO

schen Analysen mittels 15 hochvariabler DNA-Marker (Kernmikrosatelliten) verwendet. Ausgehend von den für die Einzelbäume bestimmten Multilocus-Genotypen wurden zuerst die Allelhäufigkeiten und daraus dann Parameter berechnet, die die genetische Variation innerhalb der Vorkommen beschreiben. Genetische Indizes wurden mit dem Programm GenAlex Version 6.5 [8] berechnet. Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Samen wurden mit dem Programm COLONY berechnet [11] und Voll- und Halbgeschwister identifiziert und möglichen Eltern zugeordnet.

Was hat die Untersuchung ergeben?

Zuerst erfolgte ein Vergleich der genetischen Vielfalt der rumänischen Samenplantagen (SP_Avrig und SP_SG). Die Anzahl der Allele (N_a) schwankt zwischen 9,38 (SP_Avrig) und 8,15 (SP_SG) mit einem Gesamtdurchschnitt von $N_a = 8,77$. Die Anzahl der effektiven Allele (N_e) liegt zwischen 4,50 (SP_Avrig) und 4,54 (SP_SG) mit einem Gesamtmittelwert von $N_e = 4,52$. Die Heterozygotie (H_e) war in beiden Samenplantagen hoch (Mittelwert = 0,602). Die allelische Vielfalt (A_r) schwankte zwischen 8,34 (SP_Avrig) und 8,07 (SP_SG) mit einem Gesamtmittelwert von $A_r = 8,21$. Der Inzuchtkoeffizient (F_{is})

variierte von -0,017 (SP_Avrig) bis 0,043 (SP_SG) (Tab. 1).

Insgesamt ist die genetische Vielfalt in beiden rumänischen Weißtannen-Samenplantagen hoch. Der Vergleich mit den untersuchten Beständen aus der Studie in Rumänien [7] zeigt, dass die genetische Vielfalt vergleichbar ist mit den Samenplantagen Avrig und SG (mittlere Anzahl der Allele über alle 36 Bestände mit 14,02, A_r 13,51, beobachtete Heterozygotie 0,80 und erwartete Heterozygotie 0,83). In der Studie wurden sieben der 15 hier verwendeten Kern-Mikrosatelliten (nSSR) angewandt.

Die Zuordnung basiert auf den genetischen Abständen [9] zwischen der Samenplantage Sfântul Gheorghe (SP_SG) und der Samenplantage Avrig (SP_Avrig) aus Rumänien sowie Samen der Samenplantage Avrig (Sa_Avrig). Das Ergebnis zeigt eine eindeutige Zuordnung der Samen zu der Samenplantage Avrig. Wichtig zu unterstreichen ist, dass die Samen aus der Samenplantage Avrig zu 99,98 % mit den Klonen der Samenplantage Avrig gruppiert werden. Es wird deutlich, dass der größte genetische Unterschied zwischen der Samenplantage Sfântul Gheorghe (SP_SG) und den anderen beiden Kollektiven liegt. Bei der Elternchaftsanalyse des Saatguts aus der Samenplantage Avrig (SP_Avrig) zeigt sich ein weitgehend mit den Erwartungen übereinstimmendes Ergebnis, wobei der überwiegende Teil der Nachkommen aus Bestäubungen innerhalb der Plantage stammt. Die Variabilität der verwendeten Kern-DNA-Mikrosatelliten ermöglichte die Bestimmung der Eltern. Bei 84 Samen (87,5 %) stammten Mutter- und Vaterbäume (also beide Eltern) eindeutig aus der Samenplantage Avrig. Von weiteren 11 Samen (12,5 %) stammte zumindest ein Elternteil aus der Plantage. Damit stammten nur bei einem Samen der Zufallsstichprobe (96 Samen) die Eltern nicht aus der Plantage. Der Selbstungsanteil war sehr gering.

Genetische Variation

Tab. 1: Parameter der genetischen Variation der rumänischen Weißtannen-Samenplantagen

| Vorkommen | N | N_a | N_e | A_r | Hb | H_e | uHe | F_{is} |
|-------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| SP_Avrig | 39 | 9,38 | 4,50 | 8,34 | 0,607 | 0,593 | 0,601 | -0,017 |
| SP_SG | 26 | 8,15 | 4,54 | 8,07 | 0,601 | 0,611 | 0,623 | 0,043 |
| Mittelwert gesamt | 32 | 8,77 | 4,52 | 8,21 | 0,604 | 0,602 | 0,612 | 0,013 |

N = Probenzahl; N_a = mittlere Anzahl verschiedener Allele; N_e = mittlere Anzahl von effektiven Allelen; A_r = mittlere allelische Vielfalt (basierend auf einer Stichprobengröße von 26 Individuen); Hb = beobachtete Heterozygotie; H_e = erwartete Heterozygotie; uHe = unverzerrte erwartete Heterozygotie; F_{is} = Inzuchtkoeffizient

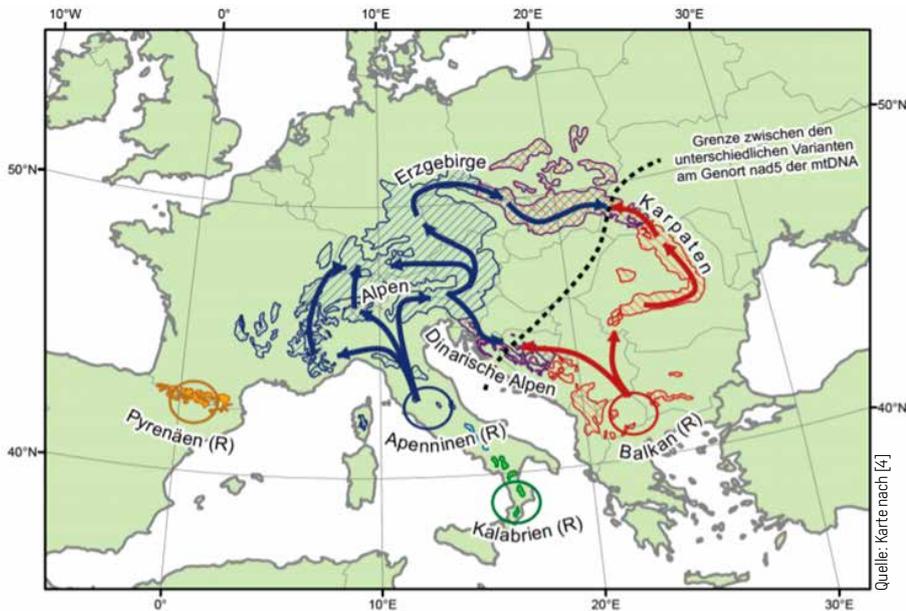


Abb. 2: Phylogenetische Gruppen der Rückwanderungswege der Weißtanne (R: Refugialgebiet)

Die Studie zeigt, wie genau der Ursprung des Saatguts identifiziert werden kann, wenn die DNA-Fingerabdrücke der einzelnen Klone von Samenplantagen verfügbar sind. Darüber hinaus können mit bestehenden Elternschaftsanalyse-Programmen wie COLONY Mutterbäume jeden Samens identifiziert und der Grad des Polleneintrags überprüft werden. Die repräsentative Verteilung der Klone auf der Samenplantage sowie eine vollständige Beerntung der Samenplantage haben eine sehr hohe Bedeutung und sollten berücksichtigt werden.

Was lässt sich aus den Ergebnissen schließen?

Der Waldumbau wird in ganz Europa diskutiert und von vielen Ländern bereits umgesetzt. Entscheidend für den Anbau-erfolg und die Stabilisierung der Waldbestände ist die Verwendung von geeigneten und standortgerechten Baumarten und Herkünften. Der Bedarf an hochwertigem und herkunftssicherem Vermehrungsgut, das am Anfang der Produktionskette steht, ist sehr hoch und kann bei vielen Baumarten nicht befriedigt werden. Bei allen genutzten Saatgutquellen sollte die Anzahl der zu beerntenden Bäume hoch sein. Bei allen windbestäubten Baumarten werden mindestens

100 Bäume ohne Fragmentierung empfohlen [10]. Neben der Herkunftssicherheit und der Beerntung ist die genetische Ausstattung (Struktur, Vielfalt und Diversität) der Bestände ein wichtiger Maßstab für die zukünftige Anpassungsfähigkeit und sollte vor dem Anbau bekannt sein. Ein Überblick der genetischen Ausstattung von bayerischen Beständen der Weißtanne wurde 2011 durch Konnerth und Schirmer [5] gegeben.

Zurzeit erfolgt die genetische Charakterisierung der bayerischen Samenplantagen und der möglichen Generhaltungsbestände der Weißtanne. Besonders bei der Gewinnung und Einbringung von Vermehrungsgut aus Populationen, die als klimaplastisch gelten und außerhalb Bayerns liegen, sollten diese Parameter bekannt und überprüfbar sein. Wenn klimaplastische Herkünfte heimischer Hauptbaumarten zur Anreicherung des Genpools genutzt werden und dadurch zu einer Erhöhung der Anpassungsfähigkeit (assisted gene flow) führen, sollte die genetische Ausstattung detailliert analysiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Herkunftskontrolle bei der Weißtanne mittels genetischer Analysen vorgenommen. In unterschiedlichen Untersuchungen wurden eine hohe genetische Vielfalt sowie ein überdurchschnittliches Wachstum der rumänischen Herkünfte belegt. Für die zukünftige Verwendung muss auch eine hohe Herkunftssicherheit gewährleistet

werden. Die Saatgutprüfung am AWG stellte eine hohe Keimfähigkeit der vorliegenden Samenpartie fest, was als erster Hinweis für qualitativ hochwertiges Vermehrungsgut gewertet werden kann. Durch die Anwendung von forstgenetischen Labormethoden konnte eine hohe Übereinstimmung der Samenpartie mit den Genotypen der Samenplantage Avrig nachgewiesen werden. Von den 96 analysierten Samen konnten 95 den Genotypen zugeordnet werden, die auf der Samenplantage zu finden sind. Die angewandten Analyseverfahren und -methoden können für die Überprüfung weiterer Samenplantagen dieser Baumart uneingeschränkt verwendet werden. Im Rahmen der weiteren Forschungsoperation ist geplant, mindestens fünf weitere rumänische Samenplantagen genetisch zu inventarisieren und damit die Überprüfbarkeit zu ermöglichen. Des Weiteren sollte die genetische Charakterisierung von weiteren deutschen Samenplantagen erfolgen, die zukünftig genutzt werden sollen.

Das im Rahmen dieser Arbeit vorgestellte Vorgehen sollte für weitere Baumarten getestet und etabliert werden. Damit kann die Herkunftssicherheit bei der Nutzung alternativer Herkünfte heimischer und nicht heimischer Baumarten gesteigert werden.



Dr. Muhidin Šeho

Muhidin.Seho@awg.bayern.de

ist Leiter des Sachgebiets „Erhalten und Nutzen forstlicher Genressourcen“ beim Bayerischen Amt für Waldgenetik (AWG). **Dr. Barbara Fussi** ist Leiterin des Sachgebiets „Angewandte forstgenetische Forschung“. **Dr. Darius Kavaliauskas** ist Mitarbeiter im Sachgebiet „Erhalten und Nutzen forstlicher Genressourcen“. **Dr. Maria Teodosiu** ist Wissenschaftlerin am National Institute for Research and Development in Forestry (Rumänien). **Dr. Alwin Janßen** ist Leiter des AWG.

Literaturhinweise:

Download des Literaturverzeichnisses unter: www.forstpraxis.de/downloads