Schlussbericht
zum Verbundvorhaben

Thema:

RubraSelect – Auslese und Charakterisierung von hochwertigem Vermehrungsgut bei Roteiche (*Quercus rubra* L.) unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz

Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1: Georg-August-Universität Göttingen, Forstgenetik (UGOE-FG)

Teilvorhaben 2: Georg-August-Universität Göttingen, Biochemie der Pflanze (UGOE-BP)

Teilvorhaben 4: Forstliche Versuchs-und Forschungsanstalt BW (FVA-BW)

Teilvorhaben 5: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA)

Teilvorhaben 6: Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde (LFE)

Teilvorhaben 7: Staatsbetrieb Sachsenforst (SBS)

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 2220WK03A4

Teilvorhaben 2: 2220WK03B4

Teilvorhaben 4: 2220WK03D4

Teilvorhaben 5: 2220WK03E4

Teilvorhaben 6: 2220WK03F4

Teilvorhaben 7: 2220WK03G4

Waldklimafonds

Gefördert durch: Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

Gefördert durch: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz (BMUV) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger für den Waldklimafonds unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Laufzeit:

01.07.2021 bis 30.06.2025

Monat der Erstellung:

07/2025

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz (BMUV) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger für den Waldklimafonds unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

SCHLUSSBERICHT

I. Ziele

1. Aufgabenstellung

Im Verbundvorhaben RubraSelect erfolgt die Auslese und Charakterisierung von hochwertigem und klimafittem Vermehrungsgut der Roteiche. Das Vorhaben resultiert aus dem Zusammenschluss zweier Teilverbünde, im Weiteren wie folgt genannt:

- Teilverbund A: „Charakterisierung der genetischen Basis von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche“ und
- Teilverbund B: „Auslese und Züchtung zur Erzeugung von hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut der Roteiche (*Quercus rubra* L.)“.

Teilverbund A befasst sich mit der genetischen Basis von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei der Roteiche. In diesem Vorhaben sollen unter anderem Metabolite und Transkripte als Marker für Trockenstresstoleranz identifiziert und verifiziert werden, die Anpassungsprozesse regulieren und ermöglichen. Mithilfe einer genomweiten Assoziationsstudie sollen Genmarker für Trockenstresstoleranz entwickelt werden. Zudem ist im Projekt eine Plusbaumauslese in den Flächen eines Herkunftsversuchs geplant. Die Auswahl der Plusbäume soll basierend auf Qualitäts-, Wachstums-, Vitalitätsmerkmalen und genetischen Markern (SNPs) stattfinden (Tabelle 1).

Teilverbund B soll die Grundlagen für die zukünftige Versorgung des Marktes mit hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut der Roteiche für das ganze Bundesgebiet schaffen. Das Vorhaben des Teilverbunds B widmet sich einerseits der Auswahl und Vermehrung von Plusbäumen (herausragenden Phänotypen) und andererseits der Untersuchung ihrer Herkunft und genetischen Vielfalt sowie ihres Anpassungspotenzials. Bei der Überprüfung des Anpassungspotenzials sollen Biomarker bei den Plusbäumen angewendet werden. Ferner werden die Nachkommen auf ihre Reaktion gegenüber Trockenheit hin geprüft, um so die genetische Veranlagung der Plusbäume hinsichtlich Trockenstresstoleranz zu bewerten (Tabelle 1).

Im Verbundvorhaben RubraSelect werden die Arbeiten beider Teilverbünde koordiniert stattfinden. Eine gemeinsame Koordination wird insbesondere bei der Plusbaumauslese, bei der physiologischen Charakterisierung der Trockenstresstoleranz so wie bei der Anwendung von genetischen Markern geplant.

Tabelle 1: Meilensteinplanung

TV A - Meilensteine		
Nr.	Name	Verantwortlicher Partner
M1	Phänotypische Charakterisierung im Gewächshausversuch und im Labor	UGOE-FG
M2	Probennahme für genetische und phänotypische Charakterisierung sowie für Metabolom- und Transkriptomanalysen	UGOE-FG
M3	Ungerichtete Metabolom- und Transkriptomanalysen zur Identifizierung trockenstressassoziierter Marker	UGOE-BP
M4	DNA-Isolierung, Quantifizierung und Qualitätskontrolle	UGOE-FG
M5	RADseq, Datenauswertung und genomweite Assoziationskartierung	UGOE-FG
M6	Gerichtete Analysen ausgewählter trockenstressassoziierte Metabolit- und Transkript-Marker abgeschlossen	UGOE-BP
M8	SNP-Analysen für signifikant assoziierte Gene im Gewächshaus- und Herkunftsversuch	UGOE-FG

TV A - Meilensteine		
Nr.	Name	Verantwortlicher Partner
M11	Praxisempfehlungen erarbeitet. Publikation der Ergebnisse in praxisnahen deutschsprachigen und internationalen Fachzeitschriften begonnen	UGOE-FG; UGOE-BP

TV B - Meilensteine		
Nr.	Name	Verantwortlicher Partner
M1	Abschließen der Massenauslese	FVA-BW; NW-FVA; LFE; SBS
M2	Festlegung des Versuchsdesigns für die Nachkommenschaftsprüfungen	FVA-BW; NW-FVA
M3	Abschließen der Saatguternte	FVA-BW; NW-FVA; LFE; SBS
M4	Ergebnisse der Phänotypisierung aus dem ersten Beprobungsjahr	LFE
M5	Molekulargenetische Untersuchungen im Labor	FVA-BW; SBS
M6	Ergebnisse Phänotypisierung aus dem zweiten Beprobungsjahr und abschließende Bewertung beider Untersuchungsjahre	LFE
M7	Auspflanzung der Versuchsflächen	FVA-BW; NW-FVA; LFE; SBS

2. Stand der Technik

Teilverbund A

Die im Nordosten der USA einheimische Roteiche (*Quercus rubra* L.) wurde bereits Mitte des 18. Jahrhunderts nach Deutschland eingeführt und in botanischen Gärten angepflanzt (Stratmann 1988). Forstlich wurde sie zum ersten Mal Ende des 18. Jahrhunderts angebaut, aber ein verstärkter Anbau erfolgte erst um 1880 und Mitte des 20. Jahrhunderts (Bauer 1954, Nagel 2015). Aufgrund ihrer breiten Standortamplitude und hohen Widerstands- sowie Anpassungsfähigkeit kann sie durch gezielte Integration als Neben- oder Mischbaumart zur Erhöhung der Resilienz heimischer Wälder beitragen. Diese Eigenschaften, besonders relevant im Klimawandel, führten zu ihrer Auszeichnung als Baum des Jahres 2025 durch die „Baum des Jahres – Dr. Silvius Wodarz Stiftung“.

Im Rahmen des von der FNR geförderten Projektes „Genetische und waldbauliche Untersuchungen zur Bestimmung des Ursprungs, des Wachstums und der Stammqualität von Roteichen (*Quercus rubra*) in Deutschland“ untersuchten wir Wachstumsmerkmale und genetische Variation von deutschen Roteichenbeständen an neutralen (nicht-adaptiven) Kern- und Chloroplasten- DNA-Markern (06/2016 – 05/2020, Referenz-Nr.: 22023314). Es zeigte sich, dass die deutschen Bestände im Vergleich zu den natürlichen Nordamerikanischen Populationen eine eingeschränkte genetische Variation an maternal vererbten Chloroplasten-DNA-Markern und an Kernmarkern zeigen (Pettenkofer et al. 2019a, Pettenkofer et al. 2019b, Pettenkofer et al. 2020). Die genetischen und phänotypischen Datensätze werden jetzt zusammengeführt, um zu analysieren, ob es einen Zusammenhang zwischen Herkunft und genetischer Variation einerseits und Wuchsleistung andererseits gibt. In einer ersten Untersuchung in zwei Roteichenherkunftsversuchen und vier bewirtschafteten Beständen zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften sowohl an kernkodierten Mikrosatelliten-Markern als auch für Merkmale der Bestandsqualität wie z.B. für Kronenansatzhöhe und Kronen- und Stammform (Kempkes 2013, Pettenkofer et al. 2020).

Zudem wurden sowohl neutrale als auch gen-basierte Mikrosatellitenmarker für die Roteiche entwickelt (Lind and Gailing 2013, Sullivan et al. 2013, Lind-Riehl et al. 2014, Collins et al. 2015, Sullivan et al. 2016, Lind-Riehl and Gailing 2017, Müller and Gailing 2018; Götz and Gailing 2022, Götz, Rajora, and Gailing 2022). Die Verfügbarkeit annotierter Transkriptome und einer annotierten Genomsequenz für *Q. rubra* (Kapoor et al. 2023) kann für das „Assembly" der Restriction Site Associated DNA (RAD)-Sequenzen und die Annotierung der mit der Merkmalsvariation assoziierten Gene genutzt werden.

Mit Hilfe von Metabolom- und Transkriptom-Analysen kann der Einfluss abiotischer und biotischer Umweltfaktoren auf einen Organismus sehr genau beschrieben werden. Auch Variationen des Genotyps einer Spezies werden auf der Ebene des Metaboloms und Transkriptoms präzise abgebildet. Ein verändertes Profil von Metaboliten und Transkripten zeigen Pflanzen dementsprechend auch in Folge von Trockenstress, einem wesentlichen abiotischen Stressfaktor als Folge des Klimawandels. Die Anpassung an Wassermangel wird bei Pflanzen über das Hormon Abscisinsäure vermittelt und führt einerseits zu einer Repression der Photosynthese und andererseits zu einer Anreicherung von Zuckern, kompatiblen Soluten (z. B. Prolin) und Schutzproteinen (Schraml and Rennenberg 2002, Kersten et al. 2013). Auch die Verstärkung der Wachsschicht auf der Blattoberfläche kann als effizienter Verdunstungsschutz dienen und damit vor unkontrolliertem Wasserverlust schützen (Xue et al. 2017).

Gerichtete sowie ungerichtete Metabolitenanalyse (Metabolite Profiling und Metabolite Fingerprinting) erlauben eine umfassende Charakterisierung des Metaboloms von Organismen. Ungerichtete Metabolomanalysen basieren auf vergleichenden massenspektrometrischen Analysen. Sie erlauben den Vergleich des Metabolitengehaltes von Pflanzen unterschiedlicher genetischer Ausstattung und führen zur Identifizierung von Genotyp-assoziierten primären und sekundären Inhaltsstoffen (Kersten et al. 2013). Für die ungerichtete Metabolomanalyse ist es notwendig, die Extraktion möglichst aller Metabolite eines Organes oder Gewebes und deren Trennung mittels ultraschneller Flüssigkeitschromatographie gekoppelt an ein hochauflösendes Massenspektrometer zu gewährleisten. Nach umfangreichen Schritten der Datenprozessierung werden Intensitätsprofile von Interesse (z.B. charakterisiert durch stärkere Akkumulation in toleranten Genotypen) ausgewählt und die chemische Struktur der entsprechenden Inhaltstoffe aufgeklärt (Djamei et al. 2011, König et al. 2012, König et al. 2014, Tanaka et al. 2014).

Literatur

Bauer, F. 1954. Zur Rassenfrage der Roteiche. Allgemeine Forstzeitschrift/Der Wald 9: 470-474.

Collins, E.; Sullivan, A. R.; Gailing, O: 2015. Limited effective gene flow between two interfertile red oak species. Trees-Structure and Function 29: 1135-1148.

Djamei, A.; Schipper, K.; Rabe, F.; Ghosh, A.; Vincon, V.; Kahnt, J.; Osorio, S.; Tohge, T.; Fernie, A. R.; Feussner, I.; Feussner, K.; Meinicke, P.; Stierhof, Y. D.; Schwarz, H.; Macek, B.; Mann, M.; Kahmann, R. 2011: Metabolic priming by a secreted fungal effector. Nature 478: 395-400.

Götz, J., O. P. Rajora, and O. Gailing. 2022. 'Genetic Structure of Natural Northern Range-Margin Mainland, Peninsular, and Island Populations of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.)', Frontiers in Ecology and Evolution, 10: 907414.

Götz, J., and O. Gailing. 2022. 'A novel set of polymorphic chloroplast microsatellite markers for northern red oak (*Q. rubra* L.)', Plant Genetic Resources-Characterization and Utilization 20: 174-177.

Kapoor, Beant, Jerry Jenkins, Jeremy Schmutz, Tatyana Zhebentyayeva, Carsten Kuelheim, Mark Coggeshall, Chris Heim, Jesse R Lasky, Laura Leites, Nurul Islam-Faridi, Jeanne Romero-Severson, Victoria L DeLeo, Sarah M Lucas, Desanka Lazic, Oliver Gailing, John Carlson, and Margaret Staton. 2023. 'A haplotype-resolved chromosome-scale genome for *Quercus rubra* L. provides insights into the genetics of adaptive traits for red oak species', G3 Genes|Genomes|Genetics 13: jkad209.

Kempkes, M. 2013: Genetische und waldbauliche Analysen zu Roteichen-Provenienzen. Universität Göttingen, unveröffentlicht.

Kersten, B.; Ghirardo, A.; Schnitzler, J. P.; Kanawati, B.; Schmitt-Kopplin, P.; Fladung, M., Schroeder, H. 2013: Integrated transcriptomics and metabolomics decipher differences in the resistance of pedunculate oak to the herbivore Tortrix viridana L. BMC genomics 14:21.

Konar, A.; Choudhury, O.; Bullis, R.; Fiedler, L.; Kruser, J. M.; Stephens, M. T.; Gailing, O.; Schlarbaum, S.; Coggeshall, M. V.; Staton, M. E.; Carlson, J. E.; Emrich, S.; Romero-Severson, J. 2017: High-quality genetic mapping with ddRADseq in the non-model tree *Quercus rubra*. BMC genomics 18:12.

König, S.; Feussner, K.; Kaever, A.; Landesfeind, M.; Thurow, C.; Karlovsky, P.; Gatz, C.; Polle, A.; Feussner, I. 2014: Soluble phenylpropanoids are involved in the defense response of Arabidopsis against Verticillium longisporum. New Phytologist 202: 823-837.

König, S.; Feussner, K.; Schwarz, M.; Kaever, A.; Iven, T.; Landesfeind, M.; Ternes, P.; Karlovsky, P.; Lipka, V.; Feussner, I. 2012: Arabidopsis mutants of sphingolipid fatty acid α-hydroxylases accumulate ceramides and salicylates. New Phytologist 196: 1086-1097.

Lind-Riehl, J.; Gailing, O. 2017: Adaptive variation and introgression of a CONSTANS-like gene in North American red oaks. Forests 8: 3.

Lind-Riehl, J.; Sullivan, A.R.; Gailing, O. 2014: Evidence for selection on a CONSTANS-like gene between two red oak species. Annals of Botany 113: 967-975.

Lind, J.; Gailing, O. 2013: Genetic structure of *Quercus rubra* L. and Q. ellipsoidalis E. J. Hill populations at gene-based EST-SSR and nuclear SSR markers. Tree Genetics & Genomes 9: 707-722.

Müller, M.; Gailing, O. 2018: Characterization of 20 new EST-SSR markers for northern red oak (*Quercus rubra* L.) and their transferability to *Fagus sylvatica* L. and six oak species of section Lobatae and Quercus. Annals of Forest Research 61: 211-222.

Nagel, R.-V. 2015: Roteiche (*Quercus rubra* L.). Pages 219–267 in T. Vor, H. Spellmann, and A. Bolte, editors. Potenziale und Risiken eingeführter Baumarten. Baumartenportraits mit naturschutzfachlicher Bewertung. Univ.-Verl. Göttingen, Göttingen.

Pettenkofer, T.; Burkardt, K.; Ammer, C.; Vor, T.; Finkeldey, R.; Müller, M.; Krutovsky, K., Vornam, B.; Leinemann, L.; Gailing, O. 2019: Genetic effects of the introduction of *Quercus rubra* to Germany. European Journal of Forest Research 138: 275-285.

Pettenkofer, T.; Finkeldey, R.; Müller, M.; Krutovsky, K.; Vornam, B.; Leinemann, L.; Gailing, O. 2020: Genetic variation of introduced red oak (*Quercus rubra*) stands in Germany in comparison to North American populations. European Journal of Forest Research 139: 321-331.

Pettenkofer, T.; Leinemann, L.; Gailing, O. 2019b: Untersuchungen der Herkunft und genetischen Variation der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in natürlichen und eingeführten Populationen. Allgemeine Forst Und Jagdzeitung 190: 22-30.

Schraml, C.; Rennenberg, H. 2002: Ökotypen der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zeigen unterschiedliche Reaktionen auf Trockenstreß. Forstwissenschaftliches Centralblatt 121:59-72.

Stratmann, J. 1988: Ausländeranbau in Niedersachsen und den angrenzenden Gebieten – Inventur und waldbaulich-ertragskundliche Untersuchungen. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main.

Sullivan, A. R.; Lind, J. F.; McCleary, T. S.; Romero-Severson, J.; Gailing, O. 2013: Development and characterization of genomic and gene-based microsatellite markers in North American red oak species. Plant Molecular Biology Reporter 31:231-239.

Sullivan, A. R.; Owusu, S. A.; Weber, J. A.; Hipp, A. L.; Gailing, O. 2016: Hybridization and divergent selection in multispecies oak communities. Botanical Journal of the Linnean Society 181:99-114.

Tanaka, H.; Yoshida, S.; Minoura, H.; Negoro, K.; Shimaya, A.; Shimokawa, T.; Shibasaki, M. 2014: Novel GPR40 agonist AS2575959 exhibits glucose metabolism improvement and synergistic effect with sitagliptin on insulin and incretin secretion. Life Sciences 94:115-121.

Xue, D.; Zhang, X.; Lu, X.; Chen, G.; Chen, Z.-H. 2017: Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance. Frontiers in Plant Science 8.

Zhang, R.; Hipp, A. L.; Gailing, O. 2015: Sharing of chloroplast haplotypes among red oak species suggests interspecific gene flow between neighboring populations. Botany 93: 691-700.

Teilverbund B

Die Roteiche im natürlichen Verbreitungsareal: Standortsansprüche und Anpassung

Die Roteiche bildet eines der größten natürlichen Verbreitungsareale unter allen Eichenarten (Gattung *Quercus*) (Brauer et al., 2015; Sander, 1990). Das Heimatgebiet erstreckt sich von einer Linie zwischen dem Oberen See und Nova Scotia nahe des 48. Breitengrades im Norden bis zu einer geografischen Breite von etwa 32 Grad in den Staaten Alabama und Georgia (USA) im Süden. Im Osten bildet der Atlantische Ozean die Arealgrenze, im Westen sind natürliche Vorkommen der Art westlich des Missouri-Flusses in den Staaten Nebraska und Kansas zu finden (Brauer et al., 2015; Sander, 1990). Innerhalb des Verbreitungsgebietes variiert die Jahresdurchschnittstemperatur zwischen 4 °C und 16 °C, die Jahresniederschlagssumme zwischen 760 und 2.030 mm und die Anzahl an frostfreien Tagen zwischen 100 und 220 (Sander, 1990).

Ein optimales Wachstum lässt sich auf tiefen, schluffig-lehmigen bis lehmig-tonigen Böden beobachten, die frisch, aber gleichzeitig gut drainiert sind. Roteichenbestände sind jedoch auch an lehmig-sandigen Standorten mit hohem Skelettgehalt zu finden. Sowohl Kalk als auch Gneise und Granite bilden unter anderem das geologische Substrat dieser Böden (Sander, 1990). Herkunftsversuche haben gezeigt, dass sich die Roteiche an die lokalen Standortsbedingungen des natürlichen Verbreitungsareals angepasst hat und sowohl ökotypische als auch klinale Variation aufweist. Beispielsweise findet Blattalterung und Herbstverfärbung bei Provenienzen aus nördlichen Teilen des Areals früher statt (Deneke, 1974; Kriebel et al., 1976; Schlarbaum & Bagley, 1981). Umgekehrt kennzeichnen sich nördliche Herkünfte durch einen früheren Knospenaustrieb, während die Frosthärte positiv mit der geografischen Breite korreliert. Eine große Variation beim Höhen- und Dickenwachstum ist noch zwischen Provenienzen zu beobachten (Kriebel et al., 1976). Ferner wurden höhere Überlebensraten von Herkünften westlich des Mississippi-Flusses an trockenen Versuchsorten als Anpassung an die dortige Sommertrockenheit interpretiert (Deneke, 1974). Für eine Trockenadaption spricht auch die höhere spezifische Blattmasse von Herkünften aus einem trockenen Standort, sowie deren höhere $C0_2$-Assimilationsrate unter Trockenstress (Kubiske & Abrams, 1992). Schließlich prägten Migrationsbewegungen während des Pleistozäns und räumliche Isolation den Genpool und führten zu einer genetischen Struktur, die mithilfe von Genmarkern aus der Kern- und Chloroplasten-DNA nachweisbar ist (Borkowski et al., 2017; Magni et al., 2005).

Einführung der Roteiche in Europa: Herkunft, Anpassung und Wuchseigenschaften

In Europa wurde die Roteiche bereits 1691 eingeführt. In der Waldwirtschaft fand sie aber erst in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts verbreitet Anwendung. Eine zweite Anbauwelle setzte ab der Mitte des 20. Jahrhunderts ein (Brauer et al., 2015; Magni Diaz, 2004). Mittlerweile ist die Roteiche in vielen Ländern Mitteleuropas eine der wirtschaftlich wichtigsten eingeführten Waldbaumarten. In den Wäldern Deutschlands ist sie aktuell mit einem Flächenanteil von etwa 0,5 % in der Hauptbestockung die häufigste nichtheimische Laubbaumart (BMEL, 2018). Die Herkunft von Roteichenbeständen in Deutschland, aber auch in anderen europäischen Ländern ist weitestgehend unbekannt. Immer wieder fanden Importe von Saatgut aus Nordamerika statt, jedoch bildeten europäische Saatgutquellen gleichzeitig eine kostengünstige Alternative (Magni Diaz, 2004; Timbal et al., 1994). Es ist davon auszugehen, dass in den Wäldern Europas sowohl die erste als auch nachfolgende Generationen eingeführter Roteichen vertreten sind (Magni Diaz, 2004). Eine Differenzierung hinsichtlich Höhenwachstum, Schaftform, Austrieb und Herbstfärbung beobachtete bereits Krahl-Urban (1966) in einem 1956 angelegten Herkunftsversuch mit 19 deutschen Herkünften. Unterschiede im Höhenwachstum sind jedoch in höherem Alter in diesem Versuch kaum mehr erkennbar (Göckede, 2010). In Europa erzeugtes Vermehrungsgut wurde auch über größere Distanzen verfrachtet. Beispielsweise wurden erstmals Bestände der Roteiche in Bulgarien mit Saatgut begründet, das in Deutschland geerntet wurde (Kostov, 1986).

Die Frage des Ursprungs im Heimatgebiet ist von Bedeutung, nicht zuletzt, weil die Herkunft einen Einfluss auf die Wuchseigenschaften und damit auch die Anpassungsfähigkeit ausübt. So weisen an deutschen Versuchsorten nordamerikanische Herkünfte aus nordöstlichen Teilen des Areals (Québec, Kanada) generell einen früheren Knospenaustrieb und damit auch eine höhere Frostgefährdung, eine bessere Wuchsleistung und einen längeren astfreien Anteil des Schafts auf als Herkünfte aus südlicheren Gebieten (Südappalachen, USA) (Liesebach & Schneck, 2011). Ein früherer Austrieb nordamerikanischer Provenienzen wurde bereits auch in Frankreich beobachtet (Daubree & Kremer, 1993). Zur Klärung der Herkunftsfrage wurden bisher molekulare Marker (SSRs, SNPs) aus der Kern- und Chloroplasten-DNA (cpDNA) verwendet und zeigen eher einen Ursprung aus nördlichen Arealteilen (Magni Diaz, 2004; Merceron et al., 2017; Pettenkofer et al., 2019). Eine Zuordnung europäischer Bestände zu Ursprungsgebieten wird jedoch durch das Fehlen ortstypischer cpDNA-Haplotypen (Magni et al., 2005; Pettenkofer et al., 2019) und das kontinuierliche Differenzierungsmuster der Kern-DNA (Fehlen von scharfen Grenzen) im Heimatgebiet (Borkowski et 34 al., 2017; Merceron et al., 2017)

erschwert. Daher ist eine hohe Anzahl an Markern und Referenzpopulationen aus dem heimischen Areal notwendig, um der Frage der Herkunft nachzugehen.

Außer der ursprünglichen Herkunft in Nordamerika dürften auch Genfluss zwischen unterschiedlichen Herkünften, Gendrift und Anpassung nach der Einführung die Genpools europäischer Roteichenpopulationen und damit auch ihre Wuchseigenschaften geprägt haben. Beispielsweise war der Zeitpunkt des Knospenaustriebs von Nachkommen europäischer Bestände eher durchschnittlich im Vergleich zu autochthonen Prüfgliedern in französischen Herkunftsversuchen. Dies könnte für einen homogenisierenden Effekt des Genflusses zwischen unterschiedlichen Genpools sprechen (Daubree & Kremer, 1993). Auf eine solche Durchmischung zwischen Herkünften weisen auch populationsgenetische Ergebnisse markergestützter Analysen hin (Daubree & Kremer, 1993). Auch in einer publizierten molekulargenetischen Untersuchung deutscher Roteichenbestände wurde eine vergleichsweise niedrige genetische Differenzierung zwischen Populationen innerhalb Europas beobachtet. In dieser Studie wurde allerdings der Ursprung europäischer Roteichen aus einem kleinen Teil des natürlichen Areals als Erklärung für dieses Resultat angeführt (Pettenkofer et al., 2020). Auf der anderen Seite wurden zwischen untersuchten Beständen der Roteiche in Österreich deutliche Unterschiede sowohl bei der Kern- als auch bei der Chloroplasten-DNA festgestellt, was auf eine Vielfalt der verwendeten Saatgutquellen hindeutet (Neophytou, 2019; Neophytou et al., 2019b). Darüber hinaus zeigte sich sowohl in Frankreich als auch in Deutschland eine überdurchschnittliche Wuchsleistung europäischer Herkünfte, die entweder auf Anpassung an die Standortsbedingungen in Europa oder auf Einführung besonders wüchsiger Herkünfte zurückzuführen ist (Liesebach & Schneck, 2011; Merceron, 2016). Schließlich beobachtete Merceron (2016) eine klinale Variation des Knospenaustriebs in Europa, wobei südlichere Provenienzen früher austrieben. Dieser Trend ist umgekehrt im Vergleich zum Heimatgebiet und spricht für eine Anpassung nach der Einführung.

Waldbauliche Aspekte und Holzqualität der Roteiche in Deutschland

Im Vergleich zu den heimischen Stiel- und Traubeneichen weist die Roteiche in Europa eine höhere Schattentoleranz auf; ihr Lichtbedarf erhöht sich jedoch mit zunehmendem Alter (Brauer et al., 2015). Ihr Wachstum ist den heimischen Eichenarten überlegen. Das Höhenwachstum kann bis zu 2,1 m pro Jahr erreichen und kulminiert im Alter von 50-60 Jahren, während der maximale Gesamtzuwachs mit 75 Jahren beobachtet wird (Brauer et al., 2015). Der Volumenzuwachs der Roteiche in Deutschland ist im Vergleich zu den heimischen Eichenarten überlegen und erreicht 8-17 Fm/Jahr/ha im Alter von 80-120 Jahren (Bauer, 1953; Seidel & Kenk, 2003). Dabei erreicht der Zuwachs zumeist den von anderen europäischen Ländern (Nicolescu et al., 2018). Die empfohlene Umtriebszeit ist mit 80-120 Jahren niedriger als bei Stiel- und Traubeneiche (Brauer et al., 2015; Nicolescu et al., 2018). Die Roteiche kann als Mischbaumart mit Rotbuche oder als Hauptbaumart mit Bergahorn, Rotbuche und Hainbuche angebaut werden (Leibundgut, 1984; Nicolescu et al., 2018). Sie weist eine bessere Astreinigung als die heimischen Eichenarten auf und ihre Tendenz zur Wasserreiserbildung ist ebenfalls niedriger. Verglichen mit der Stiel- und Traubeneiche besteht weniger Bedarf an Bildung eines dichten Unterstands zum Schaftschutz (Bauer, 1953; Göhre & Wagenknecht, 1955; Schulenburg, 1966).

Roteichenholz ist im Vergleich zu heimischen Eichenarten etwas dichter und besitzt gute Elastizitäts- und Festigkeitseigenschaften (Aas, 2004a, 2004b; Brauer et al., 2015; Nicolescu et al., 2018). In den mit bloßem Auge sichtbaren Spätholzgefäßen bilden sich keine Thyllen, was dazu führt, dass das Holz durchtränkbar und daher weniger dauerhaft ist. Daher wird die Holzqualität als etwas geringer eingestuft im Vergleich zu heimischen Eichenarten (Brauer et al., 2015; Nicolescu et al., 2018). Gleichzeitig ist es aber aufgrund der fehlenden Verthyllung leichter imprägnierbar, was seine Dauerhaftigkeit deutlich erhöht (Bauer, 1953; Brauer et al., 2015; Göhre & Wagenknecht, 1955). Ferner bietet die geringe Wasserreiserbildung gute Voraussetzungen für die Furnierholzproduktion (Bauer, 1953; Brauer et al., 2015; Pechmann, 1957). Außerdem wird Roteichenholz aufgrund seiner guten mechanischen Eigenschaften als Bauholz in trockenen Bereichen und im Innenausbau, sowie zur Erzeugung von Werkzeugstielen, Rädern aus Holz und landwirtschaftlichen Geräten genutzt. Wenn es zunächst imprägniert wird, kann es auch als Grubenholz und zur Herstellung von Eisenbahnschwellen benutzt werden. Im Heimatgebiet findet es auch bei der Produktion von Papier, Pappe und Holzkohle Anwendung (Brauer et al., 2015).

Versorgung mit Vermehrungsgut: Aktuelle Situation in Deutschland, bisherige Züchtungsarbeiten

Die Roteiche unterliegt dem Forstvermehrungsgutgesetz. Insgesamt sind in der aktuellsten Fassung der Zulassungsregister 463 Erntebestände der Roteiche mit einer reduzierten Fläche von 1.058,55 ha eingetragen (Anonymus, 2023). Innerhalb von 10 Jahren (zwischen den Jahren 2009/10 und 2017/18) betrug das Ernteaufkommen in diesen Erntebeständen im Durchschnitt 72.078 kg/a. Bei einem Minimum von 34.191 kg, einem Maximum von 119.951 kg und einem Variationskoeffizienten (CV) von 33 % fluktuiert das Ernteaufkommen bei der Roteiche viel weniger als bei den heimischen Stiel- (CV = 70 %) und Traubeneichen (CV = 68 %) im

selben Zeitintervall (Datenquelle: BLE, www.ble.de). Das lässt sich durch die vergleichsweise regelmäßigere Fruktifikation der Roteiche erklären (Brauer et al., 2015; Sander, 1990). Im gleichen Zeitraum wurden pro Jahr im Durchschnitt 1.540 kg Samen der Roteiche importiert und 2.854 kg exportiert (Datenquelle: BLE, www.ble.de). Alle zugelassenen Erntebestände der Roteiche gehören zur Kategorie ausgewählt, während Ausgangsmaterial zur Erzeugung von qualifiziertem oder geprüftem Forstvermehrungsgut derzeit nicht verfügbar ist (BLE, 2013). Außerdem sind Erntebestände teilweise unter einem Hektar groß und dort ist die Roteiche horstweise in andere führende Baumarten eingemischt, was z.B. in Bayern zum Entzug der Zulassung von mehreren Beständen führte, die die gesetzlichen Zulassungskriterien nicht erfüllt haben (Schirmer, 2014). Europaweit ist die Situation ähnlich. Lediglich eine Samenplantage in Belgien ist als Ausgangsmaterial zur Gewinnung von qualifiziertem Vermehrungsgut in der FOREMATIS-Datenbank eingetragen. Alle anderen Saatgutquellen betreffen Erntebestände oder Herkunftsgebiete, die zur Erzeugung von ausgewähltem oder quellengesichertem Vermehrungsgut zugelassen sind (Anonymus, 2025).

Im Vergleich zu Erntebeständen lässt Saatgut aus Samenplantagen einen höheren Anbauwert erwarten, da dort die einzelnen Komponenten einer Plantage (Klone oder Einzelstammabsaaten) auf Individualebene ausgelesen wurden. Somit wird bei einer höheren Selektionsintensität die genetische Variation innerhalb der Population genutzt und es ist ein besserer Züchtungsfortschritt erzielbar. Aus diesen Gründen gibt es bereits Pläne, herausragende Phänotypen (Plusbäume) auszuwählen, um sie zur Begründung von Samenplantagen der Roteiche zu verwenden. Konzepte, die durch die Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA) und durch das Amt für Waldgenetik (AWG, ehemals Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht) entwickelt wurden, sehen die Beerntung von Plusbäumen zur Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen vor, die zukünftig zu Sämlings-Samenplantagen überführt werden sollen (Schirmer, 2014; Steiner, 2012). Diese Programme sind aktuell in der Planungs- oder teils in der Realisierungsphase. Sie beschränken sich jedoch auf das Territorium bestimmter Bundesländer. Im Gegensatz dazu wurden für andere Waldbaumarten wie Stiel- und Traubeneiche, Bergahorn, Douglasie, Fichte, Kiefer und Lärchen bereits Züchtungsprogramme eingeführt, die die Plusbaumauslese sowie eine weitere züchterische Bearbeitung auf Bundesebene beinhalten (Meißner, 2017) und bei der Verwendungszonierung Klimaanpassungsaspekte berücksichtigen. Ein vergleichbares Programm für die Roteiche fehlt bisher.

Perspektive eines deutschlandweiten Züchtungsprogramms bei der Roteiche

Gerade bei der Roteiche stellen Züchtungsprogramme eine gute Alternative für die Versorgung des Marktes mit hochwertigem Vermehrungsgut dar. Denn bei dieser fremdländischen Baumart besteht kein Risiko einer eventuell unerwünschten Interaktion mit lokalen, autochthonen Vorkommen. Darüber hinaus erleichtert die regelmäßigere Fruktifikation gegenüber Stiel- und Traubeneiche die Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen und (Sämlings–) Samenplantagen. Auch die kürzeren Umtriebszeiten im Vergleich zu den heimischen Eichenarten sind vorteilhaft sowohl für die Zeitdauer eines Züchtungsprogramms als auch für die zukünftige Vermarktung. Die Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen und ihre Überführung in Samenplantagen weist bestimmte Vorteile auf. Dieses Verfahren erlaubt eine gleichzeitige Prüfung von Einzelbaumnachkommen innerhalb von und zwischen Familien. Weitere Ausleseschritte innerhalb der Versuchsfläche (Vorwärtsselektion) lassen einen Züchtungsfortschritt erwarten. Im Fall einer Sämlings-Samenplantage sind die väterlichen Anteile bei den Nachkommen unbekannt, während man in einer Klonsamenplantage die Genotypen theoretisch zu 100 % kontrollieren kann. Erfolgt aber eine Vorwärtsselektion mit hoher Intensität innerhalb von und zwischen den Familien und Herkünften, ist eventuell doch ein höherer Züchtungsfortschritt im Fall einer Samenplantage zu erwarten (Steiner, 2012; White et al., 2007).

Da die bisherigen genetischen Untersuchungen eine große Vielfalt der Roteiche innerhalb von Europa zeigten (siehe Absatz III.1.2 oben), erscheint eine große Anzahl an Beständen zur Plusbaumauswahl als sinnvoll, um diese genetische Variabilität zu nutzen. Da sowohl von europaweitem Saatguttransfer als auch von wiederholter Einfuhr von Saatgut aus dem natürlichen Areal auszugehen ist, dürfte die räumliche Verteilung genetischer Variation nicht mit der biogeografischen Zonierung in Deutschland und Europa korrelieren. Das spricht gegen die Einschränkung der Plusbaumauslese innerhalb eines geografisch stark begrenzten Gebiets (z.B. eines Wuchsgebiets). Daher ist die Einleitung eines bundesweiten Züchtungsprogramms sinnvoll, um auf die Gesamtpalette genetischer Variation der Roteiche zurückzugreifen. Andererseits könnte es zu lokaler Anpassung nach der Einfuhr aus Nordamerika gekommen sein (siehe Absatz III.1.2 oben), was gegen eine völlig unbegrenzte räumliche Ausweitung einer Massenauslese spricht. Unter Berücksichtigung des Klimawandels könnten gut angepasste und phänotypisch herausragende Bestände in wärmeren Regionen des europäischen Auslands daher eine gute Quelle zur Auswahl von Plusbäumen für ein Züchtungsprogramm im Hinblick auf

Klimaanpassungsoptionen bilden. Im Gegensatz dazu scheint das Heranziehen nordamerikanischer Herkünfte keine Vorteile zu haben, da diese in verschiedenen Herkunftsversuchen in Europa keine Vorteile in ihren Wuchseigenschaften aufwiesen (Liesebach & Schneck, 2011; Merceron, 2016).

Literatur

Aas, G.; 2004a: *Quercus robur*. Enzyklopädie der Holzgewächse Handb. und Atlas der Dendrol. 1–14.

Aas, G.; 2004b: *Quercus petraea*. Enzyklopädie der Holzgewächse Handb. und Atlas der Dendrol. 1–16.

Anonymus, 2023: Übersicht über zugelassenes Ausgangsmaterial für forstliches Vermehrungsgut in der Bundesrepublik Deutschland. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE). https://fgrdeu.genres.de/fileadmin/user_upload/Zul-Reg-Uebersicht_2023_a.pdf (zugegriffen am 16.01.2025).

Anonymus, 2025: FOREMATIS - Forest Reproductive Material Information System. https://ec.europa.eu/forematis/ (zugegriffen am 16.01.2025)

Bauer, F., 1953. Die Roteiche. Sauerländer Verlag, Frankfurt am Main.

BLE, 2019: Ernteaufkommen Forstsaatgut. https://fgrdeu.genres.de/erntehandel/ ernteaufkommen/ (zugegriffen am 29.12.2019).

BLE, 2013: Zusammenstellung über zugelassenes Ausgangsmaterial für forstliches Vermehrungsgut in der Bundesrepublik Deutschland (Stand: 01.07.2013) – korrigierte Fassung.

Borkowski, D.S.; Hoban, S.M.; Chatwin, W.; Romero-Severson, J. 2017: Rangewide population differentiation and population substructure in *Quercus rubra* L. Tree Genet. Genomes 13, 67.

Brauer, A.; Pietzarka, U.; Roloff, A. 2015: *Quercus rubra* Linné 1753, in: Roloff, A., Weisgerber, H., Lang, U.M., Stimm, B. (Eds.), Enzyklopädie Der Holzgewächse: Handbuch Und Atlas Der Dendrologie. Weinheim, S. 1–26.

Daubree, J.; Kremer, A. 1993: Genetic and phenological differentiation between introduced and natural populations of *Quercus rubra* L. Ann. Sci. For. 50, 271s-280s.

Deneke, F.J. 1974: A red oak provenance trial in Kansas. Trans. Kansas Acad. Sci. 195–200.

Göckede, J. 2010: Wuchsleistungen verschiedener Roteichen-Herkünfte in Nordwest-Deutschland. Masterarbeit an der Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie der Georg-August-Universität Göttingen. 69 S.

Göhre, K.; Wagenknecht, E. 1955: Roteiche und ihr Holz. Deutscher Bauernverlag, Berlin.

Kostov, K. 1986: On the introduction of the red oak (*Q. rubra* L.) in Bulgaria, Habilitati. ed, Forest Science. Forest Research Institute, Sofia.

Krahl-Urban, J. 1966: Vorläufige Ergebnisse eines Roteichen-Provenienzversuches. Allg. Forst- und Jagdzeitung 137, 91–100.

Kriebel, H.B.; Bagley, W.T.; Deneke, F.J.; Funsch, R.W.; Roth, P.; Jokela, J.J.; Merritt, C.; Wright, J.W.; Williams, R.D. 1976: Geographic variation in *Quercus rubra* in north central United States plantations. Silvae Genet. 25, 118–122.

Kubiske, M.E.; Abrams, M.D. 1992: Photosynthesis, water relations, and leaf morphology of xeric versus mesic *Quercus rubra* ecotypes in central Pennsylvania in relation to moisture stress. Can. J. For. Res. 22, 1402–1407.

Leibundgut, H. 1984: Unsere Waldbäume: Eigenschaften und Leben. Huber, Bern.

Liesebach, M.; Schneck, V. 2011: Entwicklung von amerikanischen und europäischen Herkünften der Roteiche in Deutschland. Development of American and European provenances of northern red oak in Germany. Forstarchiv 9, 125–133.

Magni, C.R.; Ducousso, A.; Caron, H.; Petit, R.J.; Kremer, A.; 2005: Chloroplast DNA variation of *Quercus rubra* L. in North America and comparison with other Fagaceae. Mol. Ecol. 14, 513–524.

Magni Diaz, C.R. 2004: Reconstitution de l'introduction de *Quercus rubra* L. en Europe et conséquences génétiques dans les populations allochtones. Doktorarbeit. École National du Génie Rural, des Eaux et des Forêts (ENGREF), Paris, France. 429 S.

Meißner, M. 2017: FitForClim – Bereitstellung von leistungsfähigem und hochwertigem Forstvermehrungsgut für den klima- und standortgerechten Wald der Zukunft, in: Symposium Des Verbundprojektes FitForClim Vom 14. Und 15. Juni 2016 in Chorin. Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, S. 5–12.

Merceron, N. 2016. Processus écologiques et évolutifs impliqués dans le succès de l'introduction de *Quercus rubra* L. en Europe. Doktorarbeit. Université de Bordeaux. Bordeaux, Frankreich. 229 S.

Merceron, N.R.; Leroy, T.; Chancerel, E.; Romero-Severson, J.; Borkowski, D.; Ducousso, A.; Monty, A.; Porté, A.; Kremer, A. 2017: Back to America: tracking the origin of European introduced populations of *Quercus rubra*. Genome 60, 778–790.

Neophytou, C.; Pötzelsberger, E.; Curto, M.; Meimberg, H.; Hasenauer, H. 2019a: Population bottlenecks have shaped the genetic variation of Ailanthus altissima (Mill.) Swingle in an area of early introduction. Forestry (on-line veröffentlicht).

Neophytou, C.; Pötzelsberger, E.; Van Loo, M.; Hasenauer, H.; 2019b: Origin, genetic variation and genetic change of non-native forest trees in their introduced range, in: de Mattos, P.P. (Ed.), Forest Research and Cooperation for Sustainable Development. XXV IUFRO World Congress, 29 Sept - 5 October 2019, Curitiba, PR, Brazil. Abstracts. Pesquisa florestal brasileira = Brazilian journal of forestry research. - v. 39, e 201902043, Special issue (2019), Curitiba, Brazil, p. 768.

Nicolescu, V.-N.; Vor, T.; Mason, W.L.; Bastien, J.-C.; Brus, R.; Henin, J.-M.; Kupka, I.; Lavnyy, V.; La Porta, N.; Mohren, F. 2018: Ecology and management of northern red oak (*Quercus rubra* L. syn. Q. borealis F. Michx.) in Europe: a review. Forestry (on-line veröffentlicht).

Pechmann, H. 1957: Holzuntersuchungen an Roteiche und Traubeneiche aus den Versuchsflächen der Badischen Forstlichen Versuchsanstalt bei Baden-Baden. Allg. Forst-u. Jagdztg 128, 13.

Pettenkofer, T.; Burkardt, K.; Ammer, C.; Vor, T.; Finkeldey, R.; Müller, M.; Krutovsky, K.; Vornam, B.; Leinemann, L.; Gailing, O. 2019: Genetic diversity and differentiation of introduced red oak (*Quercus rubra*) in Germany in comparison with reference native North American populations. Eur. J. For. Res. 138, 275–285.

Pettenkofer, T.; Finkeldey, R.; Müller, M.; Krutovsky, K. V.; Vornam, B.; Leinemann, L.; Gailing, O. 2020: Genetic variation of introduced red oak (*Quercus rubra*) stands in Germany compared to North American populations. Eur. J. For. Res. (on-line veröffentlicht)

Sander, I.L. 1990: *Quercus rubra* L. Northern red oak. Silvics North Am. 2, 727–733.

Schirmer, R.; 2014: Neuer Züchtungsansatz zur Anlage leistungsfähiger Saatguterntebestände von Roteiche. LWF Wissen 74, 72–77.

Schlarbaum, S.E.; Bagley, W.T., 1981: Intraspecific genetic variation of *Quercus rubra* L., northern red oak. Silvae Genet.

Schulenburg, K. 1966: Untersuchungen über Wasserreiserbildung an der Roteiche (*Quercus borealis* Michaux). Arch. Forstwes. Landsch.ökol. 15, 1073–1091.

Seidel, J.; Kenk, G. 2003: Vergleich von Roteichen mit einheimischen Eichen - Wachstum und Wertleistung der Eichenarten in Baden-Württemberg. AFZ 1, 28–31.

Steiner, W. 2012: Hochwertiges Vermehrungsgut durch züchterische Verbesserung: Ein Vergleich verschiedener Möglichkeiten am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.). Forstarchiv 8, 85–92

Timbal, J.; Kremer, A.; Le Goff, N; Nepveu, G. 1994: American red oak., in: Le Chene Rouge d' Amérique. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, France.

White, T.L.; Adams, W.T.; Neale, D.B. 2007: Forest Genetics. CABI publishing. Cambridge, Massachussets, USA. 682 S.

3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Neben der Kooperation im Projektkonsortium fand im Projekt RubraSelect auch eine teils intensive Zusammenarbeit mit mehreren anderen Stellen statt. Zu den externen Partnern gehören Behörden, freie Unternehmer sowie andere Forschungseinrichtungen.

Teilverbund A

In den Jahren 2021 und 2022 führten wir zusammen mit der Abteilung Biochemie der Pflanze der Universität Göttingen (TV2) ein Trockenstressexperiment mit 1.041 zweijährigen Sämlingen aus verschiedenen Herkünften durch. Das Design und die Phänotypisierungsverfahren von Trockenstressexperimenten im Gewächshaus wurden diskutiert, und es fand ein Informationsaustausch zwischen den beiden Teilverbünden, insbesondere mit dem Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde (LFE, TV6) und dem Staatsbetrieb Sachsenforst (SBS, TV7), statt. Wir lieferten relevante Blattproben (**AP 2**) aus dem Gewächshausexperiment an TV2 für die Transkriptom- und Metabolomanalyse (AP3 und 6). Die Blattproben des Trockenstressversuchs (**AP 17**) aus Nachkommenschaften der Plusbäume erhielten wir von SBS für die Bestimmung der Kohlenstoffisotopendiskriminierung ($\Delta^{13}C$).

(**AP3**) (TV1) stellte freundlicherweise das Referenzgenom von Roteiche (Qrubra_687_v2.0) zum Abgleich der Transkriptom-Daten zur Verfügung.

(**AP6**) Auf Vorschlag unseres Kooperationspartners Dr. Ralf Kätzel (Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde) wurden für die gerichteten Analysen der TS-Marker ABA und Prolin eine auf isotopenmarkierte Standards basierende quantitative LC-MS-Methode an die spezifische Matrix (Blätter von Roteichen-Sämlingen) angepasst und optimiert.

Weiterhin wurden in Zusammenarbeit mit dem Thünen-Institut für Forstgenetik (TV 3) Blattproben auf den Versuchsflächen an den Individuen gesammelt, aus denen auch Bohrkerne entnommen wurden. Für die SNP-Analysen (**AP 8**) erhielten wir dendroökologische Daten von TV3, Transkriptomik- und Metabolomik-Daten von TV2, sowie DNA der Plusbäume (bei Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt (FVA) Baden-Württemberg, TV4).

Teilverbund B

AP 13 & 14: Bereits in der Frühphase des Projekts erfolgte bei der Sondierung von potentiellen Ausgangspopulationen für die spätere Plusbaumauslese ein intensiver Austausch mit den Forstverwaltungen der beteiligten Bundesländer. Dieser wurde bei der folgenden Plusbaumauslese mit den zuständigen Revierleitungen intensiviert – oft vor Ort in den Eichenbeständen. Der fachliche Austausch diente nicht nur zur Sensibilisierung für die Baumart Roteiche, sondern wirkte sich auch fördernd auf die nachfolgenden Arbeitsschritte aus.

AP 15: Die Reiserente wurde bei den jeweiligen Projektpartnern entweder vollständig an externe Baumkletterer vergeben (NW-FVA, SBS) oder diese wurden aufgrund eigener Kletterkompetenz des eingebundenen Projektpersonals als Unterstützung hinzugezogen (FVA-BW). Auch bei der Saatgutgewinnung wurde teils auf freie Unternehmer zurückgegriffen. Das Saatgut wurde anschließend in der Darre der Niedersächsischen Landesforste (NW-FVA) und der Staatsklenge Nagold (FVA-BW) eingelagert. Neben der räumlichen Kapazität, größere Saatgutmengen zwischenzulagern, liegt bei diesen Institutionen außerdem ein langwieriger Erfahrungsschatz zum Umgang mit Roteichen-Saatgut vor.

AP 16: Eine Vielzahl der Einzelproben für genetische Untersuchungen, die sich aus Blättern, Knospen oder Eicheln zusammensetzten, konnten durch das Projektpersonal eigenständig oder im Rahmen von AP 15 gewonnen werden. So wurden Knospenproben der Plusbäume aus dem Zuständigkeitsgebiet der NW-FVA beispielsweise von den geschnittenen Reisern entnommen. Lediglich zur zügigen Gewinnung der Bestandesbeprobungen, welche vom SBS vorgenommen worden sind, ist zur Unterstützung auf einen externen Dienstleister zurückgegriffen worden.

Um eine möglichst breite Basis zur Herkunftsuntersuchung der Plusbäume zu schaffen, konnten Referenzproben von einem in Frankreich gelegenen Herkunftsversuch gewonnen werden. Ohne die intensive Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Antoine Kremer (UMR BioGeCo, INRAe, Pierroton) wäre dies nicht möglich gewesen. Während der SBS alle Arbeitsschritte einschließlich der Genotypisierung im hauseigenen Labor durchführen

konnte, beauftragte die FVA-BW nach der DNA-Extraktion die Firma Microsynth Ecogenics als externen Dienstleister.

Die Auswertung der Daten wurde schließlich in engem Austausch mit dem Institut für Waldbau der Universität für Bodenkultur Wien (BOKU) vorgenommen. In Österreich wurden im Rahmen des Forschungsprojekts EicheFit (WF-Projekt EicheFIT Klimafitte Eichenwälder: genetisches Anpassungspotenzial der Eichenarten, Hybriden, Saatguterntebestände und –plantagen) ebenfalls Roteichen mittels identischer Kern- und Chloroplasten-Mikrosatelliten-Marker durch das Institut für Waldbau der BOKU untersucht worden (Projektleitung BOKU: Dr. Simon Jansen) um unter anderem die Frage der Herkunft und genetischen Vielfalt zu klären. Ein Abgleich der Daten zwischen den Projekten RubraSelect und EicheFit schaffte eine breitere Datengrundlage zur Klärung dieser Fragen. Ergebnisse der gemeinsamen Auswertung wurden in der Tagung der 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA in Freiburg am 12.09.2024 präsentiert, während eine gemeinsame Publikation der Endergebnisse in einer referierten Fachzeitschrift geplant ist.

AP 17: Zur Gewinnung von frischen Blattproben zur Phänotypisierung der bundesweit verteilten Plusbäume beauftragte der LFE einen freien Unternehmer. Auf diese Weise wurde sichergestellt, dass innerhalb kürzester Zeit ausreichend Probenmaterial gesammelt werden konnte. Das Institut für Bergbaufolgelandschaften (FIB) wurde vom SBS beauftragt, mithilfe pflanzenphysiologischer Untersuchungen das angewandte Methodenset zu erweitern und stresssensitive bzw. stresstolerante Nachkommenschaften zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurden an sieben Messterminen im Zeitraum vom 26.06.24 bis zum 13.08.24 sowohl Chlorophyll-a-Fluoreszenz- als auch Dualex®-Untersuchungen an insgesamt 400 Roteichen-Sämlingen (REI) von 20 unterschiedlichen Plusbaum-Nachkommenschaften (PBNK) sowie 20 Flaumeichen-Sämlingen (FEI) durchgeführt.

AP 18: Aufgrund von Stellenvakanz in der hauseigenen Baumschule der NW-FVA kam bei der Kulturpflege des ausgebrachten Saatguts ein externer Dienstleister zum Einsatz. Kollegen aus dem Gartenteam der FVA-BW sind in 2022 an die BOKU gereist, um sich über die Pfropfungserfahrungen mit Roteiche zu informieren.

AP 19: Um die nach der Aussaat angezogenen Nachkommen mit ausreichender Wiederholungszahl in die Nachkommenschaftsprüfung aufnehmen zu können, wurden von den beteiligten Projektpartnern mindestens 1,5 ha große Fläche gesucht. Dabei konnte auf die bereits im Rahmen von AP 13 & 14 geknüpften Kontakte zurückgegriffen werden. Zusätzliche sind weitere Forstämter kontaktiert wordeb, sodass schlussendlich geeignete Flächen gefunden wurden. Selbiges gilt für die beiden anzulegenden Pfropflings-Samenplantagen. Zur Flächenvorbereitung waren wiederum Unternehmereinsätze notwendig, um Arbeiten wie Rodung, Räumung oder Zaunbau bewerkstelligen zu können.

AP 20: Die Website des Projekts wird weiterhin von der FVA-BW unter dieser Adresse gehostet: www.rubraselect.de.

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

Teilverbund A

Arbeitspaket 1: Phänotypische Charakterisierung im Gewächshausversuch und im Labor (UGOE-FG)

In den Jahren 2021 und 2022 führten wir ein Trockenstressexperiment mit 1.041 zweijährigen Sämlingen aus 11 verschiedenen Herkünften durch. Wir haben im Sommer 2021 einen moderaten Trockenstress angewendet, der zu einer signifikanten Verringerung des Sämlingswachstums, allerdings ohne offensichtliche Trockenheitssymptome führte und damit keine Klassifizierung hinsichtlich der Trockenstresstoleranz der Herkünfte bzw. der Individuen zuließ. Im Sommer 2022 verursachte ein starker Trockenstress eine Reihe von Trockenheitssymptomen an den Sämlingen. Dabei erfassten wir eine Vielzahl von Trockenstresssymptomen sowie die Mortalität, den Zeitpunkt des Knospenaufbruchs und die Wuchsleistung. Interessanterweise zeigten Pflanzen der drei Herkünfte NW022, HEdda und BW022 deutliche Unterschiede in der Trockenstresstoleranz. Sämlinge der Herkunft NW022 und HEdda waren vergleichsweise anfällig für Trockenstress, während Pflanzen der Herkunft BW022 eine höhere Trockenstresstoleranz aufwiesen. Außerdem wurde zwischen 2021-2023 im Sämlingsversuch die Stomatadichte auf der Blattunterseite und die Wassernutzungseffizienz als Marker für akuten Trockenstress ermittelt.

Arbeitspaket 2: Probennahme für genetische und phänotypische Charakterisierung sowie für Metabolom- und Transkriptomanalysen (UGOE-FG)

Die Sammlung von Blattproben aus den Sämlingsversuchen 2021 und 2022 für DNA, phänotypische und Metabolomanalysen ist abgeschlossen. Während des Trockenstressversuchs sind die Blätter von Stress- und Kontrollsämlingen zu drei Zeitpunkten (d.h. vor dem Stress T0, Frühstress T1, und Stress T2) gewonnen worden. Für die Metabolom- und Transkriptomanalysen sowie für die DNA-Isolierung wurden die Blätter unmittelbar nach der Ernte in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Ein weiteres Blatt wurde bei Stress T2 zur Messung der Stomatadichte und der Kohlenstoffisotopendiskriminierung ($\Delta\ ^{13}C$) gesammelt.

Die Sammlung von Blattproben aus einem Roteichenherkunftsversuch (576 Altbäume) für DNA-Untersuchungen in Abstimmung mit TV3 (Thünen-FG) ist abgeschlossen.

Arbeitspaket 3: Etablierung, Durchführung und Auswertung ungerichteter Metabolom- und Transkriptom-Analysen zur Identifizierung trockenstressassoziierter Marker (UGOE-BP)

<u>Etablierung der Metabolom-Analysen</u>

Zunächst wurden ungerichtete Metabolom-Analysen für Blätter von Roteiche etabliert. Dazu wurden die Proben-Homogenisierung, die Extraktion, die Trennung der Extrakte mittels ultraschneller Flüssigkeitschromatographie (UHPLC) und die Detektion der Metabolite durch hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS) an die Matrix des Roteichenblattes angepasst (Abbildung 1). Weiterhin wurde der Workflow für die Auswertung der großen Datenmengen der ungerichteten Metabolom-Analyse für Roteiche optimiert. Im Fokus standen die Etablierung einer deutlich schnelleren und vereinfachten Extraktionsmethode bei gleichzeitiger Erhöhung der Effizienz der Extraktion für polare, semipolare und unpolare Metaboliten. Hier gelang es uns mit einem Drittel des ursprünglich genutzten Blattmaterials (30 mg statt 100 mg) reichhaltige Extrakte zu generieren, mit denen drei verschiedene Analysen (ungerichtete Analysen, Phytohormon- sowie Aminosäure-Analysen) durchgeführt werden konnten. Der geringe Verbrauch von Material sollte es erlauben, aus einem Blatt nicht nur Metabolite, sondern möglichst auch RNA für RNASeq-Analysen zu isolieren. Als Grundlage für die ungerichtete Metabolom-Analyse wurde des Weiteren eine Metabolit-Datenbank mit Informationen zu Metaboliten von Roteiche und anderen Eichen-Arten des spezialisierten Stoffwechsels aufgebaut. Diese umfasst 443 Einträge, zusammengestellt aus Literatur- und aus Experimenten gewonnenen Daten, und mit Informationen zu Summenformel, exakte Masse, sowie teilweise MS/MS-Spektren und Retentionszeiten.

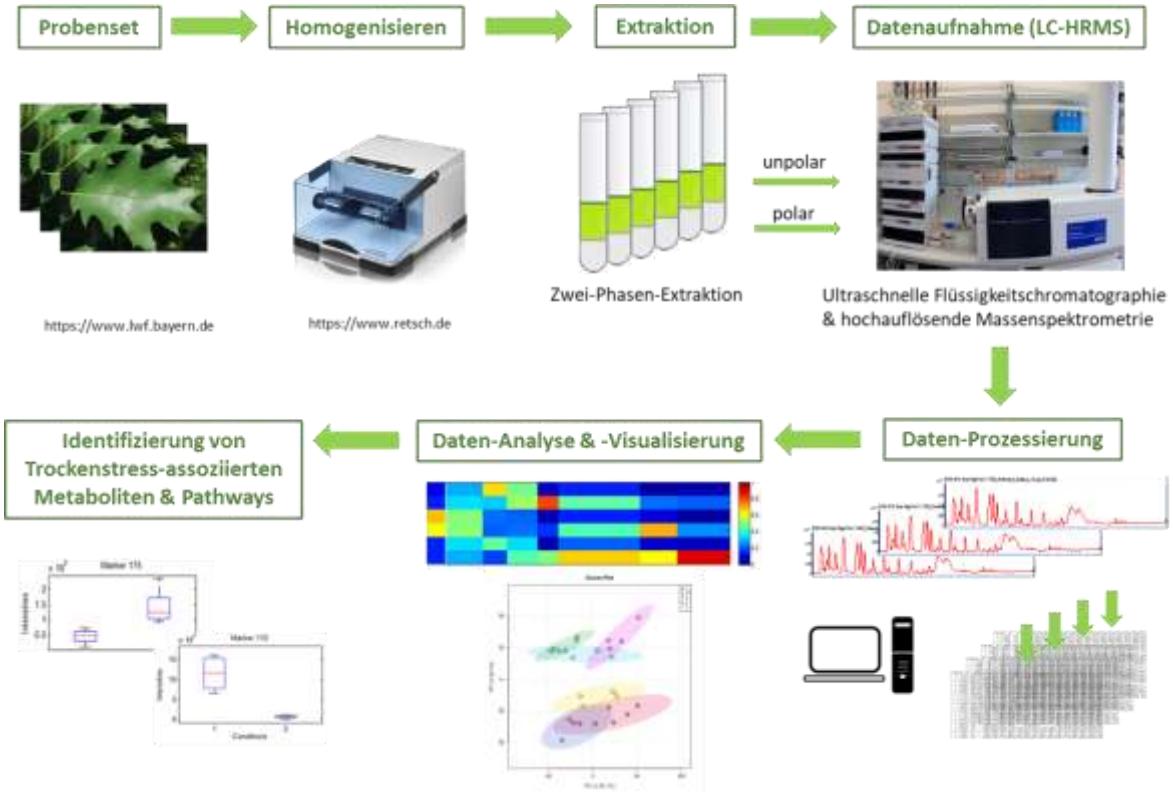


Abbildung 1: Workflow der ungerichteten Metabolom-Analysen zur Identifizierung TS-assoziierter Metabolite in Blättern von Roteichen mittels ultraschneller Flüssigkeitschromatographie und hochauflösender Massenspektrometrie. Für die Daten-Analyse, gezielte Identifizierung von TS-assoziierten Metaboliten bzw. Stoffwechselwegen und die integrative Auswertung von Metabolom- und Transkriptom-Daten wird die von uns entwickelte Software „MarVis“ (marvis.gobics.de (Kaever et al., 2015)) verwendet.

Durchführung von ungerichteten Metabolom- und Transkriptom-Experimenten zur Identifizierung von TS-assoziierten Markern

Es wurden mit dem Partner GOE-FG statt wie ursprünglich geplant nicht nur ein, sondern zwei TS-Versuche in 2021 (schwacher TS) und 2022 (starker TS) unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus mit insgesamt 1.024 Sämlingen durchgeführt (Abbildung 2). Die begleitende phänotypische Charakterisierung erlaubte erst im Jahr 2022 die Klassifizierung von insgesamt 521 gestressten Roteichen-Sämlingen hinsichtlich ihrer TS-Toleranz (AP1 und AP2), sowie erst in 2023 eine endgültige Auswertung bezüglich ihrer Überlebensrate. Des Weiteren hatte sich gezeigt, dass aufgrund der großen Heterogenität der Metabolitenprofile statt des ursprünglich geplanten *eines ungerichteten Experiments* (mit 40 Proben) insgesamt drei ungerichtete Metabolom-Experimente durchgeführt werden mussten, um verlässliche Daten (Marker-Metabolite) zu generieren.

Nach Aufnahmen und Auswertung der 10 phänotypischen und physiologischen Daten des zweiten Experimentes mit starkem TS im Jahr 2022 durch den Partner GOE-FG wurden zunächst drei kontrastierende Herkünfte (BW022 (+) mit hoher und NW022 (-) und HEdda (-) mit jeweils geringer TS-Toleranz) ausgewählt und das entsprechende Blattmaterial von ausgewählten Zeitpunkten genutzt, um mehrere ungerichtete, aufeinander aufbauende Metabolom-Experimente sowie eine RNASeq Analyse (RNASeq-Analyse I) zur Identifizierung von TS-assoziierten Markern zu etablieren (Abbildung 2). Insgesamt wurden aufgrund der Metabolom-Experimente I-III 25-30 Metabolit-Marker identifiziert und validiert, welche sowohl TS- als auch TS-Toleranz-assoziierte Intensitätsprofile aufweisen. Dieser umfangreiche Datensatz steht nun für gerichtete Auswertungen in Bezug auf die TS-assoziierten Markerkandidaten der übrigen Provenienzen (Metabolom-Experimente IV und V, AP6) zur Verfügung.

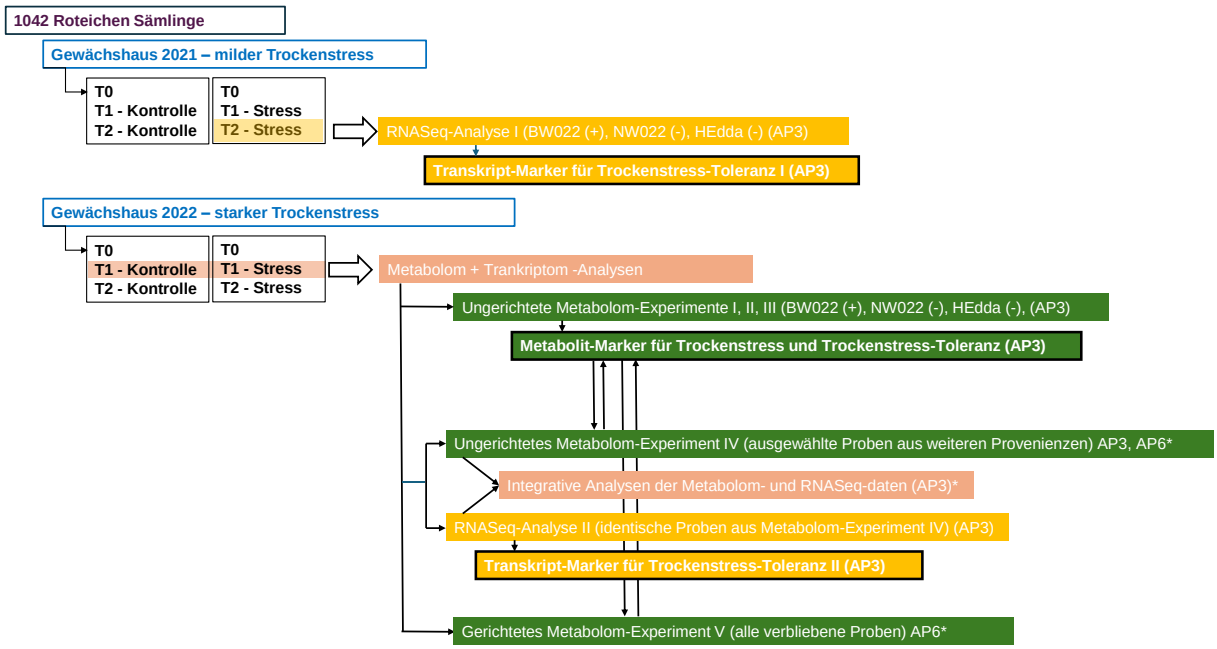


*Abbildung 2: Darstellung der Probenauswahl für Roteichenblätter des Gewächshausversuches 2021/22 für die (un)-gerichteten Metabolom (in grün) und Transkriptom-Analysen (gelb). *noch ausstehend. T0: Zeitpunkt 0. T1: 30 Tage TS, T2: 52 (2021) bzw. 60 Tage (2022) TS.*

Für die **Transkriptom-Analysen** wurden zunächst mehrere Gesamt-RNA-Extraktionsmethoden an Blattproben von Roteichen-Sämlingen getestet. Anschließend wurden zwei RNASeq-Experimente von ausgewählten Proben des ersten und des zweiten Wachstums-Experimentes (2021 und 2022) durchgeführt. Dazu wurden von hinsichtlich ihrer TS-Toleranz ausgewählten Blattproben unterschiedlicher Herkünfte Gesamt-RNA isoliert und entsprechende cDNA-Bibliotheken bei Fa. Novogene erstellt und sequenziert. Durch einen Abgleich der erhaltenen Sequenzen mit dem Referenzgenom (Qrubra_687_v2.0, freundlicherweise von Partner GOE-FG zur Verfügung gestellt) wurden diesen Funktionen zugeordnet und statistische Verfahren genutzt, um differentiell exprimierte Gene zu identifizierten und diese als „TS-tolerant“ und „TS-anfällig“ zu klassifizieren.

Ziel des **ersten Transkriptom-Experimentes** (RNASeq-Analyse I, T2-Proben, BW022 (+), NW022 (-), HEdda (-), 2021, 52 Tage moderater TS, Abbildung 2)) war es, den weiteren Workflow zu etablieren und erste Transkript-Marker für TS-Toleranz zu identifizieren, die bereits zu einem frühen Zeitpunkt eine Differenzierung von TS-anfälligen bzw. -toleranten Sämlingen erlauben. Auch wurden die Expressionsdaten zwischen den einzelnen Herkünften ohne Berücksichtigung der TS-Toleranz verglichen und weitere interessante Kandidaten identifiziert. Eine herkunftsunabhängige Datenanalyse von Experiment 1 ergab 1.129 differentiell exprimierte Gene, die eine erhöhte bzw. erniedrigte Expression in TS-anfälligen vs. TS-toleranten Roteichen-Sämlingen der zunächst drei ausgewählten Herkünfte aufweisen ($p \leq 0.05$). **In einem weiteren Transkriptom-Experiment** (RNASeq – II) wurden ausgewählte Blattproben weiterer Provenienzen (T1, Wachstumsexperiment 2022, 30 Tage starker TS) untersucht. Im Gegensatz zum vorherigen Experiment umfasste dieses Experiment auch Proben aus der Kontrollgruppe (kein TS), so dass hier zusätzlich zu den differentiell exprimierten Genen, welche eine signifikant erhöhte (3678) bzw. erniedrigte Expression (3766) in TS-toleranten vs. TS-anfälligen Roteichen-Sämlingen aufweisen ($p \leq 0.05$) auch solche identifiziert werden konnten, deren Expression *per se* durch TS reguliert werden (hochreguliert in Kontrollen: 3538 bzw. in gestressten: 4100; $p \leq 0.05$).

Der für die RNASeq-Analyse II ausgewählte identische Probensatz wurde in einem parallelen Metabolom-Experiment IV analysiert (Abbildung 2). Dieser steht nun ebenso für ungerichtete, als auch gerichtete Auswertungen auf Basis der zuvor identifizierten Metabolit-Marker zur Verfügung. Es ist sehr gut möglich, dass eine ungerichtete Auswertung hier noch weitere, interessante Marker-Metabolite generiert. Insbesondere steht dieser Datensatz nun auch für die integrative Analyse der Metabolome und Transkriptome mittels der von uns

entwickelten Software „MarVis“ (marvis.gobics.de) (Abbildung 1) zur Verfügung. Auf diese Weise kann die Aussagekraft und die Zuverlässigkeit der Analyse noch einmal deutlich erhöht werden (Kaever et al., 2015). Diese abschließende Auswertung konnte jedoch aus Zeitgründen noch nicht wie geplant durchgeführt werden.

Literatur

Kaever, A., Landesfeind, M., Feussner, K., Mosblech, A., Heilmann, I., Morgenstern, B., Feussner, I., and Meinicke, P. (2015). MarVis-Pathway: integrative and exploratory pathway analysis of non-targeted metabolomics data. Metabolomics 11, 764-777.

Arbeitspaket 4: DNA-Isolierung, Quantifizierung und Qualitätskontrolle (UGOE-FG)

Die DNA-Isolierung mittels des DNeasy Plant Mini kits (ca. 600 hochwertige und quantitative DNA-Proben für RADseq) und des DNeasy96 Plant kits (ca. 1.000 DNA-Proben für MassArray) von Qiagen ist abgeschlossen. DNA-Proben wurden bis zum Versand (RADseq, AP 5) oder bis zur DNA-Genotypisierung (AP 8) bei -20 °C gelagert.

Arbeitspaket 5: Genomweite Sequenzierung (RADseq) und Assoziationskartierung (UGOE-FG)

Die DNA-Sequenzierung (ddRADseq) wurde für die genomweite Genotypisierung von 465 Sämlingen aus dem Trockenstressexperiment und von 144 Referenzproben aus dem natürlichen Herkunftsgebiet der Roteiche in Nordamerika eingesetzt. Dazu ist eigens eine große und qualitativ hochwertige Sequenzdatenbank erstellt worden. Diese bietet wertvolle Einblicke in die genetische Variation, die für die Anpassung an Trockenstress relevant ist.

Außerdem wurde die Assoziation von SNP-Markern mit dem Phänotyp, der Wuchsleistung und der Trockenstresstoleranz mithilfe verschiedener Modelle untersucht. Zusätzlich wurden Outlier-Analysen durchgeführt, um SNPs unter divergierender Selektion zwischen den Herkünften zu identifizieren. Vorläufige Ergebnisse mit pcadapt v4.3.5 ergaben 639 potenzielle SNPs.

Arbeitspaket 6: Etablierung und Durchführung gerichteter Analysen für ausgewählte trockenstressassoziierte Metabolit- und Transkriptmarker (UGOE-BP)

Gerichtete sowie ungerichtete Metabolit-Analysen (*Metabolite Profiling* und *Metabolite Fingerprinting*) erlauben eine umfassende Charakterisierung des Metaboloms von Organismen. Während bei ungerichteten Analysen der Fokus auf der Identifizierung von Markern liegt, zeichnen sich gerichtete Analysen dadurch aus, dass hier gezielt bereits bekannte oder zuvor ermittelte Marker auch absolut quantifiziert werden können. Dadurch ergeben sich folgende Vorteile, welche insbesondere bei einem großen Probenset von entscheidender Bedeutung sind: Die stark verringerte geringere Anzahl von Metaboliten erlaubt eine höhere Sensitivität sowie eine sehr viel kürzere Messzeit. Weiterhin gewährleistet der Einsatz von isotopenmarkierten Standards eine eindeutige Identifizierung und absolute Quantifizierung der Signale. Insbesondere die Datenanalyse ist aufgrund der vordefinierten Marker-Listen extrem vereinfacht und schneller.

Ziel von AP6 war es, von allen 521 Sämlingen der TS-Gruppe gerichtete Metabolit-Analysen für bereits in der Literatur beschriebene, sowie in AP3 neu identifizierte Metabolit-Marker durchzuführen. Perspektivisch gesehen könnten Metabolit- und Transkript-Marker langfristig eine Plusbaumauslese unterstützen. Zur Identifizierung genetischer Marker wurden in einem parallelen Ansatz von UGOE-FG für den gleichen Probensatz (Kontroll- und TS-Gruppen) genomweite SNP-Daten für Assoziationsstudien zwischen SNPs und den verschiedensten Phänotypen (AP8) sowie den gerichteten Metabolit-Analysen generiert.

Herkunftsspezifische Profile Für die Identifizierung möglicher Metabolit-Marker wurden in AP3 zunächst drei Herkünfte ausgewählt, welche sich in ihrer TS-Toleranz unterscheiden (BW022 (+), NW022 (-), HEdda (-). Um zu analysieren, in wieweit die Herkünfte im Metabolom übereinstimmen bzw. differenzieren, wurden die in AP3 ungerichtet aufgenommenen Daten der TS-toleranten Sämlinge aus dem Metabolom-Experiment III auch gerichtet ausgewertet. Es konnte gezeigt werden, dass die ausgewählten Herkünfte vor allem im spezialisierten Stoffwechsel (Phenole) unterscheiden.

Bereits in der Literatur beschriebene Marker: Es ist bekannt, dass bei Pflanzen die Anpassung an Wassermangel über das Hormon ABA vermittelt wird und einerseits zu einer Repression der Photosynthese und andererseits zu einer Anreicherung von Zuckern, kompatiblen Soluten (z. B. Prolin) und Schutzproteinen führt (Schraml and Rennenberg, 2002; Kersten et al., 2013). Daher wurden für die gerichteten Analysen der TS-Marker ABA und auf Vorschlag unseres Kooperationspartners Dr. Ralf Kätzel (Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde) Prolin eine auf isotopenmarkierte Standards basierende quantitative LC-MS-Methode an die spezifische Matrix (Blätter von Roteichen-Sämlingen) angepasst, optimiert und zunächst für die kleineren Probensets (Metabolom-Experimente I-III) genutzt.

In AP3 neu identifizierte Metabolit-Marker: Durch drei ungerichteten Metabolom-Analysen wurden in AP3 ca. 30 Metabolit-Marker der kontrastierenden Herkünfte (BW022 (+), HEdda (-) und BW022 (-)) für TS bei Roteiche identifiziert. Diese wurden vor allem anhand des umfangreichen Datensatzes des dritten Metabolom-Experimentes, welches mittels Flüssigkeitschromatographie gekoppelt an hochauflösende Massenspektrometrie im *full-scan*-mode für positive und negative Ionisierung vermessen wurde, ermittelt bzw. validiert und stehen nun für die gerichtete Auswertungen in Bezug auf die TS-assoziierten Marker-Kandidaten zur Verfügung.

Die einjährige Verzögerung in AP3 (Identifizierung von TS-assoziierten Markern, bedingt durch die notwendige Wiederholung des ersten Wachstumsexperimentes) jedoch beeinflusste den Start der Analysen in AP6. Somit noch ausstehend sind die gerichtete Auswertung des Metabolom-Experimentes IV sowie die Analyse (Messung + gerichtete Auswertung) des Metabolom Experimentes V der ca. 360 verbliebenen Blattproben. Die hierfür erforderliche Extraktion des schockgefrorenen und lyophilisierten Blattmaterials aller übrigen Provenienzen des Gewächshausversuches wurde im Projektjahr 2024 durchgeführt, die Analyse und Auswertung waren jedoch aus Zeitgründen nicht mehr möglich.

Literatur

Schraml, C., and Rennenberg, H. (2002). Ökotypen der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zeigen unterschiedliche Reaktionen auf Trockenstreß. Forstwissenschaftliches Centralblatt vereinigt mit Tharandter forstliches Jahrbuch 121, 59-72.

Kersten, B., Ghirardo, A., Schnitzler, J.-P., Kanawati, B., Schmitt-Kopplin, P., Fladung, M., and Schroeder, H. (2013). Integrated transcriptomics and metabolomics decipher differences in the resistance of pedunculate oak to the herbivore *Tortrix viridana* L. BMC Genomics 14, 737.

Arbeitspaket 8: SNP-Analysen für signifikant assoziierte Gene (UGOE-FG)

Auf Basis der ersten Assoziationsanalysen sollen SNPs in Trockenstress-Kandidatengenen (AP 6) für einen SNP-Array identifiziert werden. Ein zweiter SNP-Array wurde basierend auf einem dendrogenomischen Ansatz entwickelt, der ein Machine-Learning-Modell zur Vorhersage des jährlichen Jahrringwachstums über die letzten 40 Jahre im Roteichen-Herkunftsversuch nutzte. Diese SNPs wurden im UGOE-FG Gewächshausversuch (521 Sämlinge, AP2), im Herkunftsversuch (579 Altbäume, AP7), und bei den Plusbäumen (358 Proben, AP16) mit Hilfe des MassArray-Systems charakterisiert.

Arbeitspaket 11: Zwischenberichte, Schlussbericht, Vorstellung von Ergebnissen in Fachzeitschriften und auf Tagungen (UGOE-FG)

Die Zwischenberichte sowie der vorliegende Endbericht wurden fristgerecht abgeliefert. Die bisherigen Ergebnisse wurden bei diversen Veranstaltungen vorgestellt sowie in praxisorientierten und wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert. Eine vollständige Auflistung ist unter AP 20 zu finden. Weitere Veröffentlichungen befinden sich in Arbeit.

Teilverbund B

Arbeitspaket 12: Festlegung von Zuchtzonen

Ursprünglich sollte untersucht werden, ob eine Einteilung des Bundesgebiets in Zuchtzonen sinnvoll ist. Aus praktischen Gründen war vorgesehen, das Land in zwei verschiedene Zuchtzonen aufzuteilen. Aufgrund eines Mangels an wissenschaftlich fundierten Daten ist von dieser Einteilung abgesehen worden. Die Roteiche ist eine in Deutschland eingeführte Art, wobei die meisten Bestände, aus denen Proben für die Analysen entnommen wurden, relativ jung sind. Grundsätzlich besteht die überwiegende Mehrheit der vorzufindenden Roteichen-Bestände aus Individuen der ersten oder zweiten Generation. Daher kann bislang noch nicht von weitreichenden Anpassungsprozessen in Deutschland ausgegangen werden. Zudem wurden die weiteren im Projektverlauf erzielten Ergebnisse berücksichtigt. So zeigt die haplotypische Zusammensetzung aus AP 16, dass der überwiegende Teil der untersuchten Individuen aus dem nordöstlichen Bereich des natürlichen Verbreitungsgebietes der Roteiche in Nordamerika stammt. Jedoch gibt es keine Hinweise darauf, dass Saatgut aus einer bestimmten Region des natürlichen Verbreitungsgebietes geographisch bestimmten Regionen in Deutschland zugeordnet wurde. Darüber hinaus wurde auch keine signifikante standörtliche Differenzierung der physiologischen Parameter (AP 17) beobachtet. Aus den genannten Gründen wurde beschlossen, eine abschließende Zuchtzoneneinteilung vorerst aufzuschieben. Diese kann vorgenommen werden, sobald standortbedingte Leistungs- oder Anpassungsunterschiede beobachtet werden können.

Arbeitspaket 13: Festlegung von Ausgangspopulationen

Als Ausgangspopulationen wurden aus den Roteichbeständen zur Zuchtzonenfestlegung solche ausgewählt, welche einerseits aus qualitativer Sicht und andererseits aus Sicht der Klimaanpassung gutes Ausgangsmaterial für Samenplantagen liefern können. Um in der Samenplantage eine hohe Anpassungsfähigkeit an eine Vielzahl von Standorten zu erhalten, wurden die Ausgangspopulationen aus einer hohen Vielfalt an Standorten ausgewählt (White et al., 2007). Problematisch war in diesem Fall die Vergleichbarkeit der einzelnen Bestände. Jedes Bundesland verfügt über eigene Daten im jeweiligen Zuständigkeitsbereich, welche mit z.T. erheblichen Unterschieden im methodischen Vorgehen erhoben worden sind. Zwischen den Projektpartnern wurde vereinbart, im jeweiligen Zuständigkeitsbereich möglichst darauf zu achten, dass das gesamte standörtliche Spektrum abgedeckt wird und die Bestände homogen verteilt sind. Auch die Einhaltung gewisser Mindestkriterien entsprechend der Anforderungen an die Plusbäume wurde vorausgesetzt. Bei der Auswahl sollten bereits zugelassene Erntebestände aufgrund der guten qualitativen Eigenschaften der dortigen Bäume priorisiert werden. Insgesamt wurden schließlich 101 Bestände als Ausgangspopulationen zur Massenauslese berücksichtigt, wobei diese Anzahl aufgrund logistischer Aspekte für AP 15 später nochmals geringfügig reduziert worden ist.

Die Aufnahmebögen aller Partner wurden zusammengeführt und anhand der Koordinaten für jeden Bestand Daten zum Standortwasserhaushalt im effektiven Wurzelraum erhoben. Für die Berechnung der Standortwasserbilanz wurden die Daten des Deutschen Wetterdienstes zu Niederschlag und Evapotranspiration der Normalperiode 1991 bis 2020 und die Daten der Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe zur nutzbaren Feldkapazität (BGR, 2022) verwendet.

Literatur

BGR, Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe (2022): Nutzbare Feldkapazität im effektiven Wurzelraum in Deutschland Karte: https://produktcenter.bgr.de/terraCatalog/OpenSearch.do?search=3E80DA1A-A9A7-45A3-9CC7-79796FE9ABA4&type=/Query/OpenSearch.do (zuletzt zugegriffen am 04.01.2022).

White, T.L.; Adams, W.T.; Neale, D.B. 2007: Forest Genetics. CABI publishing. Cambridge, Massachussets, USA. 682 S.

Arbeitspaket 14: Massenauslese (Plusbaumauslese)

Für die Auswahl der phänotypisch herausragenden Roteichen wurde anhand von Forsteinrichtungsdaten die Anzahl der Plusbäume je Bundesland proportional zur absoluten Roteichenfläche der Bundesländer festgelegt. Zusätzlich erfolgte eine gleichmäßige Verteilung über die Standortswasserbilanz. Um eine breite geneti-

sche Basis sicherzustellen, wurden in vielen, räumlich voneinander getrennten Vorkommen wenige Plusbäume pro ausgewähltem Bestand gesucht. Eine maximale Plusbaumanzahl pro Bestand wurde nicht festgelegt. Da über die genetischen Voraussetzungen der im Arbeitspaket 13 ausgewählten Bestände (Ausgangspopulationen) i.d.R. nichts bekannt war, konnten die Plusbäume nur anhand phänotypischer Merkmale ausgewählt werden. Die Auslese erfolgte mittels eines im Projektverbund erarbeiteten Aufnahmeformulars (inkl. Handlungsanweisung), das die wichtigsten phänotypischen Merkmale enthielt. Dazu gehörten Qualitäts- (z.B.

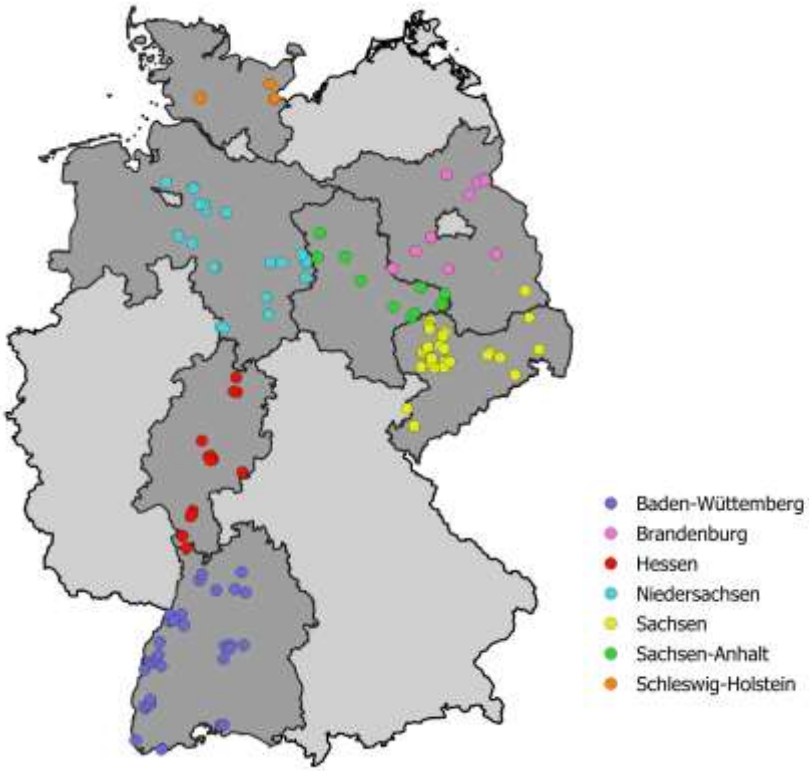


Abbildung 3: Verteilung der Roteichen-Plusbäume und Plusbaumkandidaten nach Bundesland.

Geradschaftigkeit oder Drehwuchs) und Leistungsparameter (Baumhöhe & Brusthöhendurchmesser). Zusätzlich wurde die Vitalität der Bäume im Verhältnis zum Bestandeskollektiv anhand der Kronenmorphologie nach Roloff (2016) eingeschätzt. Das Hauptaugenmerk bei der Plusbaumauswahl lag auf Qualität und Vitalität, während die Wuchsleistung geringer gewichtet wurde. Um für AP 15 im Falle von Ausfällen oder Fehlmasten auf eine ausreichende Anzahl an Plusbäumen zurückgreifen zu können, wurden zusätzliche Plusbaumkandidaten kartiert. Sofern es möglich war, wurden die Plusbaumkandidaten zusätzlich in den Ausgangspopulationen ausgewählt. Gegebenenfalls wurden weitere Bestände aus dem Kollektiv der vorhandenen Ausgangspopulationen angefahren. Die ausgewählten Bäume wurden im Gelände markiert und die erfassten Koordinaten in ein Geoinformationssystem eingepflegt. Insgesamt wurden 200 Plusbäume und 256 Plusbaumkandidaten in den sieben Bundesländern des Teilverbundes B ausgewählt. Deren räumliche Verteilung ist in Abbildung 3 dargestellt. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Anzahl der ausgewählten Plusbäume und Kandidaten sowie deren wichtigste Kenngrößen. Das durchschnittliche Alter der Plusbäume lag bei 73,7 Jahren, die durchschnittliche Baumhöhe bei 29,8 m und der durchschnittliche Brusthöhendurchmesser (BHD) bei 49,4 cm.

Tabelle 2: Ausgelesene Plusbäume (PB) und Plusbaumkandidaten je Projektpartner und Bundesland sowie deren wichtigste Kenngrößen (BHD=Brusthöhendurchmesser).

Projekt-partner	Bundes-land	Anzahl Pb	Anzahl Pb-Kandidaten	Ø Alter [Jahre]	Ø Baum-höhe [m]	Ø BHD [cm]
FVA-BW	BW	100	93	77	35,4	66,1
NW-FVA	HE	15	32	90	33,2	58,7
	NI	16	41	75	29,2	54,0
	ST	14	7	55	26,6	33,7
	SH	5	4	67	28,4	42,8
SBS	SN	35	39	74	27,4	44,7
LFE	BB	15	40	78	28,4	46,1
Gesamt		**200**	**256**	**73,7**	**29,8**	**49,4**

Literatur

Roloff, A. 2016: Wie verläuft der Alterungsprozess bei Bäumen - und welche Folgen hat das für die Vitalitäts-Interpretation? ProBaum 3: 2-6.

Arbeitspaket 15: Ernte von Absaaten und Pfropfreiser der Plusbäume

Ernte von Absaaten

Für Herbst 2022 fielen die Einschätzungen zum tatsächlichen Erntebehang bei Roteiche anhand verschiedener Informationsquellen (Rückmeldung der Forstämter, Revierleiter und Darren, Bereisung durch Projektbeteiligte/-partner und Kollegen) äußerst schlecht aus. Es zeigte sich eine länderübergreifende geringe Mast (Eichelbehang), wobei es lokale Unterschiede in der Menge sowie der Qualität des Saatgutes gab. Daher wurde mit gemeinsamem Beschluss vom 04.10.2022 im Teilverbund B die für den Herbst 2022 geplante Ernte von Roteichensaatgut in vielen Landesteilen abgesagt und auf 2023 verschoben. Lediglich in 14 Beständen in Baden-Württemberg konnten 135 kg Saatgut von 33 Plusbäumen gesammelt und nach erfolgter Thermotherapie eingelagert werden.
Das benötigte Saatgut für den Trockenstressversuch des Projektpartners SBS (AP 17) konnte trotz lokaler Schwierigkeiten gesammelt werden, wobei z.T. auf die vorab ausgewählten Plusbaumkandidaten ausgewichen werden musste. Schlussendlich wurden im Jahr 2022 zwischen 76 und 342 Eicheln an 54 ausgewählten Plusbäumen gesammelt.

Im Herbst 2023 konnte die Saatguternte der kartierten Roteichen mit einjähriger Verzögerung weitgehend durchgeführt werden. Die Saatgutverfügbarkeit war sowohl zwischen als auch innerhalb der Zuständigkeitsbereiche der beteiligten Projektpartner erneut sehr unterschiedlich. In vielen Beständen konnte das benötigte Saatgut von den Plusbäumen geerntet werden, während in anderen Beständen z.T. auf die vorab ausgewählten Plusbaumkandidaten zurückgegriffen werden musste. In einigen Regionen war die Fruktifikation der Plusbäume und Plusbaumkandidaten generell auf einem niedrigen Niveau, weshalb dort nur geringe Saatgutmengen geerntet werden konnten. Hinzu kamen einige wenige Bestände mit einer vollständigen Fehlmast. Trotz dieser Umstände wurde im Herbst 2023 von 200 kartierten Roteichen insgesamt rund 800 kg Saatgut gewonnen. In Tabelle 3 sind die Gesamterntemengen aus den Jahren 2022 und 2023 für die einzelnen Bundesländer aufgeführt.

Tabelle 3: Berücksichtigte Roteichen bei der Saatguternte 2022 und 2023 sowie die Menge an gewonnenem Saatgut. Angegeben ist das Gesamtgewicht der eingelagerten Roteicheln, d.h. es ist auch das teils aufbewahrte abgeschwemmte Saatgut mitinbegriffen. An der FVA-BW wurde aufgrund der in 2022 und 2023 durchgeführten Saatguternte im Folgenden nicht mehr strikt nach Plusbaum und Plusbaumkandidat unterschieden.

Projekt-partner	Bundesland	Anzahl beernteter Plusbäume	Anzahl beernteter Plusbaum-Kandidaten	Gesamtzahl	Erntemenge [kg]
FVA-BW	BW	-	-	105	690,0
NW-FVA	HE	11	0	11	10,5
	NI	15	3	18	10,9
	ST	14	1	15	17,7
	SH	5	0	5	1,3
SBS	SN	22	17	39	137,4
LFE	BB	14	1	15	62,1
Gesamt		**153**	**47**	**200**	**929,9**

Bei der Ernte kamen die beiden Ernteverfahren „Schütteltechnik“ und „Handsammlung vom Boden“ zum Einsatz, die teils miteinander kombiniert wurden. Bei der Schütteltechnik (Abbildung 4) wurden die einzelnen Roteichen mittels eines in die Krone geschossenen Seiles geschüttelt und die Eicheln auf Planen aufgefangen. Bei der Handsammlung wurde das Saatgut direkt händisch am Boden gesammelt, sofern die Eicheln aufgrund von Form, Farbe und/oder Größe dem Plusbaum bzw. dem Plusbaumkandidaten zugeordnet werden konnten. Die Schütteltechnik wurde bevorzugt angewandt, da hierbei die eindeutige Zuordnung zur jeweiligen Roteiche vollumfänglich gewährleistet war. Bei der Handsammlung wurden im Zweifelsfall zuerst Eicheln als Referenzprobe aus dem Kronenbereich geschüttelt.

Mittels einer Schwimmprobe wurden stark verwurmte, hohlkernige oder verpilzte Eicheln aussortiert. Bei untergegangenen Eicheln war von einer hohen Keimfähigkeit auszugehen. Die Eicheln wurden anschließend verwogen und das Tausendkorngewicht wurde ermittelt. Bei Roteichen mit unzureichender Saatgutmenge wurde, sofern vorhanden, zusätzlich das abgeschwemmte Saatgut als Reserve aufbewahrt. Auch bei diesen Eicheln war von einer gewissen, jedoch deutlich geringeren Keimungsrate auszugehen. Das Saatgut wurde bis zur Aussaat im Frühjahr 2024 an der Staatsklenge Nagold (FVA-BW) und der Darre der Niedersächsischen Landesforste (NW-FVA) gelagert.

Abbildung 4: Ernte 2023 von Plusbaumnachkommenschaften. A: Ast mit Roteichen-Eicheln; B: Anhäufung von Eicheln verschiedener Mutterbäume, erkennbar an der unterschiedlichen Form und Farbe; C: Saatgutgewinnung mittels Schüttel-technik (Fotos: SBS).

Ernte von Pfropfreisern

Im 1. Quartal 2023 wurden mittels Auftragsvergaben an Baumkletterer Reiser von 224 kartierten Roteichen gewonnen (Abbildung 5). Die Organisation der Reiserernten lag bei FVA-BW, NW-FVA und SBS. Geerntet wurden ca. 45 Reiser je Roteiche aus dem zweijährigen Holz der Lichtkrone. Die Reiser waren ca. 6-8 mm stark und ca. 20 cm lang. Bereits Krahl-Urban & Pott (1955) erzielten beste Pfropfergebnisse mit zwei- bis dreijährigen Reisern dieser Stärkeklasse. Die Reiser wurden bis zur Veredelung bei 2 °C in den Kühlhäusern von FVA-BW und NW-FVA zwischengelagert. Eine Ausnahme bildeten die vom Staatsbetrieb Sachsenforst geernteten Reiser. Diese wurden direkt nach der Ernte beim SBS in Graupa in nasse Baumwolltücher gewickelt, in Gefrierbeutel verpackt und im gefrorenen Zustand an die NW-FVA versandt.

Im 1. Quartal 2024 wurden in Brandenburg erneut zwei Plusbäume sowie ein Plusbaumkandidat für Nachveredelungen an der NW-FVA beerntet. Gleichzeitig erfolgte in Baden-Württemberg eine zusätzliche Reiserernte an 53 Bäumen, wobei teilweise Roteichen angefahren wurden, die 2023 mit zu geringem Anwuchserfolg veredelt worden waren.

Abbildung 5: Baumkletterer gewinnen Reiser aus der Lichtkrone (Foto: NW FVA).

Aufnahme und Auswertung eines Herkunftsversuchs in Schleswig-Holstein

Aufgrund der verschobenen Saatguternte und der damit ausgefallenen Arbeiten im Jahr 2022 wurde an der NW-FVA als Ersatz die Datenaufnahme in einem abgeschlossenen Roteichen-Herkunftsversuch (HKV) in Schleswig-Holstein bei Kropp geplant (Aktenzeichen: 22.221.003, Anlagejahr 1990). Da in diesem Herkunftsversuch zum Teil dieselben Herkünfte wie in den durch das Thünen-Institut untersuchten Versuchen angebaut wurden, wurde diese Arbeit als sinnvolle Ergänzung gesehen. Die Planung dazu erfolgte im Winter 2022/2023. Um die späteren Ergebnisse der Versuchsherkünfte vergleichen zu können, wurde die Art der Versuchsaufnahme mit Jonathan Kormann vom Projektpartner Thünen-Institut abgesprochen.

Die Aufnahme im März/April 2023 gestaltete sich aufgrund der örtlichen Begebenheiten aufwendiger als erwartet. Eine Vollaufnahme konnte aufgrund der inhomogenen Versuchsanlage nicht durchgeführt werden. Vielfach existierte nur eine Parzelle pro Prüfglied (PG) im gesamten HKV und die Parzellengröße und somit

die Pflanzenzahl je Teilversuch (TV1: 90 Pflanzen/Parzelle, TV2: 50 Pflanzen/Parzelle, TV3: 32 Pflanzen/Parzelle) variierte (Vgl. Abbildung 6). Um den Aufwand angemessen zu halten wurde die gleiche Pflanzenanzahl pro PG aufgenommen. Prüfglieder, die nicht in den Herkunftsversuchen des Thünen-Institutes auftreten, wurden aufgrund fehlender Vergleichbarkeit nicht aufgenommen. Auf der Fläche war die Rekonstruktion aufgrund nicht korrekt eingehaltener Abstände und Pflanzplätze in Teilen schwierig. Erschwert wurde die Aufnahme durch hohe Ausfallraten in einigen Parzellen sowie durch im Vorfeld erfolgte Durchforstungsmaßnahmen und die Anlage von Rückegassen. Es wurden folgende Parameter aufgenommen: Aktenzeichen, Datum, Teilversuch, Parzellen-Nummer, Prüfglied-Nummer, Reihe, Pflanzplatz, Vorhandensein, Brusthöhendurchmesser, Kraftsche Klasse, Geradschaftigkeit, Wipfelschäftigkeit, Steilast, Wasserreiser, Drehwuchs, Grad der Schäden und Art des Schadens.

Die Visualisierung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm R. Die Auswertung gestaltete sich aufgrund des inhomogenen Datensatzes als schwierig. Bei der Auswertung wurden Unterschiede hinsichtlich Wuchsleistung und Form von deutschen (Bornheim, Standard Kottenforst), US-amerikanischen (Clay Big Stamp Tusquitee, Dekalb Auburn, Fannin, Madison Anderson, Rabun 121, Steuben Angola, Sullivan Elizabethton, Transylvania Bennet Gap Pisgah) und kanadischen Herkünften (Brant Cambridge, Chatham, Elgin Aylmer, Gatineau Plaines de Kazabazua, Hastings Carlow, Middle Sex Aylmer, Niagara Point Abino, Niagara Ridgeway, Niagara Turner's Cor, Ottawa Carleton Torbolton, Renfrew Chalk River) betrachtet. Im Folgenden soll auf die Auswertung der Baumhöhen (Kraftsche Klassen 1-3) sowie der Geradschaftigkeit und Wipfelschäftigkeit eingegangen werden. Die Baumhöhe ist dabei ein geeignetes Maß für die Wuchsleistung der Roteichen. Statistische Unterschiede konnten aufgrund der zum Teil sehr geringen Stichprobengrößen und des inhomogenen Datensatzes nicht herausgearbeitet werden.

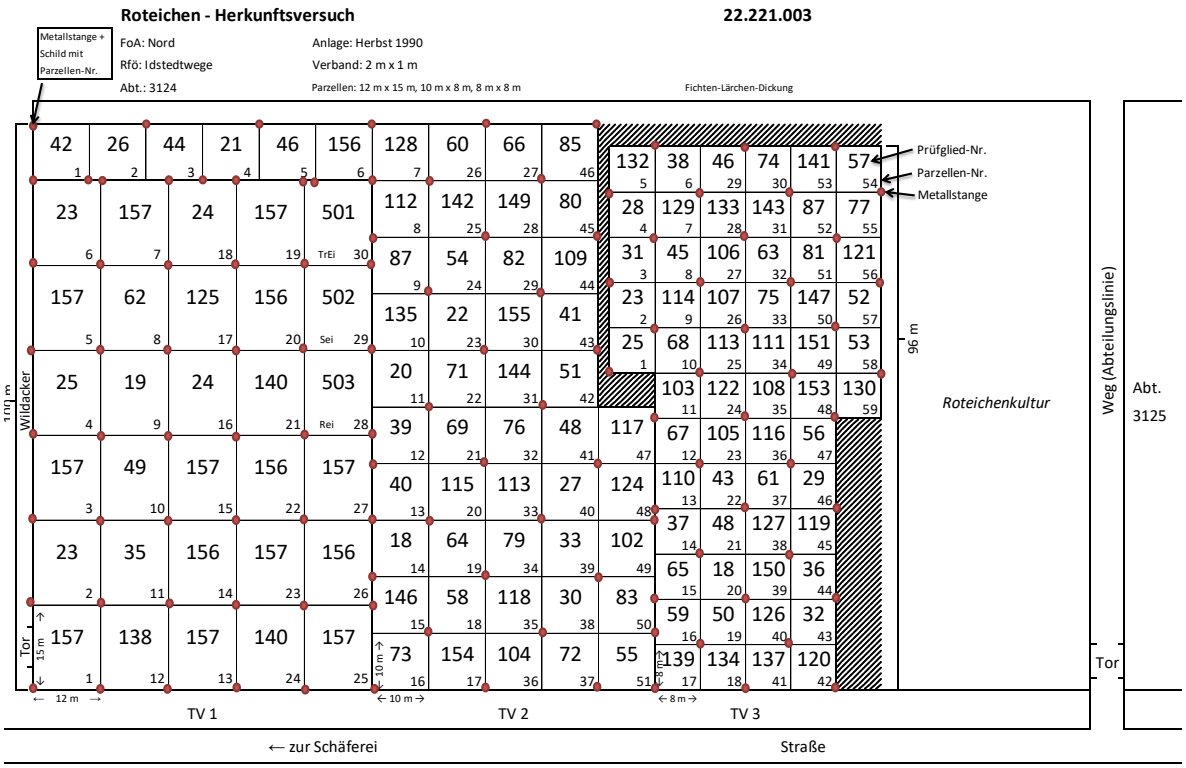


Abbildung 6: Flächenplan des Roteichen-Herkunftsversuchs 22.221.003 in Schleswig-Holstein.

Hinsichtlich der **Baumhöhen** (Abbildung 7) liegen die beiden deutschen Herkünfte auf einem hohen Niveau. Die US-amerikanischen Herkünfte zeigen deutlich geringere Höhenmittelwerte, wobei die Unterschiede zwischen den Herkünften gering sind. Die kanadischen Herkünfte zeigen tendenziell höhere Werte, allerdings sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Herkünften deutlich ausgeprägter. Die deutschen Herkünfte Standard Kottenforst (17,16 m) und Bornheim (16,7 m) und die kanadische Herkunft Niagara Point Abino (16,4 m) zeigen die größten Baumhöhen. Am schlechtesten schneiden die US-amerikanischen Herkünfte Middle Sex Aylmer (13,7 m), Clay Big Stamp Tusquitee (13,4 m) und Transylvania Bennet Gap Pisgah (13,1 m) ab. Damit weisen die deutschen Herkünfte im Mittel eine deutliche Überlegenheit hinsichtlich der Wuchsleistung im Vergleich zu den kanadischen und US-amerikanischen Herkünften auf.

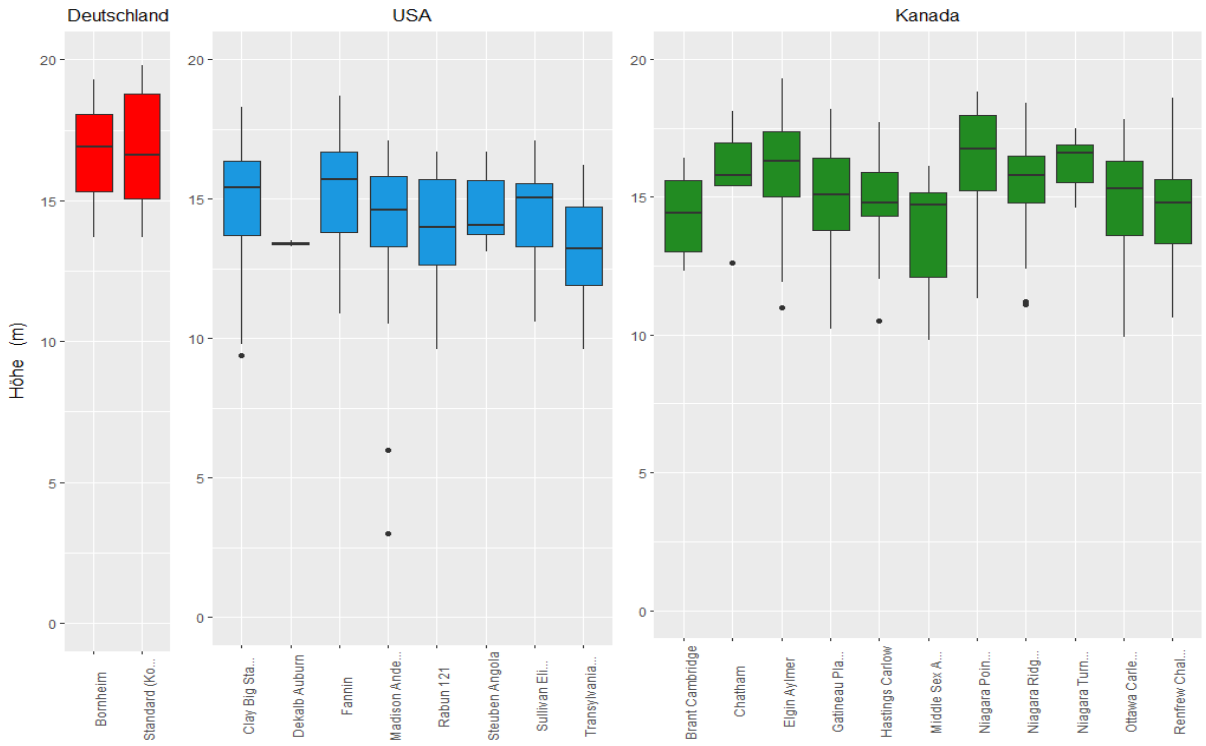


Abbildung 7: Mittlere Baumhöhen (m) je Herkunft.

Bei Betrachtung der einzelnen Herkünfte hinsichtlich ihrer **Geradschaftigkeit** sind die Unterschiede nicht so deutlich (Abbildung 8). Die geradschaftigsten Bäume, d. h. Individuen, die keine oder nur geringe Bögen aufweisen, stammen aus den Herkünften Standard Kottenforst (Deutschland), Hastings Carlow (Kanada), Elgin Aylmer (USA) und Madison Anderson (USA). Besonders viele starke und sehr starke Bögen zeigen die Herkünfte Steuben Angola, Fannin, Sullivan Elizabethton und Transylvania Bennet Gap Pisgah (USA) sowie Niagara Point Abino und Renfrew Chalk River (Kanada). Auffällig sind die beiden Herkünfte Dekalb Auburn (USA) und Niagara Point Abino (Kanada). Erstere weist im Gegensatz zu allen anderen Herkünften ein sehr homogenes Wachstum auf (weder zweischnürig noch stark gekrümmt). Letztere hingegen weist nur Individuen auf, die mittlere bis sehr starke Bögen zeigen. Im direkten Vergleich zwischen den gemittelten Prozentwerten der Staaten weisen die deutschen Herkünfte die meisten der geradschaftigsten (zwei- und einschnürigen)

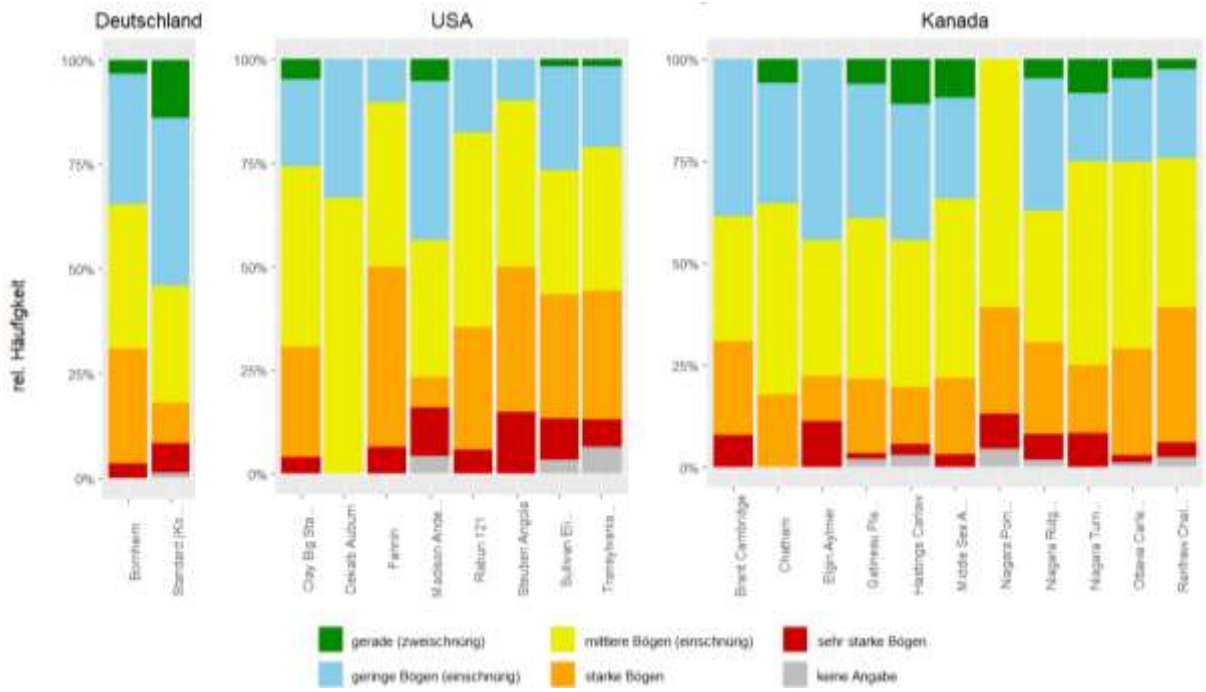


Abbildung 8: Prozentuale Anteile der Geradschaftigkeit (Klassen) je Herkunft.

Individuen auf, gefolgt von den kanadischen und letztlich den US-amerikanischen Herkünften. Individuen aus US-amerikanischen Herkunftsgebieten zeigen überdurchschnittlich starke und sehr starke Krümmungen. Im Durchschnitt schneiden die deutschen Herkünfte am besten ab.

Viele Herkünfte zeigen eine durchgehende **Wipfelschäftigkeit** bei mehr als 50 Prozent der betrachteten Individuen (Abbildung 9). Hervorzuheben ist die US-amerikanische Herkunft Dekalb Auburn, die ausschließlich wipfelschäftige Individuen aufweist. Aber auch die beiden deutschen Herkünfte Bornheim und Standard Kottenforst, die US-amerikanischen Herkünfte Steuben Angola und Transylvania Bennet Gap Pisgah sowie die kanadischen Herkünfte Brant Cambridge, Gatineau Plaines de Kazabazua, Hastings Carlow, Niagara Ridgeway und Ottawa Carleton Torbolton zeigen hohe Häufigkeiten an wipfelschäftigen Individuen. Bei einer durchschnittlichen Baumhöhe von 15 m im Alter von 33 Jahren können nur durchgehend wipfelschäftige Individuen als waldbaulich geeignet angesehen werden. Individuen mit einer Stammauflösung oder einem Zwiesel in 3/4 der Baumhöhe oder darunter sind als waldbaulich ungenügend anzusehen. Die höchsten Anteile qualitativ schlechter Individuen mit Stammauflösungen oder Zwieseln in < 3/4 der Baumhöhe weisen die Herkünfte Sullivan Elizabethton (USA), Chatham, Niagara Point Abino und Niagara Turner's Cor (Kanada) auf. Im Durchschnitt haben die deutschen Herkünfte den höchsten Anteil durchgehend wipfelschäftiger Individuen (ca. 65 %), während die US-amerikanischen und kanadischen Herkünfte etwas weniger wipfelschäftige Individuen (je ca. 55 %) aufweisen.

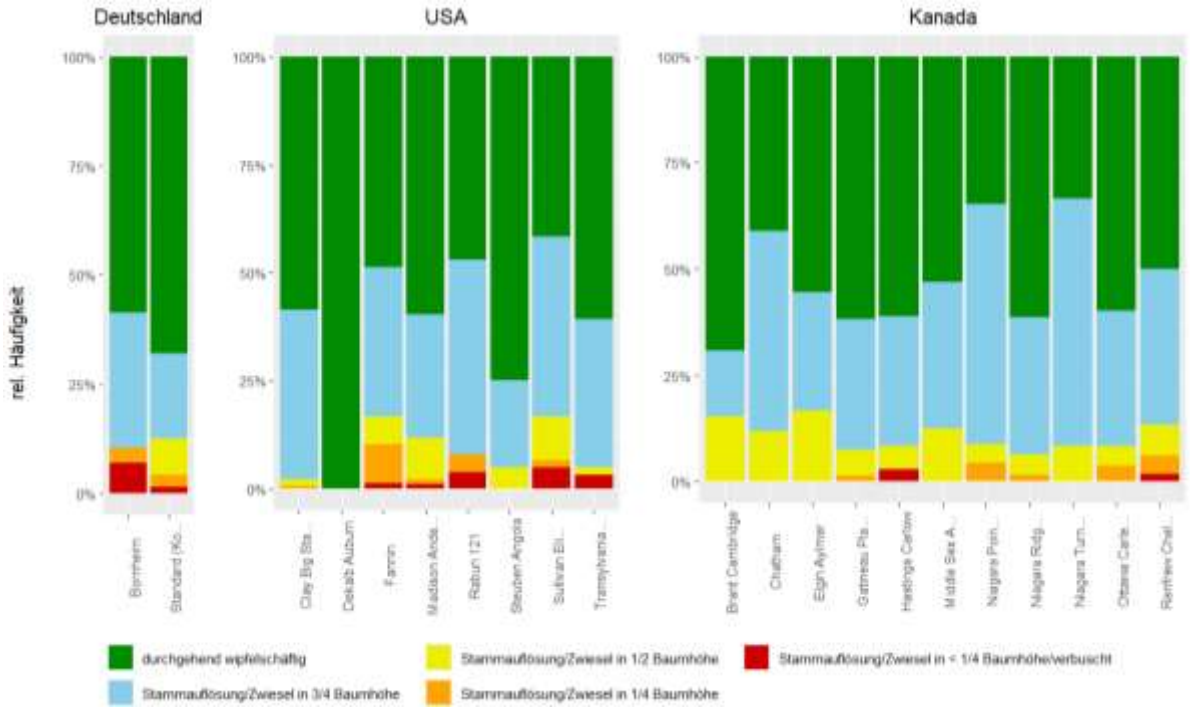


Abbildung 9: Prozentuale Anteile der Wipfelschäftigkeit (Klassen) je Herkunft.

Der Herkunftsversuch in Schleswig-Holstein wurde bereits 2008 von GÖCKEDE (2010) aufgenommen, der zu ähnlichen Ergebnissen kam. In seiner Arbeit schneidet die deutsche Herkunft Bornheim hinsichtlich der Baumhöhen am besten ab, gefolgt von einzelnen kanadischen Herkünften (Chatham, Hastings Carlow, Niagara Ridgeway, Niagara Turner's Cor und Gatineau Plaines de Kazabazua). Bereits 2008 zeigen die US-amerikanischen Herkünfte die schlechteste Höhenentwicklung. Hinsichtlich der Stammqualitäten (Wipfelschäftigkeit) schneiden bei GÖCKEDE (2010) die kanadischen Herkünfte am besten ab, während die US-amerikanischen Herkünfte Fannin und Sullivan Elizabethton die schlechtesten Qualitäten aufweisen. Die deutsche Herkunft Bornheim zeigt keine überdurchschnittliche Qualität.

Die Auswertungen decken sich ebenfalls mit Ergebnissen von Liesebach & Schneck (2011) und Kormann et. al (2023). Sowohl Liesebach & Schneck (2011) als auch Kormann et. al (2023) analysierten Daten einer Versuchsserie in Deutschland, bei der europäische, kanadische und US-amerikanische Roteichen-Herkünfte angepflanzt worden waren. Diese Herkünfte entsprechen vielfach den Herkünften der hier betrachteten Versuchsfläche, da die Flächen zum Teil mit demselben Ausgangsmaterial angelegt wurden. Es zeigen sich Unterschiede zwischen den einzelnen Herkünften sowohl hinsichtlich Wachstum als auch Qualität. Liesebach &

Schneck (2011) stellen fest, dass die meisten europäischen Herkünfte die nordamerikanischen in ihrer Wuchsleistung übertreffen. Es zeigen sich aber auch standörtliche Unterschiede. So ist die Herkunft Bornheim den nordamerikanischen Herkünften auf der Fläche Lübeck (Schleswig-Holstein) überlegen, auf der Fläche Wächtersbach (Südhessen) jedoch nicht. Die generell geringen Roteichen-Qualitäten auf den Versuchsflächen werden durch Liesebach & Schneck (2011) bestätigt. Hier schneiden ebenfalls die kanadischen Herkünfte besser ab als die US-amerikanischen. Bei Kormann et. al (2023) zeigen die deutschen und kanadischen Herkünfte deutlich bessere Wuchsleistungen und Stammformen als die US-amerikanischen Herkünfte. Standortsunterschiede haben dabei auf das Wachstum der Roteichen einen entscheidenden Einfluss.

Es lässt sich zusammenfassen, dass hinsichtlich der Wuchsleistung (Baumhöhe) die hier getesteten deutschen Herkünfte am besten abschneiden, gefolgt von den kanadischen (insbes. Niagara Point Abino) und schließlich den US-amerikanischen Herkünften. Bei der Stammqualität (Geradschaftigkeit und Wipfelschäftigkeit) zeigen insbes. die deutsche Herkunft Standard Kottenforst, aber auch einige US-amerikanische (z.B. Madison Anderson) und kanadische Herkünfte (z.B. Hastings Carlow) gute Werte. Am schlechtesten schneiden die US-amerikanischen Herkünfte Fannin und Sullivan Elizabethton ab. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Göckede (2010), Liesebach & Schneck (2011) und Kormann et. al (2023) lässt sich festhalten, dass die US-amerikanischen Herkünfte die schlechtesten Wuchseigenschaften aufweisen. Kanadische Herkünfte sind den US-amerikanischen Herkünften hinsichtlich Produktivität und Qualität überlegen. Die beiden deutschen Herkünfte scheinen im Wesentlichen die anderen Herkünften zu übertreffen, wobei eine pauschale Aussage aufgrund der geringen Stichprobengröße nicht möglich ist.

Literatur

Göckede, J., 2010. Wuchsleistungen verschiedener Roteichen-Herkünfte in Nordwest-Deutschland. Masterarbeit an der Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie der Georg-August Universität Göttingen. 69

Kormann JM, Liesebach M, Liepe KJ, (2023). „Provenances from introduced stands of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) outperform those from the natural distribution“. Forest Ecology and Management 531, 120803. doi: https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.120803

Krahl-Urban, J., & Pott, H. (1955): Erfahrungen bei Eichen-und Buchenpfropfungen. Zeitschrift für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, *4*, 58-64.

Liesebach, M., Schneck, V., 2011. Entwicklung von amerikanischen und europäischen Herkünften der Roteiche in Deutschland. Development of American and European provenances of northern red oak in Germany. Forstarchiv 9, 125–133.

Arbeitspaket 16: Molekulargenetische Untersuchung

In Deutschland verändert sich das Waldbild aufgrund der voranschreitenden Klimaänderungen. Deshalb liegt der Fokus fachlicher Diskussionen immer öfter auf Fragen, im welchem Maße alternative, und dabei vor allem nichtheimische, Baumarten als sinnvolle Ergänzung im Waldumbau unterstützend wirken können. Aufgrund fehlender Informationen über herkunftsspezifische Unterschiede bezüglich ihrer physiologischen und wachstumsspezifischen Eigenschaften und fehlender Herkunftsidentifikation wird der Einsatz dieser Arten häufig kritisch gesehen. Davon ist auch die Roteiche nicht ausgenommen.

Das Arbeitspaket 16 „Molekulargenetische Untersuchungen“ verfolgt das Ziel, auf Grundlage der Analyse von Genmarkern Informationen über die genetische Ausstattung der Roteiche in Deutschland zu gewinnen. Dabei geht es zum einen um die genauere Eingrenzung der Bereiche aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet in Nordamerika, die als Ursprung des nach Deutschland eingeführten Materials in Frage kommen. Zum Zweiten zielen die Untersuchungen auf die Schätzung des Ausmaßes und der Verteilung genetischer Variation in den hier entstandenen Waldbeständen. Parameter wie genetische Diversität und effektive Populationsgröße werden genutzt, um die genetische Struktur, die Gefahr von genetischer Verarmung durch Drift und letztlich die Eignung zur Gewinnung von genetisch hochwertigem, anpassungsfähigem Vermehrungsgut von Beständen und den im Rahmen des Projektes anzulegenden Samenplantagen zu bewerten.

Material und Methoden: Untersuchungsbestände und Marker

Das Arbeitspaket wurde von den Projektpartnern FVA-BW und SBS gemeinsam bearbeitet, wobei insgesamt rund 6.500 Einzelproben genetisch charakterisiert wurden (Abbildung 10):

- Plusbäume und Plusbaumkandidaten: ca. 500 Proben (FVA-BW)
- Referenzherkünfte: ca. 700 Proben (FVA-BW)
- Intensivbestände: ca. 2.600 Proben (FVA-BW)
- Ausgewählte Saatgutbestände: 1.600 Proben (SBS)
- Ausgewählte Plusbaum-Nachkommenschaften: ca. 1.100 Proben (SBS)

Aus den Einzelproben, die sich aus Blättern, Knospen oder Eicheln zusammensetzten, wurde anteilig in beiden Labors die DNA-Extraktion mit dem jeweils üblichen Verfahren durchgeführt. Für die anschließende Genotypisierung wurden im Rahmen eines Ringversuchs mit gemeinsamer Auswertung zwischen FVA-BW und SBS 15 Kern- (nSSR) und 5 Chloroplasten-Mikrosatelliten-Marker (cpSSR) ausgewählt, die in beiden Labors mit zum Teil unterschiedlicher Analysetechnik zuverlässig vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse erzielten (Tabelle 4). Während der Projektpartner SBS die Genotypisierung der von ihm bearbeiteten Proben selbst im eigenen Labor durchführte, beauftragte der Projektpartner FVA-BW die Firma Microsynth ecogenics als externen Dienstleister.

Tabelle 4: Im Projekt ausgewählte Chloroplasten- (cpSSR) und Kern-Mikrosatelliten-Marker (nSSR).

Marker	**Typ**	**Quelle**
ccmp2; ccmp4	cpSSR	Weising & Gardner 1999
µcd4; µdt1; µdt4	cpSSR	Deguilloux et al. 2003
quru-GA-1F02; quru-GA-1F07	nSSR	Aldrich et al. 2002
FIR053; FIR104; GOT009; PIE039; PIE099; PIE040; PIE125; WAG065	nSSR	Durand et al. 2010
REO_371; REO_368; REO_433	nSSR	Konar et al. 2017
QpZAG15	nSSR	Steinkellner et al. 1997
Qr6783	nSSR	Müller & Gailing 2018

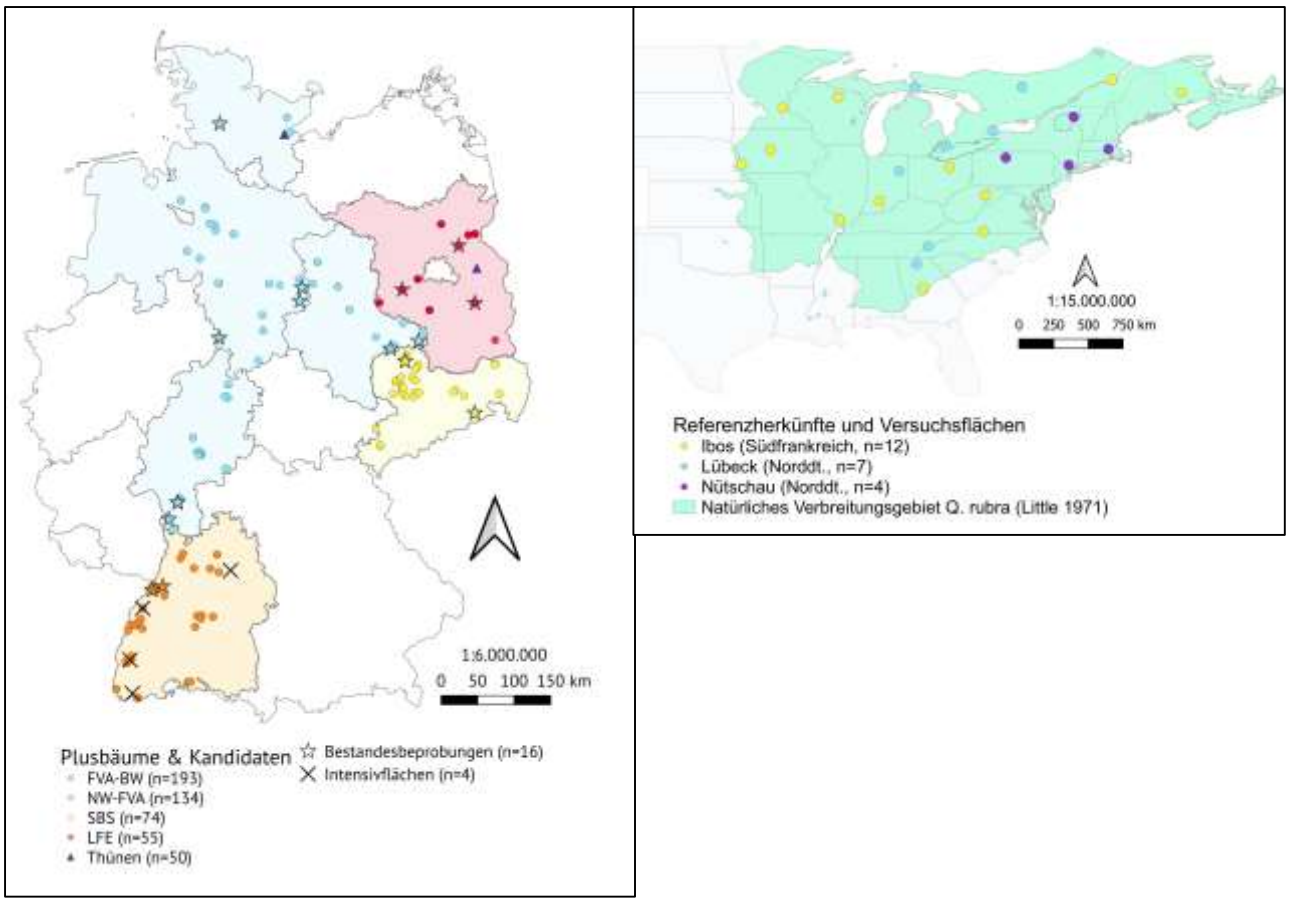


Abbildung 10: Links: Zusammensetzung und geographische Lage der beprobten Roteichen. Rechts: Geographische Lage der ausgewählten Referenzherkünfte im natürlichen Verbreitungsgebiet der Roteiche in Nordamerika. Die Proben wurden hierfür von drei verschiedenen Herkunftsversuchsflächen gewonnen.

Herkunft und Vielfalt der Roteiche in Deutschland anhand von Chloroplasten-DNA-Markern

Das Chloroplasten-Genom wird über einen Elter, bei Laubgehölzen in der Regel mütterlich, vererbt. Ein Haplotyp, d.h. eine Variante der Chloroplasten-DNA, wird daher von einem Mutterbaum über die Samen ausgebreitet und so an die nächste Generation weitergegeben. Unter natürlichen Bedingungen bilden sich dadurch großräumige Variationsmuster heraus, die z.B. Eiszeitrefugien und nacheiszeitliche Rückwanderungswege erkennen lassen und teilweise die Zuordnung zu geografischen Herkunftsregionen ermöglichen. Durch Saatguttransport wurden Haplotypen künstlich verfrachtet. Besteht im natürlichen Verbreitungsgebiet ein eindeutiges räumliches Muster, so ermöglicht eine Untersuchung der Chloroplasten-DNA Rückschlüsse über die Herkunft von Beständen außerhalb dieses Areals. Für die aus Nordamerika introduzierte Art Roteiche gibt es bereits publizierte Ergebnisse (Pettenkofer et al. 2019), die auf der Basis von Chloroplasten-Mikrosatelliten-Markern (cpSSR) als Ursprung deutscher Bestände ein relativ begrenztes Gebiet im Norden des natürlichen Verbreitungsgebietes verorten. Vergleichbare Untersuchungen im Vorhaben RubraSelect sollen Informationen zum geografischen Ursprung der hier ausgewählten Bestände und Plusbäume liefern.

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung des Variationsmusters im Ursprungsgebiet Nordamerika dienten 14 Referenzpopulationen (Tabelle 5).

Tabelle 5: Identifikations- und Lagedaten sowie Anzahl an Individuen für die Referenzbestände, die für die hier präsentierte genetische Untersuchung verwendet wurden. CA = Kanada, GA = Georgia, IA = Iowa, IN = Indiana, MA = Massachusetts, MD = Maryland, MI = Michigan, NB = New Brundwick, NC = North Carolina, NE = Nebraska, NJ = New Jersey, ON = Ontario, PA = Pennsylvania, US = Vereinigte Staaten von Amerika, WI = Wisconsin.

ID	Name	Staat, Land	Geografische Länge (Dezimalgrad)	Geografische Breite (Dezimalgrad)	Seehöhe (m)	Anzahl an Bäumen
R03	Fontenelle	NE-US	-95,91	41,18	305	14
R06	Holst Forest	IA-US	-93,98	42,12	335	30
R15	Harshaw Farm	WI-US	-89,46	45,64	488	32
R20	Hiawatha	MI-US	-84,40	46,28	273	37
R23	Chaltham	ON-CA	-82,32	42,43	600	29
R29	Moshannon Clear-field	PA-US	-78,32	41,60	700	27
R30	Atomic Energy	ON-CA	-77,22	46,30	k. A.	31
R36	Fredericton	NB-CA	-66,64	45,94	250	34
R38	Harvard Forest Worcester	MA-US	-71,48	42,17	350	32
R39	Yawpaw Ramapo Forest	NJ-US	-74,13	41,10	240	31
R44	Shoals	IN-US	-86,73	38,71	225	31
R53	Bolingbroke	GA-US	-83,83	32,93	150	37
R57	Nantahala	NC-US	-83,48	35,70	1295	30
R60	Morgantown	MD-US	-79,78	36,68	732	30

Analysen der cpSSR-Marker zeigen, dass sich im natürlichen Verbreitungsgebiet der Roteiche eine hohe haplotypische Vielfalt (h_t) mit einer ausgeprägten räumlichen Struktur (G_{ST}) ausgebildet hat (Tabelle 6). Insgesamt wurden bei den nordamerikanischen Referenzbeständen 13 verschiedene Haplotypen gefunden. Am häufigsten ist der Haplotyp A mit einem prozentualen Anteil von 45% vertreten, gefolgt vom Haplotyp C mit einem Anteil von 17% und Haplotyp E mit einem Anteil von 10%. Alle weiteren Haplotyp-Varianten nehmen Anteile zwischen neun und einem Prozent ein. Studien von Magni et al. 2005, Zhang et al. 2015 und Pettenkoffer et al. 2019 bestätigen diese Ergebnisse. In der Untersuchung von 20 deutschen Untersuchungsbeständen im Projekt RubraSelect zeigt sich, dass der Haplotyp A mit über 77% am häufigsten vertreten ist (Abbildung 11). Da dieser Haplotyp im natürlichen Areal nicht räumlich begrenzt ist, lässt allein sein Vorkommen und Häufigkeit in Deutschland nicht auf die Herkunft der Roteichen schließen. Auffällig ist, dass in Deutschland zwar die haplotypische Vielfalt innerhalb der Bestände (h_S) hoch ist, aber die gesamte Vielfalt über alle Bestände (h_t) deutlich niedriger ist als in den untersuchten Referenzbeständen aus Nordamerika. Insgesamt wurden in Deutschland nur 5 Haplotypen gefunden, obwohl der Stichprobenumfang im Vergleich zu den Referenzbeständen größer war (Tabelle 6). Die Unterschiede zwischen den in Deutschland untersuchten Beständen sind äußerst gering im Vergleich zum Ursprungsgebiet. Sowohl die geringe gesamte haplotypische Vielfalt als auch die ausgeprägte Homogenität deutscher Bestände ist im Einklang mit der Hypothese, dass die Roteichen in Deutschland einen gemeinsamen Ursprung in einem räumlich begrenzten Teil des natürlichen Verbreitungsgebiets aufweisen (Pettenkofer et al. 2019).

Tabelle 6: Diversitätsmaße der Chloroplasten-DNA-Haplotypen im natürlichen Verbreitungsgebiet und in den 20 untersuchten Populationen in Deutschland. $N_{ind/pop}$ = Anzahl untersuchter Individuen pro Bestand (Mittelwert ± Standardfehler); N_{hap} = Anzahl der Haplotypen, h_S = haplotypische Vielfalt innerhalb der Bestände, h_T = gesamte haplotypische Vielfalt, G_{ST} = haplotypische Differenzierung zwischen den Beständen.

Region	Anzahl untersuchter Bestände	$N_{ind/pop}$	N_{hap}	h_S	h_t	G_{ST}
Nordamerika (natürliches Verbreitungsgebiet)	14	10,21 ± 0,46	13	0,320 ± 0,053	0,759 ± 0,081	0,578 ± 0,062
Deutschland	20	64,35 ± 0,63	5	0,363 ± 0,027	0,373 ± 0,026	0,028 ± 0,011

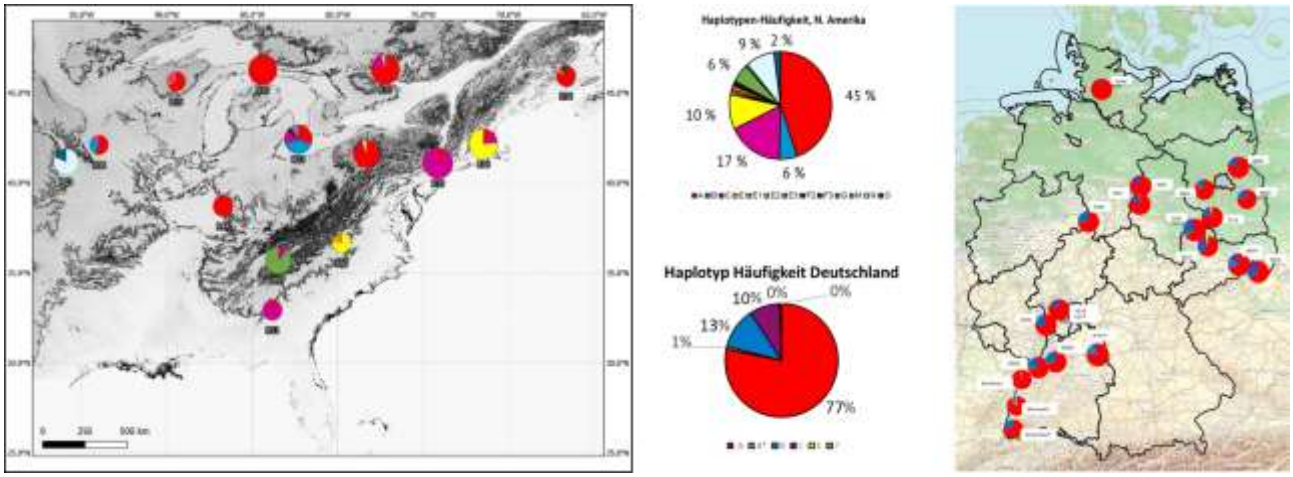


Abbildung 11: Variationsmuster der Chloroplasten Marker im Ursprungsgebiet der Roteiche und in Deutschland

Herkunft und Vielfalt der Roteiche in Deutschland anhand von Kern-DNA-Markern

Kern-Mikrosatelliten-Marker wurden verwendet, um die genetische Vielfalt und Struktur im Vergleich mit den 14 Referenzbeständen zu beschreiben und die Frage der Herkunft näher zu klären. Analysen mit dem Programm STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard. et al. 2000) dienten dazu, räumlich genetische Cluster und regionale Herkunftsgruppen zu ermitteln. Basierend auf den ermittelten Clustern im natürlichen Verbreitungsgebiet, wurde anhand der Software GeneClass2 (Piry et al. 2004) ein Assignment-Test vorgenommen, um Bestände in Deutschland einem der heimischen Cluster zuzuordnen. In populationsgenetischen Analysen mithilfe der Software GenAlEx (Peakall & Smouse 2012) wurden die Parameter Heterozygotie innerhalb der Populationen (H_S) und insgesamt (H_t) sowie die genetische Differenzierung (F_{ST}) errechnet. Anhand der Software ADZE (Szpiech et al. 2008) wurde die standardisierte allelische Vielfalt (AR) kalkuliert. Im Gegensatz zu den vorher erwähnten Maßen ist der AR-Wert unabhängig von der Stichprobengröße und eignet sich deshalb besser, um Vergleiche zwischen den heimischen und nichtheimischen Populationen zu ziehen.

Die regionalen Cluster der Referenz-Stichproben aus den Provenienzversuchen zeigen eine niedrige genetische Differenzierung zwischen den Populationen (Tabelle 7), was auch bei anderen Eichenarten mit großem und kontinuierlichen Verbreitungsareal nicht ungewöhnlich ist (z.B. Stiel- und Traubeneiche in Mitteleuropa; Neophytou et al. 2024). Nichtsdestotrotz wurden regionale Cluster beobachtet. Sie wurden als Grundlage benutzt, um den Assignment-Test durchzuführen. Je nach Muster der Clustereinteilung wurden die Herkünfte gruppiert und so insgesamt zehn Herkunftsgruppen gebildet (I-X, Abbildung 12). Viele Cluster waren durch nur einen Referenzbestand vertreten. Drei Cluster bestanden aus zwei oder mehr Populationen: Cluster IV, welcher die zwei westlichsten Herkünfte (westlich vom Mississippi-Fluss) umfasste; Cluster X mit zwei Beständen im Kern des natürlichen Areals (südlich vom Erie-See und bis zu den Appallachen) sowie Cluster VII, welcher durch drei Bestände im nordöstlichen Teil des Areals (Nordappallachen bis New York und Südquebec) vertreten war (Abbildung 12). Dem letzteren Cluster wurden insgesamt 15 von 20 deutschen Beständen anhand des Assignment-Tests zugeordnet. Weitere drei Bestände wurden dem Cluster X (im Kern des Areals) und jeweils ein Bestand den Clustern II (südlichste Herkunft in den Südappallachen) und III (nordöstlichste Herkunft in New Brundwick, Kanada) zugeordnet. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit bisherigen Resultaten über die Herkunft französischer und deutscher Bestände überein. Sowohl in der Studie von Merceron et al.

(2017) als auch in der Studie von Pettenkofer et at. (2020) legen Ergebnisse der Analyse anhand von Kern-DNA-Markern nahe, dass die in Europa untersuchten Bestände ihren Ursprung im nördlichen bis nordöstlichen Teil des Areals haben.

Tabelle 7: Diversitätsmaße anhand der untersuchten Kern-DNA-Mikrosatelliten. im natürlichen Verbreitungsgebiet und in den 20 untersuchten Populationen in Deutschland. $N_{ind/pop}$ = Anzahl untersuchter Individuen pro Bestand (Mittelwert ± Standardfehler), AR_{12} = standardisierte Allelische Vielfalt (auf eine Populationsgröße von 12 Individuen), H_S = erwarteter Heterozygotenanteil innerhalb der Populationen, H_T = erwarteter Heterozygotenanteil insgesamt (Populationspool), F_{ST} = genetische Differenzierung zwischen den Beständen.

Region	Anzahl untersuchter Bestände	$N_{ind/pop}$	AR_{12}	H_S	H_T	F_{ST}
Nordamerika (natürliches Verbreitungsgebiet)	14	30,02 ± 0,36	4,858 ± 0,055	0,699 ± 0,011	0,733 ± 0,043	0,048 ± 0,003
Deutschland	20	96,57 ± 1,08	5,120 ± 0,032	0,727 ± 0,009	0,739 ± 0,042	0,043 ± 0,006

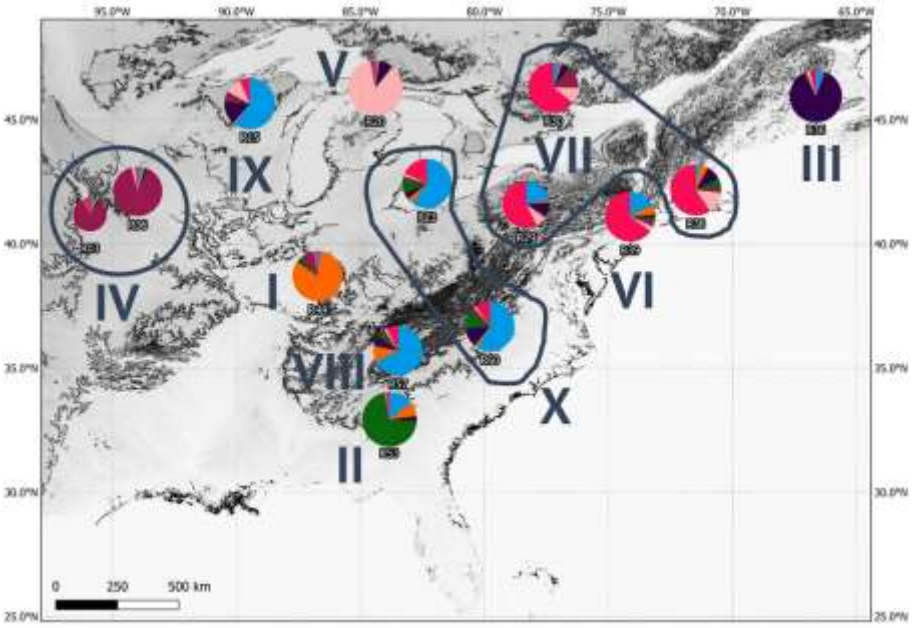
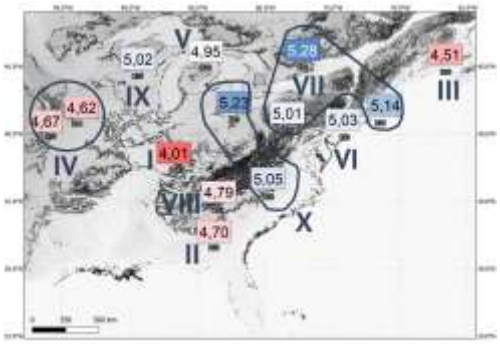


Abbildung 12: Räumliche Verteilung der anhand der Software STRUCTURE ermittelten Cluster im natürlichen Verbreitungsgebiet. Jeder der 14 untersuchten Referenzbestände wird durch ein Kuchendiagramm vertreten. Die verschiedenen Farben entsprechen einem Cluster (jeder Referenzbestand erhielt einen unterschiedlichen Anteil der Zuordnung zu einem Cluster). Mit römischen Buchstaben werden Herkunftsgruppen angezeigt, die sich in ihrer genetischen Zusammensetzung (anhand vom STRUCTURE-Ergebnis) ähnelten.

Die genetische Vielfalt und Diversität innerhalb der Populationen ist insgesamt relativ hoch. Ähnliche Größenordnungen finden sich auch in anderen Studien (Magni et al. 2005, Zhang et al. 2015 und Pettenkofer et al. 2019). Hier untersuchte Referenzbestände aus dem zentral-nördlichen Teil des natürlichen Areals zeigten eine höhere genetische Vielfalt. Im Südwesten und an manchen Randpopulationen (z.B. New Brunswick im äußersten Nordosten) wiesen sie hingegen eine geringere genetische Vielfalt auf. Betrachtet man die genetische Vielfalt (AR) getrennt nach der identifizierten Herkunft deutscher Bestände der Roteiche, so stellt man fest, dass die Werte sehr ähnlich mit der jeweils zugeordneten Herkunftsgruppe im natürlichen Verbreitungsareal sind (Abbildung 13). So könnte die hohe genetische Vielfalt deutscher Roteichen-Bestände daran liegen, dass sie ihren Ursprung in einem Teil des natürlichen Verbreitungsareals haben, das durch eine hohe genetische Vielfalt der Roteiche gekennzeichnet ist.



Herkunftsgruppe	Allelic richness (AR_{12}; Europa)
II (N = 1)	4,635
III (N = 1)	4,657
VII (N = 15)	5,185 ± 0,016
X (N = 3)	5,113 ± 0,038
Gesamt (N = 20)	5,120 ± 0,032

Abbildung 13: Vergleich der standardisierten genetischen Vielfalt zwischen Herkunftsgruppen (Karte) und Beständen aus Deutschland (Karte in der Mitte und Tabelle rechts), aufgeteilt nach Zuordnung zu heimischen Herkunftsgruppen (Tabelle rechts).

Herkunft und Vielfalt der Roteiche in Deutschland: Fazit und Hinweise über genetische Verarmung am Beispiel eines Bestandes in Niedersachsen

Sowohl die Ergebnisse der Chloroplasten- als auch der Kern-Mikrosatelliten–Marker weisen auf Grundlage verschiedener Analysen darauf hin, dass sich der Ursprung der untersuchten Roteichen-Bestände überwiegend auf das nordöstliche Gebiet (NO USA, SO-Kanada) einschränken lässt. Die mit beiden Marker-Arten festgestellte geringe genetische Differenzierung zwischen den Populationen lässt darauf schließen, dass die meisten im Rahmen des Projektes beprobten Bestände mit einer hohen Wahrscheinlichkeit aus einer ähnlichen Saatgutherkunft stammen.

Obwohl die in Deutschland untersuchten Bestände sowohl an den Chloroplasten- als auch an den Kern-Mikrosatelliten-Markern sehr ähnliche genetische Zusammensetzung aufweisen, gibt es Unterschiede in der genetischen Variation innerhalb der Populationen. Anhand des Parameters Allelic Richness kann aus den Kern-Mikrosatelliten-Daten eine ähnliche Spanne der allelischen Vielfalt abgeleitet werden wie in den jeweiligen nordamerikanischen Herkunftsgruppe. Um die Bedeutung der Unterschiede sichtbar zu machen, werden in Abbildung 14 beispielhaft zwei Bestände unterschiedlicher genetischer Vielfalt gegenübergestellt. Während der kleinere Bestand (1. Fall, links) über hohe genetische Variation verfügt, ist diese im größeren Bestand (2. Fall, rechts) sehr eingeschränkt. Ein geringer AR-Wert korrespondiert mit geringer beobachteter Heterozygotie und geringen Werten der effektiven Populationsgröße (ermittelt anhand der Software COLONY; Jones & Wang 2010) im Altbestand wie auch in der Nachkommenschaft eines Plusbaumes aus diesem Bestand. Das Dendrogramm lässt auf Verwandtschaften innerhalb des Bestandes schließen. Die Ursache könnte darin liegen, dass der Bestand 2 aus dem Saatgut relativ weniger Elternbäume begründet wurde. In der Reproduktion ist hier die Gefahr des Verlustes genetischer Variation und Anpassungsfähigkeit durch Drift viel höher als im Bestand 1.

Es wird angemerkt, dass die hier präsentierten Ergebnisse vorläufig sind. Genetische Daten aus einem erweiterten Set heimischer Referenzbestände sowie ein vervollständigter Datensatz von Roteichen-Beständen aus Deutschland lag zum Projektende vor. Es ist geplant, die Ergebnisse der endgültigen populationsgenetischen Analyse werden in einer referierten Fachzeitschrift in Kombination mit weiteren Daten aus Österreich zu veröffentlichen.

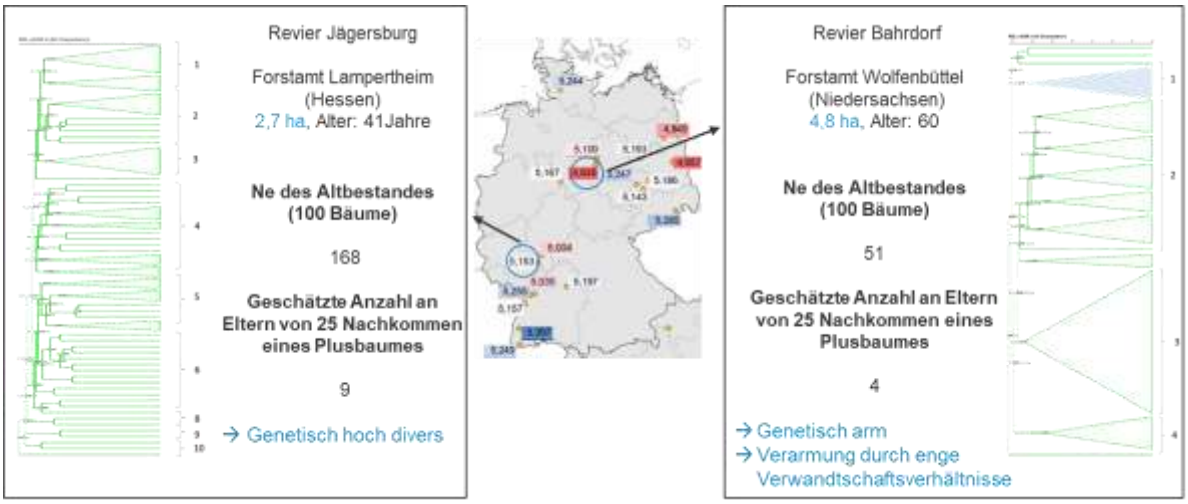


Abbildung 14: Beurteilung von zwei Roteichen Beständen in Deutschland anhand Kern-Mikrosatelliten Markern. Ne = effektive Populationsgröße (Anzahl an Bäumen die an der Reproduktion beteiligt sind)

Weitergabe der genetischen Vielfalt an die nächste Generation

Als nichtheimische Baumarten ist die Roteiche nicht überall und meist nicht in großen Beständen angebaut worden. Daher war im Rahmen des Projektes auch die Frage zu bearbeiten, ob die vorhandenen Bestände ausreichend genetische Variation für die Entstehung genetisch vielfältiger und anpassungsfähiger Folgegenerationen beinhalten bzw. ob ein erhöhtes Risiko der genetischen Verarmung durch Isolation und kleine Populationsgröße besteht. Die Beantwortung dieser Frage ist gleichermaßen bedeutend für die natürliche Regeneration vorhandener Populationen wie für die Gewinnung von forstlichem Vermehrungsgut.

Dazu wurden vier Roteichen-Bestände ausgewählt und intensiv beprobt. Zwei kleinere Vorkommen (Blindheim und Dossenbach) sind isoliert, ohne weitere bekannte Roteichen Vorkommen in der Umgebung. Von zwei größeren Roteichen-Beständen (Mooswald und Achern) wurde jeweils 1ha innerhalb des Bestandes eingemessen und jeder Altbaum wurde beprobt. In der Mitte von jeder Fläche wurden Proben aus der Naturverjüngung unter jeweils 20 Kandidat-Mutterbäumen gewonnen (Abbildung 15).

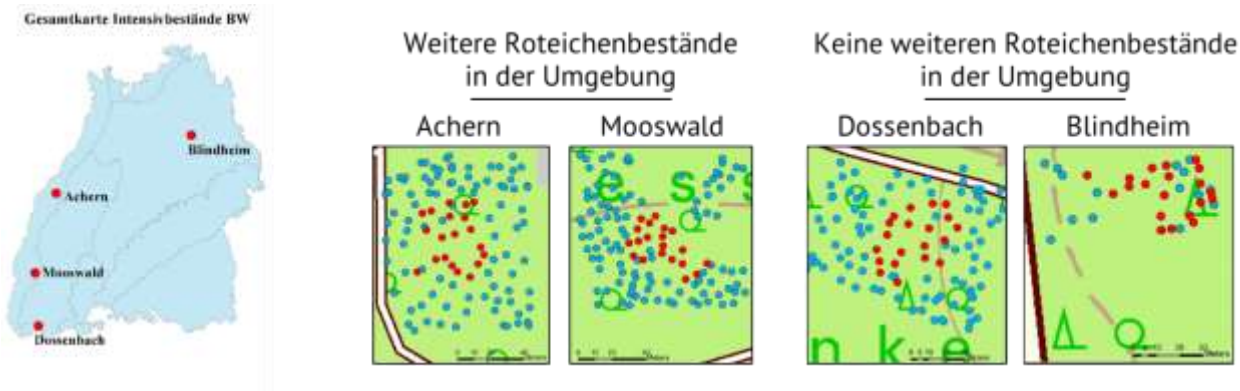
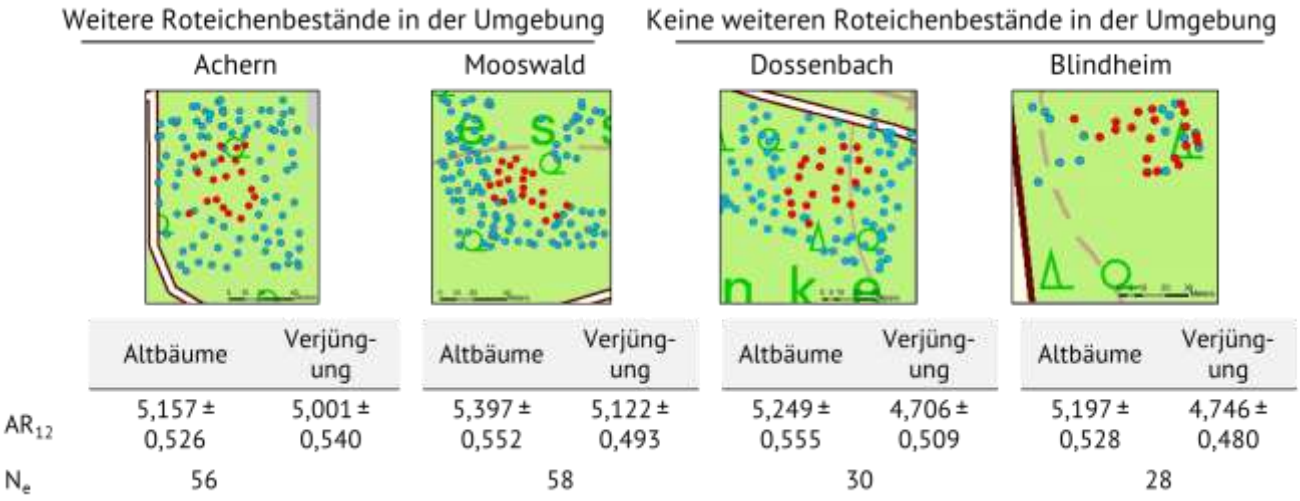


Abbildung 15: Versuchsdesign innerhalb der intensiv beprobten Beständen der Roteiche. Bei ausreichender Bestandesgröße von 1 ha (trifft in Blindheim nicht zu) wurden alle Altbäume voll aufgenommen. Von 20 Bäumen in der Mitte der Fläche wurden jeweils bis zu 30 Proben aus der Naturverjüngung gewonnen. Rot markiert sind die Altbäume, unter denen Naturverjüngung beprobt wurde. Blau markiert sind Altbäume, unter denen keine Naturverjüngung beprobt wurde.

Erstens wurde die standardisierte genetische Vielfalt anhand der Software ADZE bei den Altbäumen und Verjüngung in jedem Bestand ermittelt. Zweitens wurde die effektive Populationsgröße mithilfe der Software COLONY eingeschätzt. Es fiel auf, dass die Abnahme der genetischen Vielfalt in der Folgegeneration deutlich stärker in den Beständen Blindheim und Dossenbach war, die stammzahlärmer und isolierter von anderen

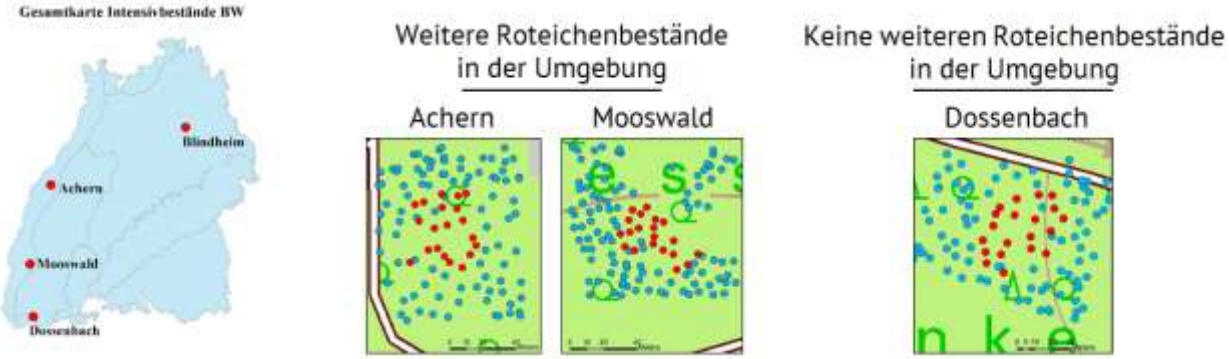
Vorkommen der Roteiche waren. Dieses Ergebnis ging mit einer deutlich reduzierten effektiven Populationsgröße dieser Bestände einher (Abbildung 16). Beide Resultate sind im Einklang mit unserer Hypothese, dass ein Verlust genetischer Variation in der Folgegeneration durch eine kleine Populationsgröße sowie reproduktiver Isolation eines Bestandes zu erwarten ist.



	Achern		Mooswald		Dossenbach		Blindheim	
	Altbäume	Verjüng-ung	Altbäume	Verjüng-ung	Altbäume	Verjüng-ung	Altbäume	Verjüng-ung
AR_{12}	5,157 ± 0,526	5,001 ± 0,540	5,397 ± 0,552	5,122 ± 0,493	5,249 ± 0,555	4,706 ± 0,509	5,197 ± 0,528	4,746 ± 0,480
N_e	56		58		30		28	

Abbildung 16: Genetische Vielfalt (AR_{12}; Mittelwert und Standardfehler) der Altbäume und Verjüngung sowie effektive Populationsgröße (Ne) in den vier intensiv beprobten Beständen der Roteiche.

Um der Frage der reproduktiven Isolation nachzugehen wurden Elternschaftsanalysen anhand des Softwareprogrammes CERVUS (Kalinowski et al. 2007) durchgeführt. In Achern und Mooswald konnte jeweils für einen Anteil von 45% und 32% den Nachkommen kein Vaterbaum von innerhalb des Bestandes zugeordnet werden – das heißt, der Pollen kam von außerhalb. Das entsprach unserer Erwartung, da diese beiden Bestände von weiteren Populationen der Roteiche umgeben sind. Im Gegenteil stammten in Dossenbach 94% der Vaterbäume aus dem Bestand (Abbildung 17). Externer Pollen erreicht diesen Bestand kaum, was auf seine räumliche Isolation zurückzuführen ist.



Anzahl der Nachkommen mit:	Achern	Mooswald	Dossenbach
Vaterbaum zugeordnet (innerhalb vom Bestand)	99 (55 %)	160 (68 %)	194 (94 %)
Keinem Vaterbaum zugeordnet (außerhalb vom Bestand)	81 (45%)	75 (32 %)	12 (6 %)

Abbildung 17: Ergebnisse der Vaterschaftsanalyse anhand der Software CERVUS in drei intensiv beprobten Bestände. Für den Bestand Blindheim lagen zum Zeitpunkt der hier präsentierten Analysen keine vollständigen Daten vor.

Das Ergebnis der genetischen Analyse in den vier intensiv untersuchten Beständen ist für die Praxis relevant. Es zeigt, dass eine räumliche Isolation verstärkt zu einer genetischen Verarmung in den Folgegenerationen führen kann, auch wenn eine recht hohe Anzahl an Altbäumen innerhalb des Bestandes in Paarungskontakt steht. Daher ist zu empfehlen, gerade bei nichtheimischen Baumarten den Grad der räumlichen Isolation von anderen Vorkommen der Art zu berücksichtigen, bevor es zu einer Zulassung eines Bestandes zur Ernte kommt (siehe auch Wojacki et al. 2020 für ein weiteres Beispiel bei Douglasie in Deutschland). Auch bei natürlicher Verjüngung ist dieser Aspekt zu beachten. Solche räumlich isolierten Bestände sollten nicht ausschließlich natürlich verjüngt werden; eine Anreicherungspflanzung wird empfohlen, um die genetische Diversität in der Folgegeneration zu fördern.

Die hier präsentierten Ergebnisse aus den vier Intensivbestände sind vorläufig, da die Genotypen fehlender Altbäume und Jungpflanzen erst kurz vor Projektende vervollständigt wurden. Eine abschließende populationsgenetische Analyse findet im Rahmen einer Masterarbeit statt, deren Einreichung nach Projektende erfolgen soll. Nach Abschluss der Masterarbeit wird angestrebt, diese Ergebnisse in einer referierten Fachzeitschrift zu publizieren.

Einschätzung des gewonnenen Plusbaum-Saatgutes und der Plusbaum-Nachkommenschaften

Im Rahmen des Projektes war vorgesehen, von möglichst allen Plusbäumen Saatgut zu gewinnen, um eine Nachkommenschaftprüfung anzulegen, aus der vererbbare Eigenschaften der Plusbäume, vor allem bezüglich Wachstums und Trockenstresstoleranz eingeschätzt werden können. Im Jahr 2022 konnte aufgrund der geringen Fruktifikation nur von wenigen Plusbäumen Saatgut für den Trockenstress-Versuch im Gewächshaus gesammelt werden. Dabei erwies es sich im Bestand zum Teil als schwierig, wirklich ausschließlich Eicheln des jeweils gewünschten Baumes zu sammeln, weil z.B. aufgrund des Reliefs oder ineinandergreifender Kronen unter dem Baum Samen verschiedener Mütter lagen. Um mögliche Fehler vorab vermeiden oder wenigstens einschätzen zu können, wurden drei ausgewählte Saatgutpartien mit nSSR-Markern auf ihre Homogenität geprüft (Abbildung 18, siehe auch Zwischenbericht 2023). Im Ergebnis zeigte sich, dass die Absaaten ein und desselben Samenbaumes, die genetisch also Halb- oder Vollgeschwister sind, sowohl in Form, Farbe wie auch Größe sehr ähnliche Eigenschaften besitzen.

Für die je 25 Nachkommen der 40 im Trockenstressversuch berücksichtigten Plusbäume wurde das Programm COLONY verwendet, um auf der Grundlage der analysierten Genotypen die Halb- und Vollgeschwister-Anteile in einzelnen Saatgutpartien zu schätzen. In den Analysen bestätigte sich, dass manche Saatgutproben nicht von einem Mutterbaum stammen, sondern mehrere Samenbäume repräsentieren. Die Nachkommenschaften wurden nach der Homogenität der untersuchten Stichproben in drei Gruppen eingeteilt. Ergab die Simulation, dass 80% der untersuchten Pflanzen innerhalb der Stichprobe als Halb- oder Vollgeschwister erkannt wurden, gilt die Saatgutpartie als homogen. Bei mehr als 50% Halb- und Vollgeschwisteranteil gilt die Stichprobe als ausreichend homogen und wenn weniger als 50% zugeordnet werden konnten, gelten diese Saatgutpartien als inhomogen. 40% der Plusbaum-Nachkommenschaftabsaaten beinhalten homogene Saatgutpartien, 45% konnten eine ausreichende Homogenität vorweisen und 15% wurden als inhomogene Absaaten bewertet.

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse können Plusbaumabsaaten auch morphologisch gut voneinander differenziert werden, was für die im Jahr 2023 durchgeführte Beerntung für die Nachkommenschaftsprüfung bestmöglich durch alle Partner praktiziert wurde.

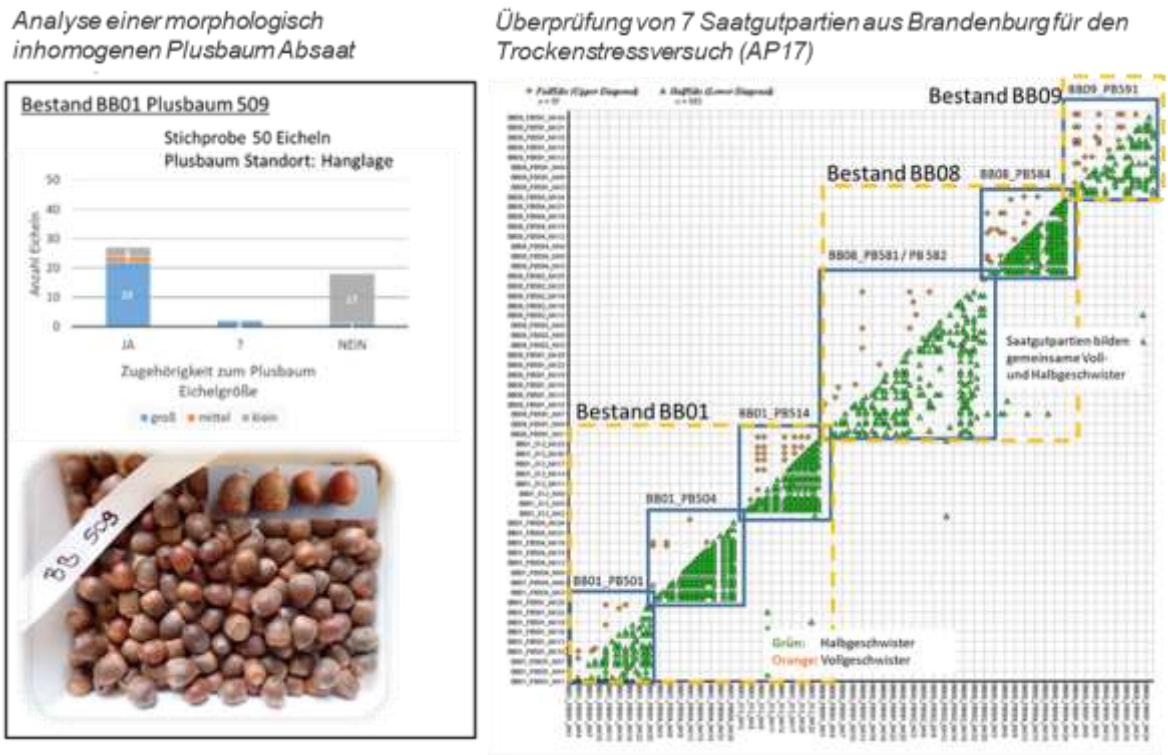


Abbildung 18: Überprüfung der Homogenität der Saatgutpartie und Einschätzung der Anteile von Voll- und Halbgeschwistern, Berechnung der Analysen erfolgte mit der Software COLONY.

Die populationsgenetische Auswertung der an den Nachkommen erhobenen Daten (Abbildung 19) zeigen mithilfe der Parameter Na, Ne und Ho, He, dass der Standort des Mutterbaumes im Bestand (Rand, zentral), die Flächenstruktur (Größe, Form der Fläche) sowie die Roteichenbestockung in der Umgebung bei der genetischen Ausstattung der Nachkommenschaften eine wesentliche Rolle spielen.

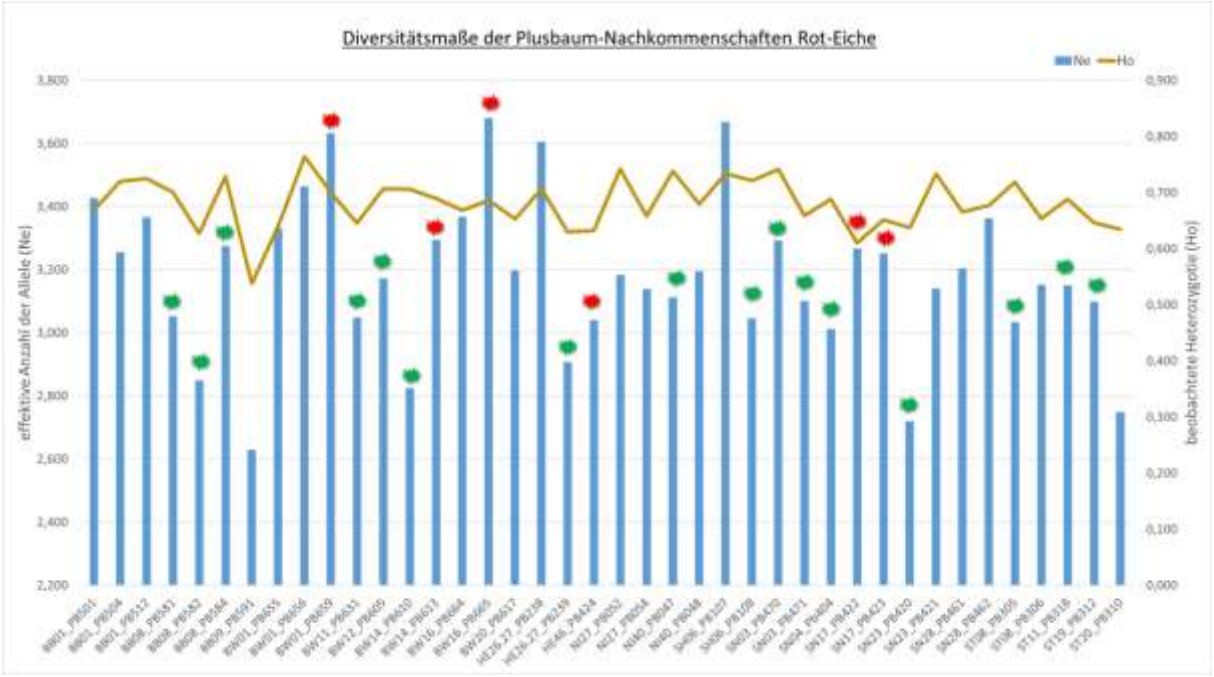


Abbildung 19: Überblick der effektiven Anzahl der Allele und der beobachteten Heterozygotie der Plusbaum-Nachkommenschaft. Mit grünem Stern markierten Nachkommenschaften werden als homogene Saatgutpartien bewertet, die mit rotem Stern markierten Saatgutpartien werden als inhomogene Saatgutpartie betrachtet, unmarkierte Nachkommenschaften gelten als ausreichend homogen.

Beispielsweise zeigt die Plusbaum-Nachkommenschaft BB09_PB591, die als homogen eingeschätzt wurde, einen relativ hohen Anteil an Vollgeschwistern und eine geringe erwartete Heterozygotie, was auf die Bestandesstruktur zurückzuführen ist. Bei Bestand BB09 handelt es sich um einen länglichen schlauchartigen Bestand, an dessen Rand sich der Plusbaum PB591 befindet. Dadurch waren am Saatgut nur relativ wenige Bestäuber beteiligt.
Die Ergebnisse lassen keinen Zusammenhang zwischen der Homogenität der Saatgutpartie und der genetischen Variation erkennen (Abbildung 19). Generell zeigen die analysierten Nachkommenschaften zueinander keine starken genetischen Differenzierungen, was auch in der Literatur über die genetische Differenzierung der Roteichen in Deutschland beschrieben wird. (Pettenkofer et al. 2019).

Literatur

Aldrich, P. R., Michler, C. H., Sun, W., & Romero-Severson, J. (2002). Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Notes*, *2*(4), 472-474.

Deguilloux, M. F., Dumolin-Lapègue, S., Gielly, L., Grivet, D., & Petit, R. J. (2003). A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Molecular Ecology Notes*, *3*(1), 24-27.

Durand, J., Bodénès, C., Chancerel, E., Frigerio, J. M., Vendramin, G., Sebastiani, F., Buonamici, A., Gailing, O., Koelewijn, H.-P., Villani, F., Mattioni, C., Cherubini, M., Goicoechea, P.G., Herrán, A., Ikaran, Z., Cabané, C., Ueno, S., Alberto, F., Dumoulin, P.-Y., Guichoux, E., de Daruvar, A., Kremer, A., Plomion, C. (2010). A fast and cost-effective approach to develop and map EST-SSR markers: oak as a case study. *BMC genomics*, *11*, 1-13.

Jones, O. R., & Wang, J. (2010). COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. Molecular Ecology Resources, 10(3), 551-555.Kalinowski, ST, Taper, ML & Marshall, TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Molecular Ecology 16: 1099-1106.

Konar, A., Choudhury, O., Bullis, R., Fiedler, L., Kruser, J. M., Stephens, M. T., Gailing, O., Schlarbaum, S., Coggeshall, M.V., Staton, M.E., Carlson, J.E., Emrich, S., Romero-Severson, J. (2017). High-quality genetic mapping with ddRADseq in the non-model tree *Quercus rubra*. *BMC genomics*, *18*(1), 1-12.

Magni, C. R., Ducousso, A., Caron, H., Petit, R. J., Kremer, A. (2005). Chloroplast DNA variation of *Quercus rubra* L. in North America and comparison with other Fagaceae. Molecular ecology, 14(2), 513-524.

Merceron, N. R., Leroy, T., Chancerel, E., Romero-Severson, J., Borkowski, D. S., Ducousso, A., Monty, A., Porté, A., Kremer, A. (2017). Back to America: tracking the origin of European introduced populations of *Quercus rubra* L. Genome, 60(9), 778-790.Müller, M., & Gailing, O. (2018). Characterization of 20 new EST-SSR markers for northern red oak (*Quercus rubra* L.) and their transferability to *Fagus sylvatica* L. and six oak species of section Lobatae and Quercus. *Annals of Forest Research*, *61*(2), 211-222.

Neophytou, C., Semizer-Cuming, D., Michiels, H. G., Kremer, A., Jansen, S., Fussi, B. (2024). Relict stands of Central European oaks: Unravelling autochthony and genetic structure based on a multi-population study. Forest Ecology and Management, 551, 121554.

Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28, 2537-2539.

Pettenkofer, T., Burkard, K., Ammer, C., Vor, T., Finkeldey, R., Müller, M., Krutovsky, K., Vornam, B., Leinemann, L., Gailing, O. (2019). Genetic diversity and differentiation of introduced red oak (*Quercus rubra*) in Germany in comparison with reference native North American populations. European Journal of Forest Research, 138, 275-285.

Pettenkofer, T., Finkeldey, R., Müller, M., Krutovsky, K. V., Vornam, B., Leinemann, L., Gailing, O. (2020). Genetic variation of introduced red oak (*Quercus rubra*) stands in Germany compared to North American populations. European Journal of Forest Research, 139, 321-331.

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155(2), 945-959.

Steinkellner, H., Lexer, C., Turetschek, E., & Glössl, J. (1997). Conservation of (GA) n microsatellite loci between *Quercus* species. Molecular Ecology, 6(12), 1189-1194.

Szpiech, Z. A., Jakobsson, M., & Rosenberg, N. A. (2008). ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. Bioinformatics, 24(21), 2498-2504.

Weising, K., & Gardner, R. C. (1999). A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. Genome, 42(1), 9-19.

Wojacki, J., Eusemann, P., Ahnert, D., Pakull, B., & Liesebach, H. (2019). Genetic diversity in seeds produced in artificial Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) stands of different size. Forest Ecology and Management, 438, 18-24.

Zhang, R., Hipp, A. L., & Gailing, O. (2015). Sharing of chloroplast haplotypes among red oak species suggests interspecific gene flow between neighboring populations. Botany, 93(10), 691-700.

Arbeitspaket 17: Phänotypisierung der Plusbäume und ihrer Nachkommen

Phänotypisierung von kartierten Roteichen-Altbäumen

In den Jahren 2022 und 2023 wurden insgesamt 314 vorausgewählte Roteichen aus 107 unterschiedlichen Beständen in sieben Bundesländern visuell bonitiert (Kronenverlichtung, Totholzanteil und Wasserreiser in Krone und Stamm, Fraßschäden an Blättern) und biochemische Profile auf der Grundlage von Blattanalysen erstellt.

Trotz der überwiegend herausragenden Wuchsleistung der Plusbäume und Plusbaumkandidaten in der Vergangenheit, wiesen die Kronen in den beiden Aufnahmejahren teilweise erhebliche Blattverluste auf, die häufig auf Fraßereignisse durch Insekten zurückzuführen waren. Im Jahr 2023 waren die Blätter nahezu aller Bestände (Ausnahme Brandenburg) durch Insektenfraß stark geschädigt. Der hohe Anteil von Wasserreisern an den Stämmen der Roteichen in den Bundesländern Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Sachsen und Baden-Württemberg zeigte aber auch, dass sich die Bäume in einer bereits länger anhalten Stressbelastung befanden.

Okulare sichtbare Vitalitätseinbußen spiegelten sich auch in den Gehalten stressrelevanter Blattinhaltsstoffe wider. So hatten Roteichen mit abnehmender Vitalität z.B. höhere Prolin- und Kohlenhydratgehalte sowie geringere Blattgehalte an Stärke und Chlorophyllen. Gleichfalls deutet sich eine Beziehung zwischen den Gehalten bzw. Konstellationen der phenolischen Inhaltsstoffe und der Befallsintensität für Blattfraßereignisse an.

Die untersuchten biochemischen Blattinhaltsstoffe (Chlorophylle, Carotinoide, lösliche Kohlenhydrate, Stärke, Ascorbat, GABA, Proteine, Aminosäuren, phenolische Komponenten u.a.) und die daraus abgeleiteten biochemischen Profile wurden einzelbaumweise für das jeweilige Untersuchungsjahr bewertet.

Neben den Biomarkermustern bot die Berechnung eines Biochemischen Vitalitätsindex (BVI) eine zusätzliche Möglichkeit für die Phänotypisierung der Roteiche. Voraussetzung hierfür war die Ableitung von baumartenspezifischen Referenzwerten für jeden Biomarker.

Für die Untersuchungen wurden daher die Referenz- und Übergangsbereiche auf der Grundlage von Mittelwerten und Standardabweichungen der untersuchten Parameter von schadsymptomfreien Blättern der wüchsigsten und vitalsten Roteichen berechnet. Die Baumauswahl wurde dabei besonders streng vorgenommen, da die Schwierigkeit bestand, für die Berechnung „innerer“ Blattwerte Bäume nach äußeren Kriterien zu bewerten. Hierfür kamen nur die Roteichen in die engere Auswahl, welche aufgrund ihrer besonderen Wüchsigkeit und Vitalität zu den besten Bäumen gehörten (einschließlich von Voruntersuchungen in Brandenburg). Auf Grund der vergleichsweise geringen Stichprobengröße (n = 81 Bäume), sind die vorgeschlagenen Referenzwerte als erste Empfehlung zu betrachten und bedürfen einer weiteren Verstetigung in den Folgejahren.

Insbesondere der Trockensommer 2022 (n = 202 Einzelbäume) ermöglichte eine Differenzierung nach Standorten/Bundesländern. So ließ sich jede Roteiche einem vier unterschiedlichen physiologischen Cluster (Biomarkermuster) zuordnen, die mit unterschiedlicher Häufigkeit im Bundesgebiet auftraten. Die Abbildung 20 zeigt exemplarisch, wie sich die charakteristischen Biomarkermuster im Jahr 2022 auf die einzelnen Bundesländer verteilten. Dabei zeigten sich regionale Unterschiede zwischen dem Südwesten, dem Nordosten und der Mitte Deutschlands. Der höchste Anteil vitaler Roteichen (Cluster 1 und 2: dunkel- und hellgrüne Einfärbung) konzentrierte sich auf die Bundesländer Baden-Württemberg und Niedersachsen. Die meisten Bäume, die sich in einem physiologischen Stresszustand befanden (Cluster 3: rote Einfärbung), standen in Brandenburg, gefolgt von Sachsen. In Hessen, Sachsen-Anhalt und Sachsen wurden die meisten Bäume dem „moderaten“ Cluster 4 (gelbe Einfärbung) zugeordnet. Den größten Beitrag zur regionalen Differenzierung der Roteichen lieferten die phenolischen Inhaltsstoffe (z.B. Flavonoide, o-di-Hydroxyphenole). Roteichen mit hohen Gehalten an phenolischen Inhaltsstoffen kamen insbesondere in Baden-Württemberg, Niedersachsen und Sachsen vor, fehlten dagegen (nahezu) in Sachsen-Anhalt und Brandenburg. Roteichen auf besonders trockenen und nährstoffarmen Grenzstandorten, wie z.B. Klosterheide (Brandenburg) zeigten eine eindeutige physiologische Stresssymptomatik.

Interessanterweise konnte aber auch in dem witterungsbedingt günstigen Sommer 2023 eine Differenzierung

der Bäume nachgewiesen werden, die nicht nur auf Grundlage der phenolischen Inhaltsstoffe (s.o.), sondern auch hinsichtlich der Indikatoren für oxidativen Stress (Ascorbat, Carotinoide) möglich war.

Auf der Grundlage der jeweiligen Biomarkermuster, der BVI-Werte und der visuellen Baumbonitur war es möglich, die Bäume hinsichtlich ihrer Vitalität zu bewerten. Danach erwiesen sich 54 Roteichen als hoch vital, während 45 Roteichen für die geplante Nachkommenschaftsprüfung weniger geeignet erscheinen.

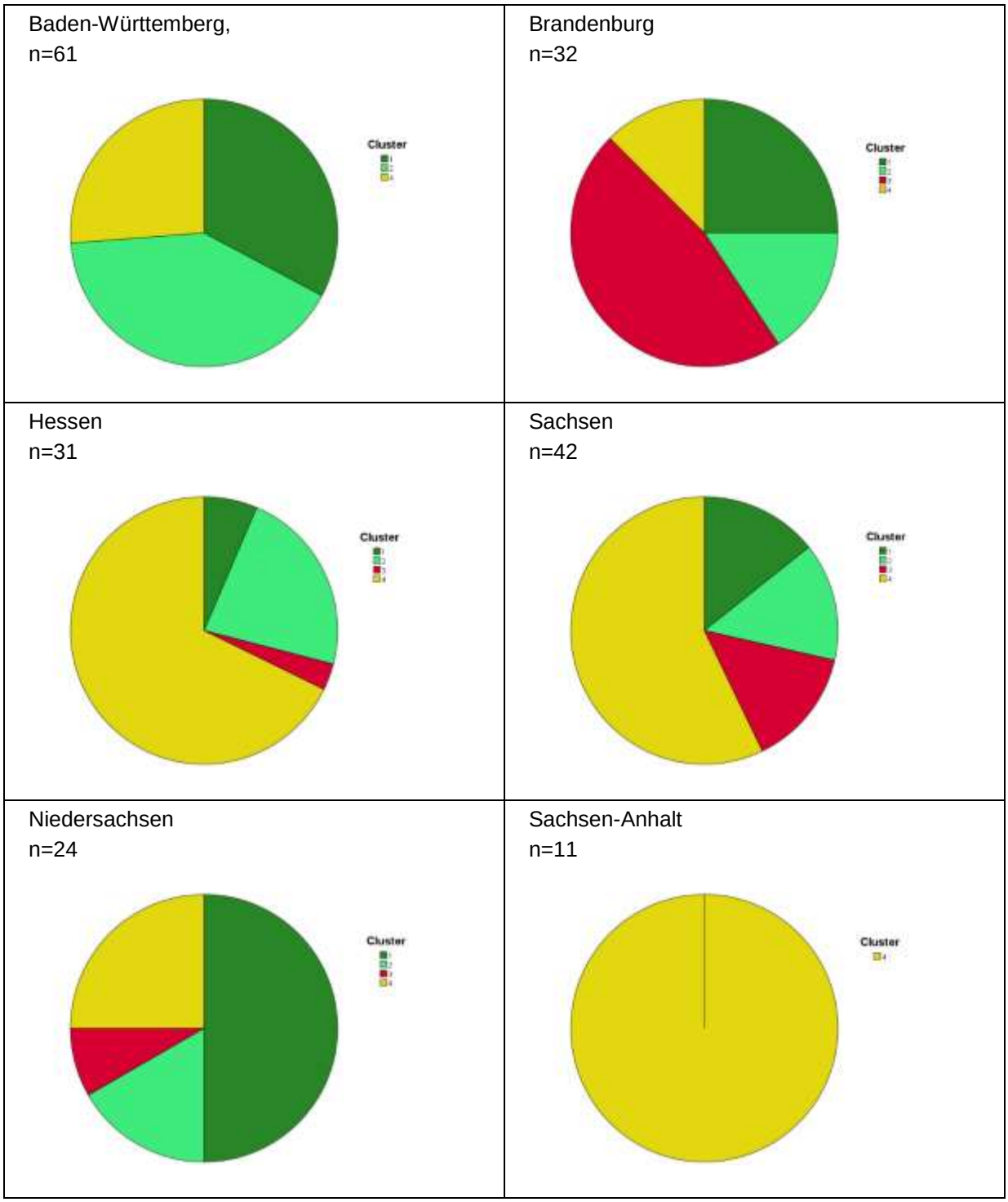


Abbildung 20: Relative Anteile der vier Roteichen-Cluster (Biomarkermuster) in den sechs untersuchten Bundesländern im Untersuchungsjahr 2022. Farben: dunkelgrün – Cluster 1, hellgrün – Cluster 2, rot – Cluster 3, gelb – Cluster 4

Trockenstressversuch zur Untersuchung der phänotypischen Reaktionen der ausgewählter Plusbaum-Nachkommenschaften auf Trockenheit

Im Rahmen des Verbundprojekts wurden nicht nur die Plusbäume von Saatguterntebeständen der Roteiche an ihren Freilandstandorten genetisch und phänotypisch charakterisiert, sondern auch ein Teil ihrer Nachkommenschaften. Ziel der Stresstests war es, die Reaktionen der Sämlings-Nachkommenschaft unterschiedlicher Plusbäume sowohl unter identischen Bedingungen als auch mit den physiologischen Eigenschaften ihrer Eltern zu vergleichen.

Konzeption des Trockenstress-Versuches:

Im Sommer 2023 startete im Gewächshaus ein Vorversuch mit 82 Pflanzen, bestehend aus ausgegrabenen Wildlingen, Baumschulpflanzen und einer Versuchsgruppe aus Flaumeichen. Innerhalb dieses Versuches wurden die Arbeitsschritte des für 2024 geplanten Trockenstressversuches im kleinen Rahmen getestet, um Erfahrungen bezüglich Pflanzenbetreuung, Arbeitszeitbedarf, Versuchsablauf und –dauer zu sammeln. Messungen und Boniturschemata wurden erstellt, erprobt und optimiert. An den Roteichen innerhalb des Vorversuches war kein Schädlings- oder Krankheitsbefall zu beobachten, die mitgeführten Flaumeichen zeigten Probleme mit Mehltau und Läusen.

Bei einem gemeinsamen Projekttreffen der Teilverbünde A und B (Göttingen, September 2023) wurde der geplante Ablauf des Trockenstressversuches im Gewächshaus zur Diskussion gestellt. Im Ergebnis konnte die Planung abgestimmt, präzisiert und um weitere Untersuchungen an den Nachkommenschaften unter Beteiligung verschiedener Projektpartner ergänzt werden. Ausgewählte Plusbaum-Nachkommenschaften sollten vom Partner LFE biochemisch untersucht werden, um ergänzend zum biochemischen Zustand des jeweiligen Plusbaumes unter Sommerstressbedingungen Reaktionen seiner Nachkommen unter Stress, und dadurch bedingte eventuelle Anpassungen an den Standort, nachvollziehen zu können.

Anzucht der Versuchspflanzen:

Die Auswahl der für den Trockenstressversuch geeigneten Bestände und Plusbäume (PB, Elternbäume zur Saatgutbereitstellung) erfolgte bereits im Jahr 2022. Ausgewählt wurden 40 Plusbaum-Nachkommenschaften, deren Ausgangspopulationen ein Alter von 33 bis 143 Jahren und eine Standortswasserbilanz zwischen -100mm (Sachsen-Anhalt) und +165 mm (Baden-Württemberg) aufwiesen. Die Eicheln wurden über den Winter bei -4 °C eingelagert, im darauffolgenden Frühjahr 2023 in Quickpotplatten angezogen und im August 2023 in 2 L-Töpfe umgetopft. Als Außengruppe für den Versuch dienten Nachkommen eines Flaumeichen-Bestandes in Frankreich, die im Zusammenhang mit einem vom Bayerischen Amt für Waldgenetik (AWG) initiierten Provenienzversuch (Projekt QPFC, StMELF, Förderkennzeichen: klifW010) im Pflanzgarten der Bayerischen Staatsforsten angezogen worden waren. Die zweijährigen Pflanzen wurden dem SBS im Februar 2024 wurzelnackt übergeben und anschließend ebenfalls in 2 L-Rosentöpfe eingetopft. Während der gesamten Anzuchtphase bis zum Versuchsstart des Trockenstress-Experiments befanden sich die Pflanzen in einer Schattenhalle auf dem Gelände des Kompetenzzentrums für Wald und Forstwirtschaft in Graupa.

Während der Anzucht der Plusbaum-Nachkommenschaften wurden drei Bonituren durchgeführt (Zeitlicher Verlauf in Abbildung 21): (1.) Die Auflaufbonitur dient zur Erfassung des Auflaufzeitraumes und der Keimrate. Die auskeimenden Eichen aller Nachkommenschaften wurden im Zeitraum vom 28.04. – 01.06.23 im Turnus von 3 Tagen erfasst. (2.) Mit der Herbstbonitur wurde das Verfärben der Blätter der Roteichen zeitlich erfasst und quantifiziert. Der fünfstufige Boniturschlüssel (Abbildung 22**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) wurde auf Grundlage des Boniturschemas für die Laubverfärbung bei Eichenarten nach Anonymus (1995) abgeleitet. Der Aufnahmeturnus war einmal wöchentlich im Zeitraum vom 18.09. bis zum 09.10.2023. (3.) Die darauffolgende Frühjahrsbonitur erfolgte vom 27.03. bis zum 04.06.24 zweimal wöchentlich mit einem sechsstufigen Schlüssel (ebenfalls nach Anonymus (1995) abgeleitet, Abbildung 22). Der Boniturschlüssel für den Austrocknungsversuch (Abbildung 22) mit den ausgewählten Roteichen-Nachkommenschaften war auf Grundlage eines eigenen Vorversuches im Jahr 2023 mit Wildlingen im Gewächshaus und auf Basis des Schlüssels nach Kätzel et al. (2015) zusammengestellt worden.

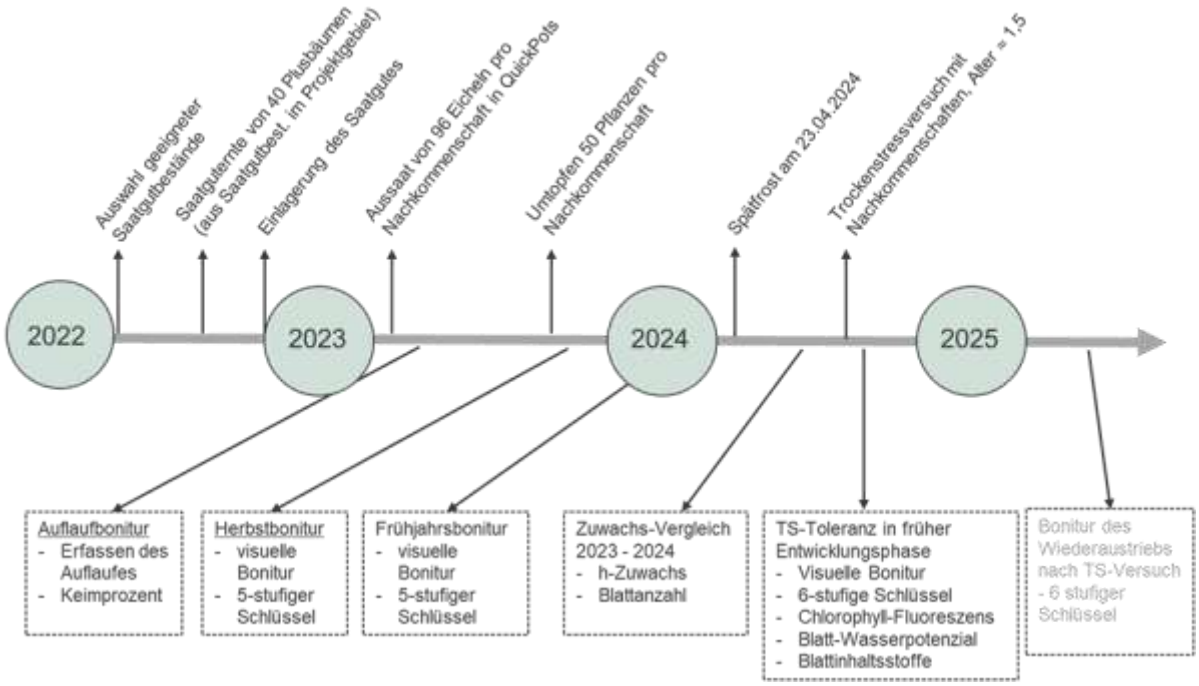


Abbildung 21: Chronologie der Anzucht der Nachkommenschaften

Die Parameter Blattzahl, Sprosslänge und Wurzelhalsdurchmesser wurden in jedem Vegetationsjahr aufgenommen. Sie dienen bei der Auswertung der Daten als wuchs- und qualitätsbestimmende Vergleichsgrößen zwischen den Pflanzen. So kann der Wurzelhalsdurchmesser auf ein gut ausgeprägtes Wurzelsystem und ein daraus resultierendes schnelles Wachstum hindeuten (STIMM et al. 2014). Durch die Beziehung zwischen der Sprosslänge und dem Wurzelhalsdurchmesser (H/D – Verhältnis) können ebenso Rückschlüsse auf die Qualität gezogen werden (Körner et al. 2012).

Die Bonituren dienen der Beschreibung der Entwicklung der Plusbaum-Nachkommenschaften innerhalb von zwei Vegetationsperioden bezüglich der Frage, ob die beobachteten phänologischen Charakteristika der Plusbaum-Nachkommenschaften einen Rückschluss auf mögliche Anpassung an den Standort des Mutterbaumes zulassen.

Aufgrund von Frost- und Fraßschäden war die Ausfallrate im zweiten Vegetationsjahr hoch. Am 16.07.2024 erfolgte eine Abschlussbonitur, dabei wurden pro Nachkommenschaft Ausfallraten zwischen 6% und 70% der für den Versuch angezogenen Pflanzen ermittelt.

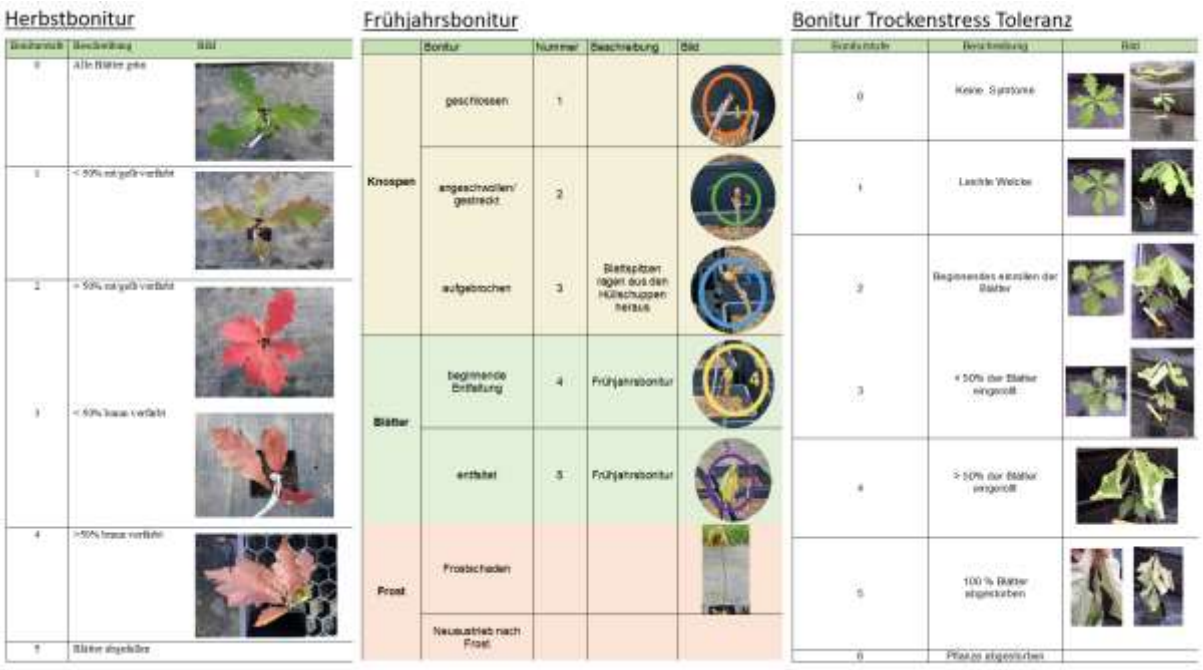


Abbildung 22: Charakterisierung des Vermehrungsgutes zur Differenzierung der Plusbäume

Versuchsdurchführung

Am 14.06.2024 wurden insgesamt 792 Versuchspflanzen aus 40 Nachkommenschaften Roteiche und eine Nachkommenschaft der Flaumeiche zur Akklimatisierung ins Gewächshaus gebracht. Die Pflanzen wurden zufällig verteilt, wobei die Kontrollgruppen (je 12 Pflanzen pro Nachkommenschaft) von den Trockenstressgruppen (je 15 Pflanzen) getrennt wurden, um die Möglichkeit der Tischbewässerung nutzen zu können. Nach zwei Wochen startete am 02.07.2024 der sechswöchige Trockenstressversuch.

Zum Versuchsstart wurden Höhe und Blattanzahl, aber auch Wurzelhalsdurchmesser, Topfgewicht und Ausfälle dokumentiert. Die Bonitur auf Wasserdefizitreaktion startete am 08.07.2024 und wurde im wöchentlichen Rhythmus erfasst, zusätzlich wurde bei jeder Bonitur das Topfgewicht mit einer handelsüblichen Küchenwaage bestimmt.

Neben den phänologischen und biophysikalischen Untersuchungen wurden gleichfalls biochemische Blattuntersuchungen an jeweils 7 Sämlingen in der 2. Vegetationsperiode als Einzelbaum-Nachkommenschaften von insgesamt 20 Plusbäumen aus Hessen, Sachsen-Anhalt, Sachsen, Brandenburg, Baden-Württemberg, Niedersachsen und Schleswig-Holstein durchgeführt. Nach dem Beginn des Wasserentzugs am 02.07.24 wurden in Abhängigkeit von dem visuell bonitierten Vitalitätszustand der Pflanzen zu drei verschiedenen Zeitpunkten (sowie am Versuchsende) grün/vitale Blattproben der Trockenstressvariante (TS, n=4 Pflanzen je Nachkommenschaft) und der Kontrollvariante (K, n=3 Pflanzen) entnommen, um relevante biochemische Blattinhaltstoffe wie Kohlenhydrate, Stärke, Pigmente, phenolische Inhaltsstoffe, Ascorbat und freie Aminosäuren zu analysieren. Als Bezugsgröße diente zum einen das Bodenwasserdefizit, das durch regelmäßige Wägung der Töpfe ermittelt wurde, sowie die Reaktion der bewässerten Kontrollpflanzen.

Um den Versuch vollständig abzuschließen, wurden alle Versuchspflanzen, die nach Ende der Austrocknungsphase im Gewächshausversuch nicht schlechter als Boniturstufe 3 bewertet wurden sowie diejenigen, welche vom Projektpartner LFE physiologisch untersucht worden sind (148 Pflanzen), im Schattenzelt überwintert.

Ergebnisse

Boniturergebnisse über alle 40 Nachkommenschaften

Bereits in der Anzucht wurde festgestellt, dass es erhebliche Unterschiede in der Reaktion auf Multistressfaktoren wie Spätfrost, Fraß und Mehltau zwischen den Nachkommenschaften gab, die zum Teil auf phänologischen Unterschieden beruhten. Auffallend war die unterschiedliche Resilienz der Nachkommen bei Spätfrost. Am 23. April 2024 ereignete sich ein Spätfrostereignis mit Temperaturen bis zu -6°C in der Nacht. Dieses

führte zu einem enormen Frostschaden an den bereits ausgetriebenen Jungpflanzen, wobei die meisten einen starken Blattverlust erlitten.

Die Reaktion der Nachkommen auf das Wasserdefizit beginnt nach drei Wochen sichtbar zu werden, und die größten Unterschiede treten nach fünf Wochen auf. In Abbildung 23 ist das Verhalten der Nachkommen aus den einzelnen Bundesländern nach ihrer mittleren Boniturnote zu diesen beiden Zeitpunkten dargestellt, geordnet nach der Wasserbilanz am Standort des Mutterbaumes. Im Mittel wird ersichtlich, dass die Nachkommen aus dem Bundesland Brandenburg mit geringeren Vitalitätsverlusten auf den Wassermangel reagieren als die Nachkommen aus dem Bundesland Baden-Württemberg. Über alle Nachkommenschaften lässt sich kein klarer Einfluss der Standortswasserbilanz des Bestandes und somit des einzelnen Plusbaumes erkennen (Abbildung 23). Nachkommen, die nach dem Spätfrostereignis eine hohe Resilienz aufwiesen, schnitten unter Trockenstress schlechter ab. Es ist zu vermuten, dass die Pflanzen durch diesen zusätzlichen Stressfaktor nicht mehr adäquat auf den Wassermangel reagieren konnten.

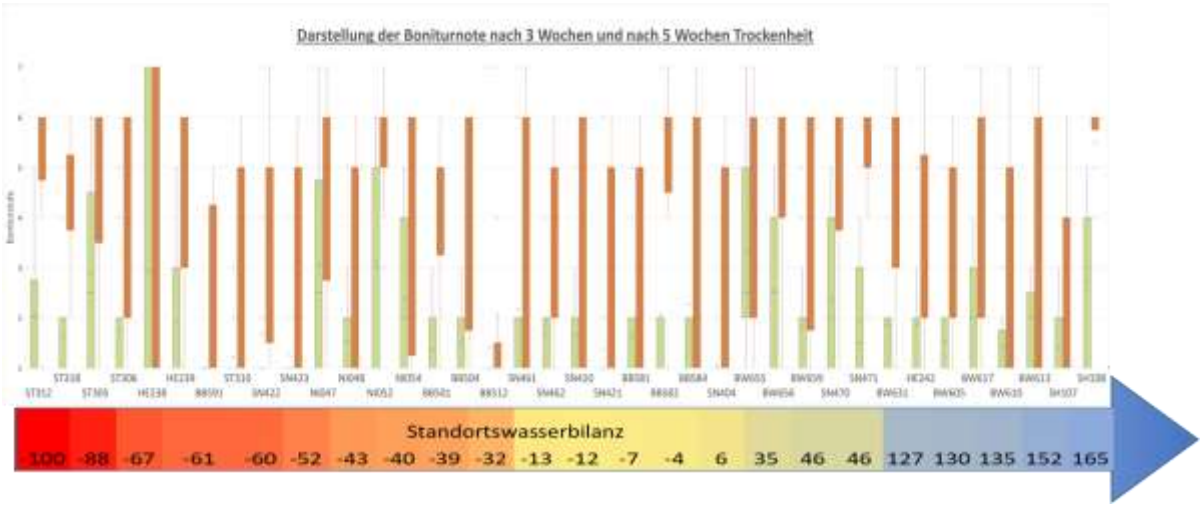


Abbildung 23: Beurteilung der TS-Reaktion der Nachkommenschaft. Die grünen Balken beschreiben die Boniturstufen nach 3 Wochen Trockenheit, die orangen Balken die Boniturstufe nach 5 Wochen Trockenheit. Die Sortierung der Nachkommen erfolgt entlang des Gradienten der Wasserbilanz des Standortes des Plusbaumes. Eine niedrige Boniturstufe bedeutet eine gute Vitalität der Nachkommenschaft.

Von den 148 Pflanzen, deren Vitalität nach dem Trockenstress besser als mit Boniturnote 3 bewertet worden war, trieben 122 im Frühjahr 2025 wieder aus, was etwa 18% der mit Wasserdefizit behandelten Pflanzen entspricht. Tendenziell überlebten mehr Nachkommen aus Brandenburg (24%) und Sachsen (24%) als aus Hessen (16%), Baden-Württemberg (15%), Niedersachsen (18%), Schleswig-Holstein (11%) und Sachsen-Anhalt (12%). Aus der für biochemische Untersuchungen ausgewählten Versuchsgruppe trieben nur 7 Pflanzen aus sechs der 20 Nachkommenschaften wieder aus.

Ergebnisse der biochemischen Blattuntersuchungen von 20 ausgewählten Nachkommenschaften

Die erfolgreiche Durchführung des Trockenstressversuches zeigt sich zunächst in den prozentualen Wasseranteilen (Topfwassergehalt) im Bodenwasser infolge insbesondere der Transpiration (Abbildung 24).

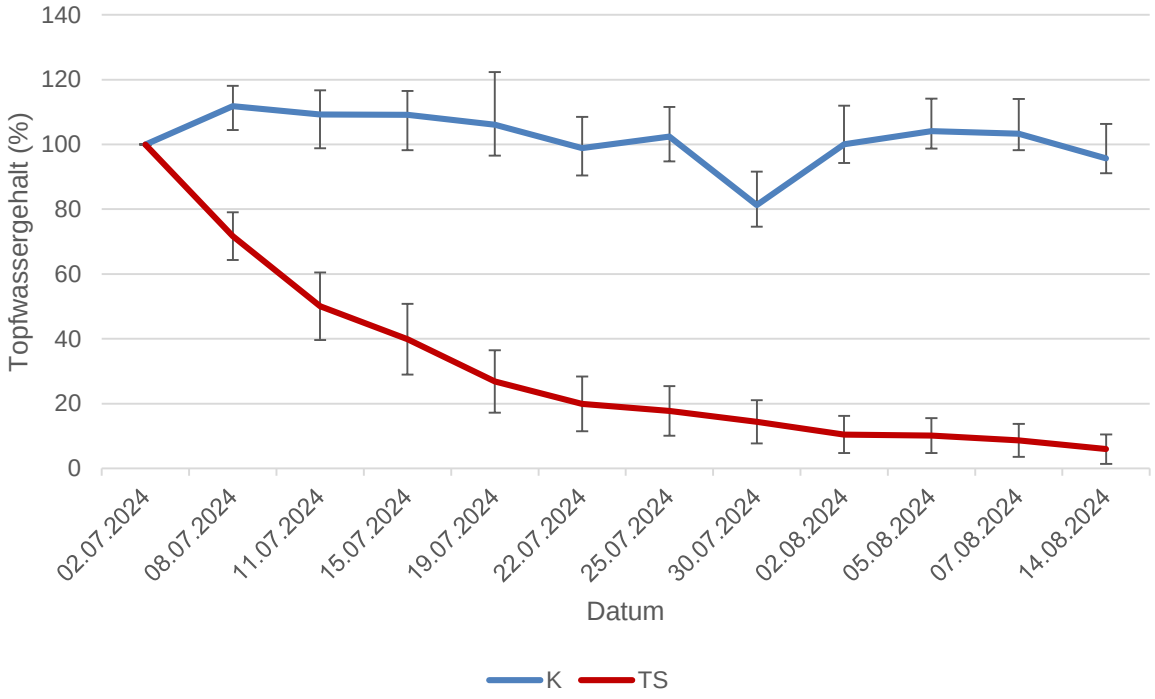


Abbildung 24: Zeitlicher Verlauf der prozentualen Bodenwassergehalte in Töpfen während der sechswöchigen Versuchsdauer differenziert nach Trockenstress- (TS) und Kontrollvariante (K).

Vergleicht man den Wasserverlust der einzelnen Nachkommenschaften zu den drei Beprobungsterminen, zeigen sich deutliche Unterschiede auch zwischen Plusbäumen innerhalb eines Bestandes und benachbarter Populationen (Abbildung 25). So stehen z.B. die vergleichsweise hohen Wasserverluste der Nachkommenschaften des Plusbaumes BW659 den geringen Verlusten der Nachkommenschaften der Plusbäume BW664 und 656 gegenüber. Auffällig geringe Wasserverluste waren ebenfalls bei den Nachkommenschaften ST318, ST312, SN470 und SH108 zu beobachten.

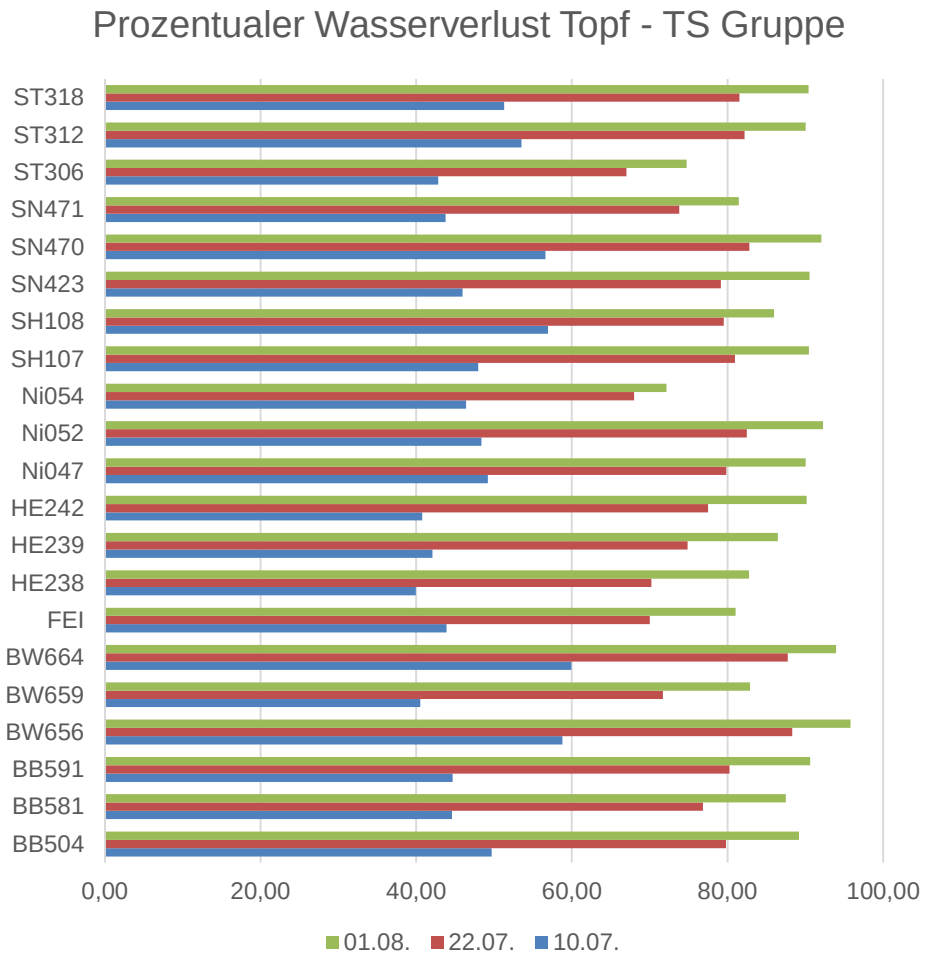


Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf des prozentualen Wasserverlustes in Töpfen zum Zeitpunkt der drei Beprobungen differenziert nach Nachkommenschaften der Plusbäume.

Ausgehend von den Wasserverlusten zeigten die Nachkommenschaften der 20 Plusbäume (zzgl. einer Flaumeiche, FEI) deutliche Unterschiede in der Ausprägung einzelner Blattinhaltsstoffe. Am Ende des Versuches (Beprobung 01.08., also knapp 5 Wochen nach Beginn des Wasserdefizits) hatten die Blätter von Nachkommenschaften aus Hessen (HE 239, 242, 238), Brandenburg (BB 504, 591) und Sachsen (SN423) (sowie der Flaumeiche) die höchsten und die Blätter von Nachkommenschaften aus Niedersachsen (Ni 054), Schleswig-Holstein (SH 108) und Baden-Württemberg (BW 664, 656) die geringsten Blattwassergehalte (Abbildung 26).

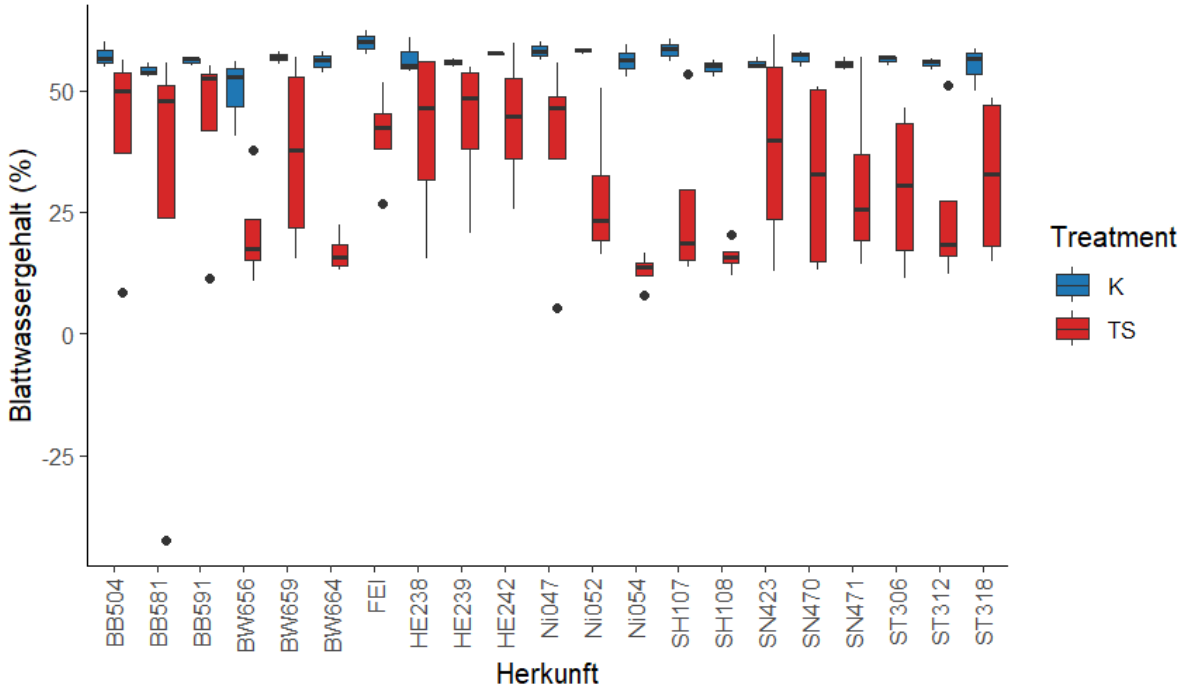


Abbildung 26: Variabilität der prozentualen Blattwassergehalte der untersuchten Plusbaum-Nachkommenschaften zum Zeitpunkt der dritten Probenahme (01.08.2024)

Fast alle Nachkommenschaften folgten bei Trockenheit einer typischen Stresskaskade unterschiedlich starker Ausprägung, bei der z.B. die Blattgehalte an löslichen Kohlenhydraten stark ansteigen und die Stärkegehalte gegenüber der Kontrollgruppe sinken. Die Akkumulation von Kohlenhydraten in den Blättern trockengestresster Pflanzen sind in der Regel die Folge einer gestörten Phloembeladung. Wie die bewässerte Kontrollgruppe zeigt, sind die Gehalte der löslichen Kohlenhydrate infolge des permanenten Abflusses ins Phloem in Blättern gering. Danach war insbesondere die Phoembeladung der Nachkommenschaften von ST306, SH108, BB581 und BB504 gestört. Dagegen flossen die Kohlenhydrate bei den Nachkommenschaften von HE238, HE239 und der Flaumeiche noch vergleichsweise gut ab (Abbildung 27).

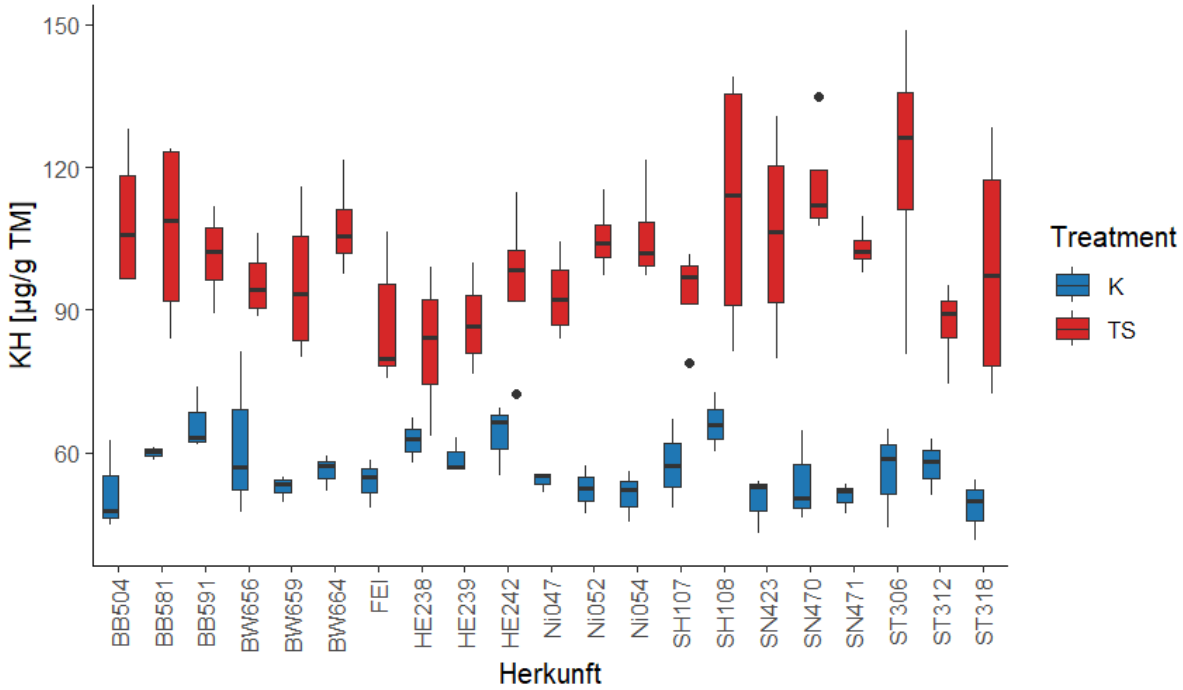


Abbildung 27: Variabilität der Blattgehalte an löslichen Kohlenhydraten der untersuchten Plusbaum-Nachkommenschaften zum Zeitpunkt der dritten Probenahme (01.08.2024)

Im Gegensatz zu den löslichen Kohlenhydraten sind die Stärkegehalte z.B. für die Blattatmung in vitalen Blättern vergleichsweise hoch. Unter Wassermangelbedingungen nimmt dagegen der Stärkegehalt generell stark ab, u.a. da die Photosyntheseleistung erheblich reduziert ist. Unter diesen Stressbelastungen war der Blattstärkegehalt der Nachkommenschaften von HE238, BB581 und HE242 noch vergleichsweise hoch. Bei der Nachkommenschaft BB581 hatten auch die Kontrollen hohe Stärkegehalte (Abbildung 28).

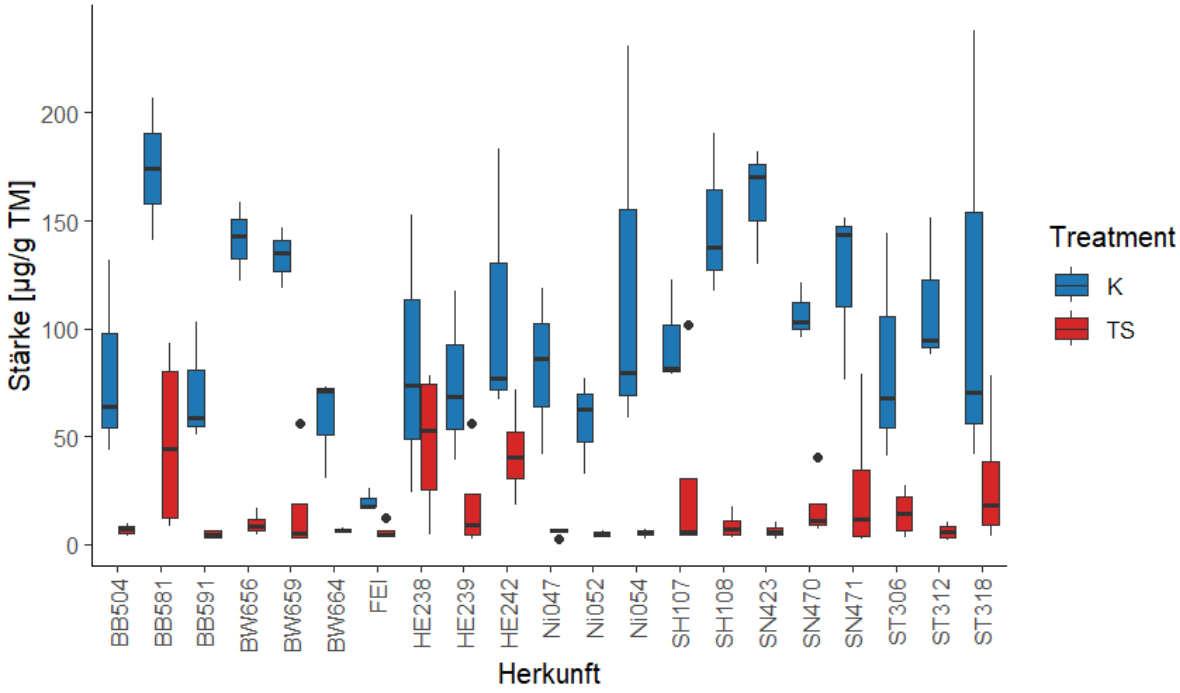


Abbildung 28: Variabilität der Blattgehalte an Stärke der untersuchten Plusbaum-Nachkommenschaften zum Zeitpunkt der dritten Probenahme (01.08.2024)

Die Aminosäure Prolin gilt als wichtiger multifunktionaler Stressmarker, die u.a. osmotisch wirksam ist. Neben dem starken Anstieg des Prolingehaltes in Blättern der Flaumeiche, fallen die hohen Gehalte in den Blättern der Roteichennachkommenschaften BW664, BW 656, Ni052, Ni054, SH107 und ST312 auf. Dagegen waren die Prolingehalte der Nachkommenschaften aus Brandenburg BB581, BB591, aus Baden-Württemberg BW659, aus Hessen HE238, 239, 242 und Sachsen SN423 bzw. Schleswig-Holstein SH108 am Ende des Versuches gering (Abbildung 29).

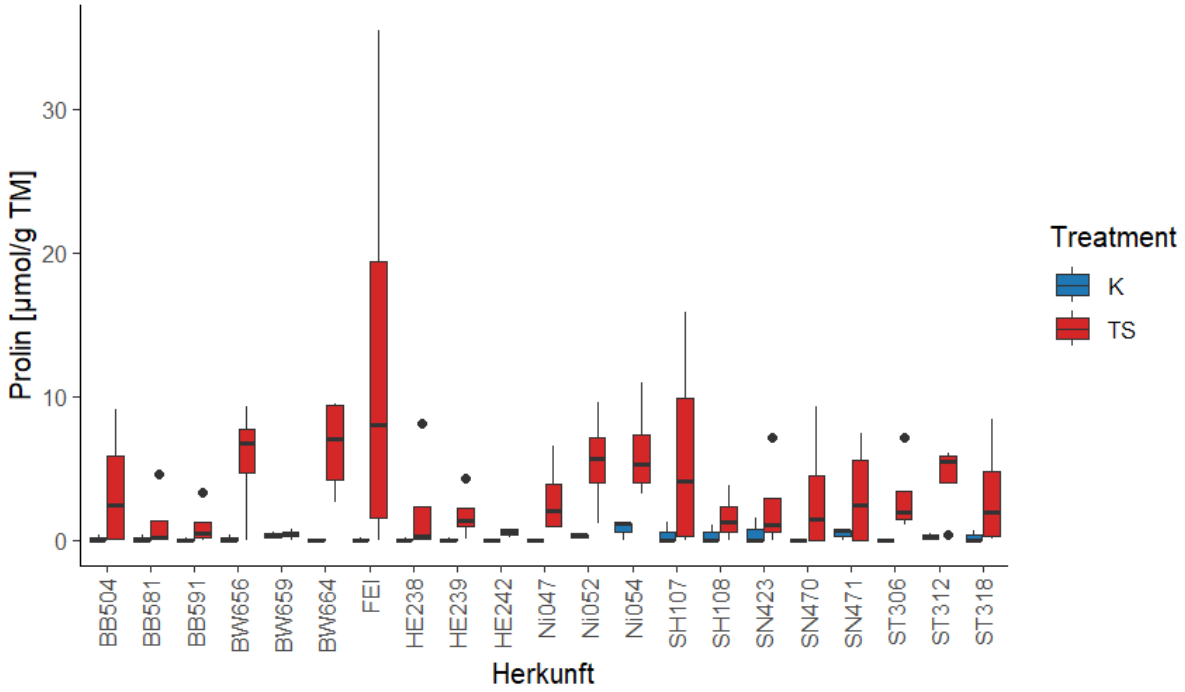


Abbildung 29: Variabilität der Blattgehalte an Prolin der untersuchten Plusbaum-Nachkommenschaften zum Zeitpunkt der dritten Probenahme (01.08.2024)

Ebenso nahmen die Chlorophyllgehalte unterschiedlich stark ab, wobei die geringsten Chlorophyllverluste bei den Nachkommenschaften aus Sachsen (SN471) und Brandenburg (BB581) auftraten (Abb. 19). Eine Reihe von Nachkommenschaften aktivierten bei zunehmender Trockenheit die Synthese phenolischer Inhaltsstoffe (folinpositive Verbindungen). Insbesondere wurde bei einzelnen Nachkommenschaften aus Sachsen-Anhalt (ST318), Sachsen (SN471) und Brandenburg (BB504, 581, 591) sowie bei der Flaumeiche die Synthese kondensierter phenolischer Inhaltsstoffe (Procyanidine = PC, Vanillinpositive Verbindungen = VAN) stark aktiviert.

In einer Heatmap (Abbildung 30) wurden auffällige Abweichungen der Mittelwerte bezüglich der untersuchten Inhaltsstoffe und Nachkommenschaften vergleichend zwischen der bewässerten Kontrollvariante (K) und der Trockenstresspflanzen (TS) zusammenfassend dargestellt. Unabhängig von der jeweiligen Nachkommenschaft zeigte sich bei den Proben der 3. Probennahme ein deutlicher Unterschied zwischen den hohen Gehalten an photosynthetisch aktiven Pigmenten (Carotin, Chlorophylle) und Topf- bzw. Blattwassergehalten sowie den geringen Gehalten an Gesamtphenolen und Kohlenhydraten bei den bewässerten Kontrollpflanzen gegenüber den Trockenstress-Eichen. Bei dem Vergleich der Versuchsglieder sticht die Flaumeiche mit einem deutlichen Anstieg der untersuchten phenolischen Inhaltsstoffe unter Wassermangelbedingungen hervor (s.o.).

Auffällig geringe Trockenstressreaktionen zeigen die Roteichennachkommenschaften:

- **HE242** geringe Blattwasserverluste, geringe Prolinakkumulation, wenig Stärkeverluste
- BB591 geringe Blattwasserverluste, geringe Prolinakkumulation, geringe Chlorophyllverluste
- **HE238**: geringe Kohlenhydratakkumulation, geringer Stärkeverlust
- **BW659**, geringe Prolinakkumulation, geringe Chlorophyllverluste
- **BB581:** geringe Prolinakkumulation
- **SN423:** geringe Prolinakkumulation
- BB504 geringe Chlorophyllverluste
- Ni052 geringer Chlorophyllverlust
- **HE239** geringe Blattwasserverluste

Bei der Austriebsbonitur 2025 trieben nur sieben Einzelbäume des biochemisch untersuchten Teils der Trockenstress-Gruppe wieder aus. Dabei handelt es sich um jeweils einen Einzelbaum (Ausnahme HE238 mit zwei Bäumen) der fett markierten Nachkommenschaften mit geringerer Trockenstressreaktion.

Dagegen waren bei den Nachkommenschaften SH107, SH108, BW664, BW656 und Ni054 besonders starke Stressreaktionen, mit teilweise hohen Chlorophyll- und Blattwasserverlusten bei gleichzeitig hohen prozentualen Prolinanteilen zu beobachten.

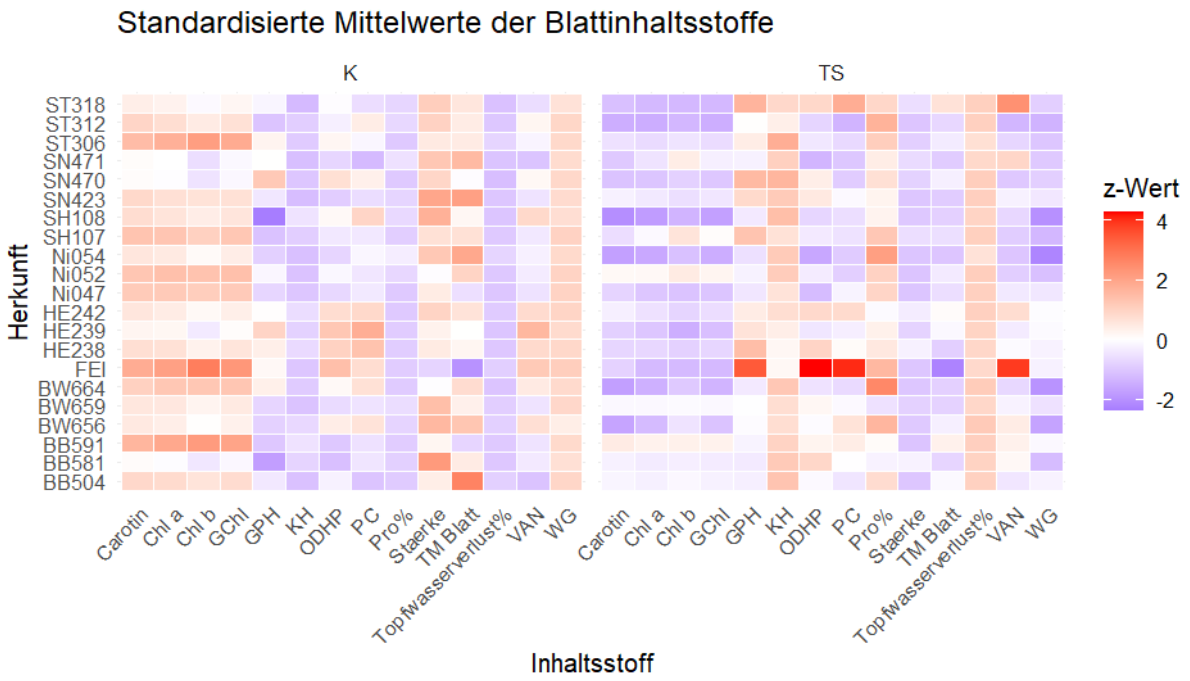


Abbildung 30: Übersicht der Blattinhaltsstoffe (Mittelwerte, standardisiert mittels z-Transformation) in Beziehung zu den untersuchten Plusbaum-Nachkommenschaften zum Zeitpunkt der dritten Probenahme (01.08.2024) darge-stellt als Heat-map. Abkürzungen: Chl_a = Chlorophyll a, Chl_b = Chlorophyll b, GChl = Gesamtgehalt Chlorophyll, KH = Kohlenhydrate, ODHP = o-di-Hydroxyphenole, PC = Procyanidine, Pro% = Prozentualer Anteil Prolin an Gesamtgehalt Aminosäuren, TM Blatt = Trockenmasse Blatt, VAN = Vanillinpositive Verbindungen, WG = prozentualer Blattwassergehalt.

Zusammenfassend zeigt der Trockenstressversuch, dass die Spannweite der Reaktion der Roteiche auf Wasserdefizit im 2. Vegetationsjahr sehr weit verläuft. Die Jungpflanzen kommen bis zu 3 Wochen ohne Wasserzufuhr gut zurecht. Ab 5 Wochen Wasserdefizit zeigen sich die ersten selektiven Unterschiede zwischen den Nachkommenschaften. Jedoch wurde keine eindeutige Abhängigkeit von der Wasserversorgung am Standort des Mutterbaumes nachgewiesen. Das beschriebene Experiment wurde zudem stark durch multifaktorielle Einflüsse während der Anzucht (Schädlingsbefall, Frost) überlagert

Dennoch zeigen sich erste Tendenzen, dass Nachkommen aus eher trockenen Standorten dem Wasserdefizit besser trotzen können als Nachkommen aus nassen Standorten. Das zeigte sich auch beim Wiederaustrieb im Frühjahr nach der Trockenstressbehandlung.

Grundsätzlich ist zu beachten, dass Pflanzen im zweiten Vegetationsjahr scheinbar noch sehr stark mit der Etablierung und dem Wachstum beschäftigt sind. Um sicher interpretierbare Reaktionsmuster zwischen den Nachkommen zu erhalten, ist ein Austrocknungsversuch im dritten Vegetationsjahr der Pflanzen daher erfolgversprechender, da sie zu diesem Zeitpunkt größer und stabiler sind. Im Rahmen der Projektlaufzeit war das leider nicht möglich.

Literatur

Anonymus 1995: Boniturschemata der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Abteilung C, Forstpflanzenzüchtung, unveröffentlicht

Kätzel, R.; Zander, M.; Löffler, S. (2015): Wenn der Durst kommt – Eiche, Buche, Kiefer und Douglasie im Trockenstresstest. Eberswalder Forstliche Schriftenreihe, Bd. 59, 40-54

Körner, A.; Kolo, H.; Stimm, B.; Wezel, G. (2012): Stufigkeit als wichtiges Merkmal der Qualität von Forstpflanzen. AFZ-Der Wald, H. 16, S. 13-15.

Stimm, B., Rothkegel, W., Ruppert, O., & Mosandl, R. (2014). Die Qualität von Forstpflanzen als entscheidende Voraussetzung für den Kulturerfolg. LWF Wissen, 74, 54-62.

Arbeitspaket 18: Anzucht der Nachkommenschaften und Pfropfung

Nachkommenschaften

Aufgrund der weitgehend verschobenen Saatguternte im Herbst 2022 konnten lediglich die Sämlinge für den **Trockenstressversuch** (AP 17) im Jahr 2023 angezogen werden. Entgegen der ursprünglichen Planung geschah dies nicht an der NW-FVA, sondern direkt am SBS in Graupa. Dazu wurden Eicheln von 40 kartierten Roteichen ausgewählt und im März in Quick-Pot-Paletten ausgesät. Bei einer durchschnittlichen Keimungsrate von 89 % standen ausreichend Sämlinge für den Trockenstressversuch in 2024 zur Verfügung. Die Sämlinge wurden im September 2023 in 2 L-Töpfe umgetopft und nach der Vegetationsperiode einer Abschlussbonitur mit Erfassung der Blattverfärbungen, der Blattanzahl sowie der Höhen unterzogen (Abbildung 31). Dabei wurden deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Beständen festgestellt. Die Pflanzenhöhe der einzelnen Plusbaumnachkommenschaften lag im Herbst 2023 zwischen 9 und 23 cm, wobei die zuerst gekeimten größer waren als die zuletzt aufgekeimten. Die Blattanzahl betrug zwischen vier und neun Blättern, wobei die Blattanzahl eher unabhängig vom Keimzeitpunkt der einzelnen Nachkommenschaften war.

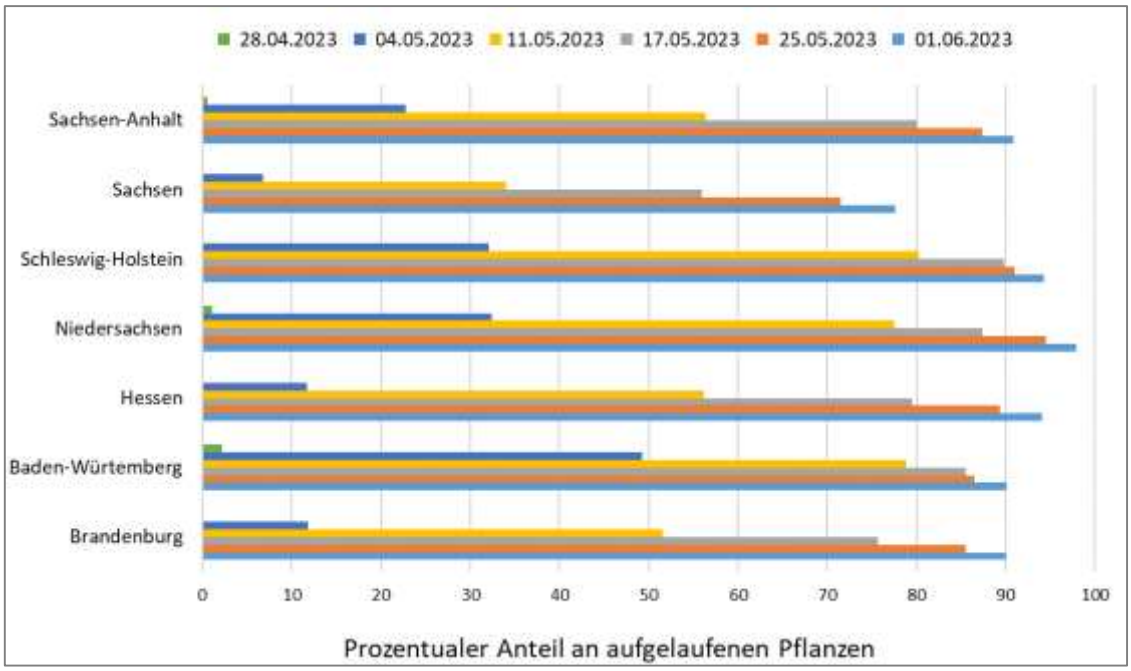


Abbildung 31: Auflaufbonitur (prozentualer Anteil aufgelaufener Pflanzen) der 2023 ausgesäten Roteichen für den Trockenstressversuch 2024

Die Aussaat des Roteichen-Saatgutes für die Anlage der **Nachkommenschaftsprüfungen** erfolgte sowohl bei der FVA-BW als auch bei der NW-FVA im Frühjahr 2024. Zur Ermittlung der Keimprozente wurden im April 2024, sofern vorhanden, 24 (NW-FVA) bzw. 48 (FVA-BW) Eicheln pro Prüfglied in Quick-Pots ausgesät. Damit konnte ausgeschlossen werden, dass eine bei den Eichenarten häufig vorkommende Mehrtriebigkeit die Ergebnisse verfälscht. Der Austrieb wurde wöchentlich über einen Zeitraum von 11 Wochen (Mitte Mai bis Ende Juli 2024) ermittelt. Ende Juli lag die Keimungsrate bei 80 % (NW-FVA) bzw. 89 % (FVA-BW).

Das übrige Saatgut wurde im Mai 2024 im Freiland ausgesät. Dazu wurden im Vorfeld die Beete mittels einer Fräse aufgelockert und die Aussaatrillen mit einer Rillenwalze gezogen. Die Eicheln selbst wurden händisch in 2-3 cm Tiefe gesteckt und anschließend mit Erde oder Sand bedeckt.
An der NW-FVA erfolgte die Aussaat von ca. 55.000 Eicheln (228 kg) in 6,5 100-m-Bahnen mit je 4 Aussaatrillen. Aufgrund der geringen Saatgutmengen wurde nicht nur das qualitativ hochwertige Saatgut, sondern auch das durch die Schwimmprobe als minderwertig ermittelte Saatgut ausgebracht, um so viele Sämlinge wie möglich anziehen zu können. So konnte Saatgut von 100 Plusbäumen ausgebracht werden. Zum Schutz wurde ein Netztunnel über dieses gespannt und eine Tröpfchenbewässerung installiert.
An der FVA-BW wurden schätzungsweise 80.000 - 85.000 Eicheln (470 kg) in 6,5 70-m-Bahnen mit je 5 Aussaatrillen gesät. Aufgrund höherer Erntemengen wurde das abgeschwemmte Saatgut nicht ausgesät. Von sechs Roteichen war nur wenig Saatgut vorhanden, weshalb auf die Aussaat verzichtet wurde. Insgesamt

wurde an der FVA-BW Saatgut von 99 Plusbäumen ausgesät. Von einem zusätzlichen Schutz wurde abgesehen. Zur Bewässerung wurde hier außerdem auf Kreisregner zurückgegriffen.
An beiden Institutionen erfolgte die händische Unkrautbeseitigung regelmäßig über die gesamt Vegetationsperiode 2024.

Um abschätzen zu können, wie viele Sämlinge für die Anlage der Nachkommenschaftsprüfungen zur Verfügung stehen, wurden an der NW-FVA im Juli die **Sämlingszahlen** ermittelt. Dazu wurde je Prüfglied sowie je guter und schlechter Partie ein Meter im Saatbeet abgesteckt. Die Zahl der Sämlinge auf diesem Meter wurde entsprechend der Bahnlänge je Prüfglied hochgerechnet. Die absoluten Zahlen sind Tabelle 8 zu entnehmen. Insbesondere bei den Prüfgliedern aus dem Zuständigkeitsbereich der NW-FVA liefen bedingt durch die geringen Erntemengen und die schlechte Saatgutqualität teils nur wenige Sämlinge auf. Meist konnten weniger als 100 Sämlinge je Prüfglied angezogen werden. Bei einigen Prüfgliedern erwies sich die Aussaat des schlechten Saatgutes im Nachhinein als sehr sinnvoll, da die Keimung erfolgreicher verlief als gedacht. Bei Plusbaum Nr. 462 (Sachsen) konnten bspw. nur 60 Sämlinge aus dem guten, jedoch 441 Sämlinge aus dem schlechten Saatgut angezogen werden. Bei Plusbäumen mit ausschließlich schlechtem Saatgut konnten so immerhin einige Sämlinge angezogen werden.
An der FVA-BW erfolgte eine Einschätzung der mutmaßlichen Sämlingszahlen rein visuell. Aufgrund der überwiegend hohen Saatgutverfügbarkeit und entsprechender Keimungsrate wurde hiervon abgesehen. Lediglich bei Prüfgliedern mit geringen Sämlingszahlen wurde eine Vollaufnahme getätigt.

Ende August/Anfang September wurde in einer einmaligen Bonitur die **Johannistriebbildung** der Sämlinge aufgenommen (Tabelle 8, Abbildung 32). An der NW-FVA erfolgte diese einerseits an den in Quick-Pots ausgesäten Roteichen, wobei Johannistriebe an durchschnittlich 18,5 % der Pflanzen festgestellt werden konnten. Andererseits wurden die Johannistriebe der Sämlinge im Feld ermittelt. Dazu wurden die Pflanzen mit und ohne Johannistrieb auf dem ersten Meter einer jeden Familie gezählt und auf die Bahnlänge je Familie hochgerechnet. Es konnte so eine Johannistriebbildung von durchschnittlich 72 % festgestellt werden (zwischen 19-100 %). Interessant sind die Unterschiede zwischen den Bundesländern. Mit einem Anteil von durchschnittlich 94 % wiesen die nordwestlichen Bundesländer Hessen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein die meisten Johannistriebe auf. Die östlichen Bundesländer Brandenburg, Sachsen und Sachsen-Anhalt hingegen zeigten im Mittel eine Johannistriebbildung an 66 % der Nachkommen.
An der FVA-BW wurden im Freiland 25 Nachkommen je Familie nach einem vorab festgelegten System ausgewählt und dauerhaft markiert (2.475 Pflanzen). Bei diesen Individuen lag die Johannistriebbildung bei durchschnittlich 50 % (zwischen 0-100 %). Des Weiteren setzte an rund 30 % dieser Individuen im Zeitraum August bis September ein zusätzlicher Wachstumsschub ein.

Abbildung 32: Johannistriebbildung (A) und Herbstverfärbung (B) der Nachkommenschaften. (Fotos: NW-FVA)

Im Herbst wurde eine Aufnahme der **Pflanzenhöhen** durchgeführt (Tabelle 8). An der NW-FVA erfolgte dies an 20 Sämlingen je Prüfglied. Die höchsten Durchschnittswerte wiesen Sämlinge aus Brandenburg auf, gefolgt von den Sämlingen aus Hessen, Niedersachsen, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein. Generell schwankten die Höhen stark innerhalb und zwischen den einzelnen Prüfgliedern. Es wurden sowohl sehr niedrige Werte (2 cm) als auch sehr hohe Werte (72 cm) gemessen. In der Baumschule der FVA-BW sind die Pflanzenhöhen an den bereits markierten 25 Nachkommen einer Familie erfasst worden. Die Spanne reichte von einer Höhe von 3 cm bis über 85 cm.

Tabelle 8: Hochgerechnete Anzahl der im Freiland angezogenen Sämlinge an der NW-FVA im Sommer 2024 sowie die Johannistrieb-bildung [%] und die durchschnittliche Höhe [cm] der bonitierten Pflanzen. An der FVA-BW wurden keine Sämlingszahlen im Freiland berechnet. Die Einschätzung hierzu erfolgte rein visuell.

Projekt-partner	Bundesland	Anzahl Sämlinge (Freiland)	Johannistriebbildung [%]	Ø Höhe [cm]
FVA-BW	BW	-	50	21,1
NW-FVA	HE	616	90	20,4
	NI	396	95	18,9
	ST	1.711	69	15,6
	SH	136	98	14,6
SBS	SN	12.721	61	18,5
LFE	BB	7.026	68	21,3

Die Bonitur der **Herbstfärbung** (Abbildung 33) erfolgte einmal wöchentlich von Ende September bis Anfang Dezember 2024. Verwendet wurde das Boniturschema, das bereits für die 2023 am SBS angezogenen Sämlinge genutzt wurde (Tabelle 9).

Tabelle 9: 6-stufiges Boniturschema der Herbstverfärbung

Boniturstufe	Beschreibung	Bild
0	Alle Blätter grün	
1	< 50 % rot/gelb verfärbt	
2	> 50 % rot/gelb verfärbt	

Boniturstufe	Beschreibung	Bild
3	< 50 % braun verfärbt	
4	> 50 % braun verfärbt	
5	alle Blätter abgefallen	

An der NW-FVA wurden die ersten 30 Sämlinge einer jeden Partie bonitiert. Es ließen sich nur geringe Unterschiede zwischen den Prüfgliedern und Bundesländern erkennen (Abbildung 33). Ende September zeigten viele Sämlinge erste rötliche Verfärbungen. Bis zum 23.10.2024 verlief die Rotverfärbung bei allen Prüfgliedern sehr moderat und schwankte zwischen < 50 % (Boniturstufe 1) und > 50 % Rotfärbung (Boniturstufe 2). Ende Oktober bis Mitte November kam es zu ersten Braunfärbungen der Blätter (Boniturstufe 3). Sämlinge aus Niedersachsen und Schleswig-Holstein wiesen in diesem Zeitraum weniger Braunfärbungen auf als Sämlinge aus anderen Bundesländern. Ihre Blätter blieben etwas länger rot. Ab Ende November zeigten wieder fast alle Sämlinge > 50 % Braunverfärbungen (Boniturstufe 4). Anfang Dezember hatten die meisten Sämlinge, unabhängig vom Bundesland, ihre Blätter abgeworfen (Boniturstufe 5).

An der FVA-BW wurden diejenigen Sämlinge bonitiert, die bereits für die Bonitur der Johannistriebe markiert worden waren. Von einigen Familien waren jedoch nur wenige Nachkommen vorhanden, weshalb diese von der Bonitur ausgeschlossen worden sind. Daher wurden lediglich 94 Familien bei dieser Bonitur berücksichtigt. Ähnlich der NW-FVA setzte ab Mitte Oktober eine zunehmende Rotfärbung ein (Boniturstufe 1 & 2). Mitte Oktober, wobei zu diesem Zeitpunkt auch eine erste Braunverfärbung der Blätter beobachtet werden konnte (Boniturstufe 3). Der weitere Verlauf der Herbstfärbung verhält sich ebenfalls ähnlich der Bonitur an der NW-FVA (siehe Abbildung 33). Bis zur Anlage der Nachkommenschaftsprüfungen im Frühjahr 2025 werden die Sämlinge der NW-FVA und der FVA-BW in der jeweiligen Baumschule verbleiben. Für das 1. Quartal 2025 sind die Rodung, Sortierung, Etikettierung und der Versand der Sämlinge an die Projektpartner geplant. Zuständig dafür ist nach Projektende an der NW-FVA das Sachgebiet 3 „Züchtung und Prüfung forstlichen Vermehrungsgutes“ der Abteilung Waldgenressourcen.

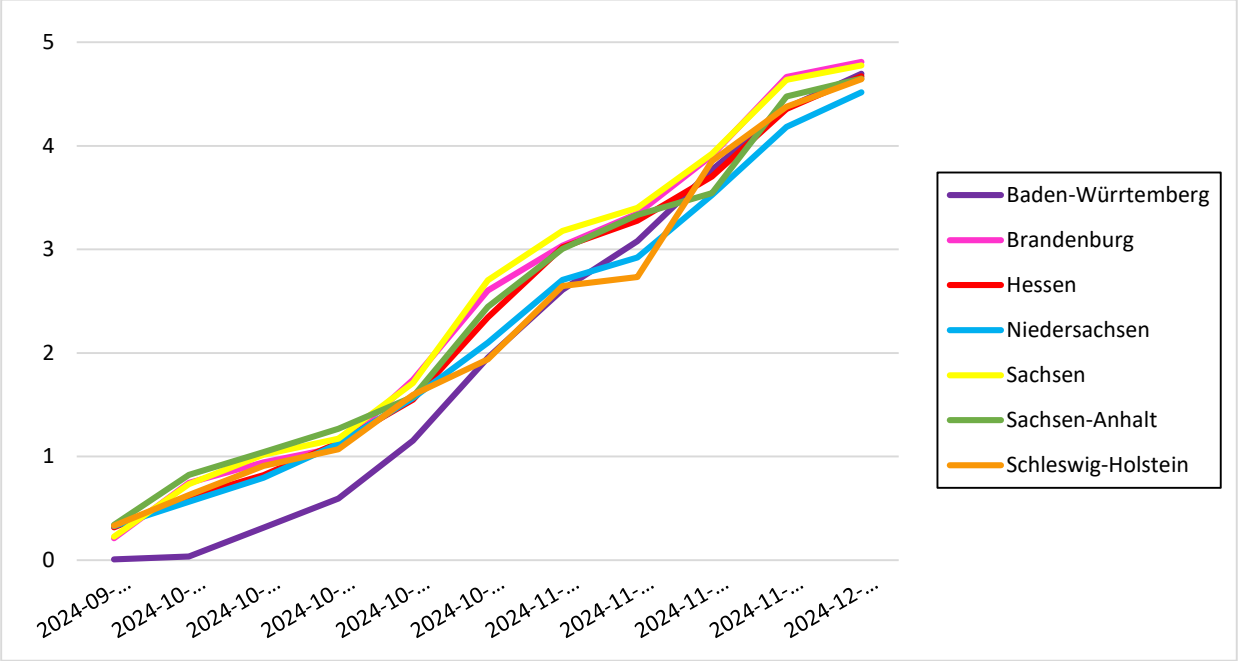


Abbildung 33: Triebabschluss/Herbstverfärbung der Nachkommenschaften je Bundesland von Ende September bis Anfang Dezember. Boniturstufen: 0 = alle Blätter grün; 1 = < 50 % rot/gelb verfärbt; 2 = > 50 % rot/gelb verfärbt; 3 = < 50 % braun verfärbt; 4 = > 50 % braun verfärbt; 5 = Blätter abgefallen.

Pfropfung und Anzucht der Pfropflinge

Die im Rahmen von AP 15 gewonnen Reiser wurden im Februar/März 2023 durch das Personal der NW-FVA und der FVA-BW veredelt (Winterveredelung). Es wurden 2.200 Veredelungen an der NW-FVA und 2.400 Veredelungen an der FVA-BW durchgeführt. Pro Plusbaum wurden 22 Reiser veredelt. Die sächsischen Reiser wurden vor der Veredelung stufenweise über zwei Tage aufgetaut. Als Unterlagen kamen sowohl getopfte als auch wurzelnackte Roteichen zum Einsatz, da die Verfügbarkeit von geeigneten Unterlagen zum Zeitpunkt der Pfropfung eingeschränkt war. Die im November 2021 an der NW-FVA ausgesäten und angezogenen Unterlagen waren zum Zeitpunkt der Veredelung noch nicht groß genug, um verwendet werden zu können. Deshalb musste auf Unterlagen zurückgegriffen werden, die bei Baumschulen bestellt wurden. Je nach Unterlage und Qualität des Edelreises kamen verschiedene Veredelungstechniken zum Einsatz (u.a. Kopulation, Geißfuß, Spaltveredelung). Im direkten Anschluss an die Pfropfung wurden die Veredelungen in flüssiges Rebwachs getaucht, um die Schnittstelle zu versiegeln und einer Infektion mit Pilzen vorzubeugen. Die Anzucht erfolgte in Töpfen (FVA-BW) bzw. Beetkästen (NW-FVA) in den hauseigenen Baumschulen (Abbildung 34). Um ein warm-feuchtes Klima zu erzeugen und den Anwuchs der Veredelungen zu fördern wurden für die ersten Wochen Folientunnel über die Beetkästen gespannt.

Abbildung 34: Frisch veredeltes Roteichen-Reis (A) und austreibende Roteichen-Pfropflinge im Beetkasten (B) (Fotos: NW-FVA)

Der Austrieb der Pfropflinge erstreckte sich über einen Zeitraum von mehreren Wochen und wurde regelmäßig bonitiert. Es zeigte sich, dass einige Pfropflinge nach dem Austrieb wieder vertrockneten. Manche Veredelungen trieben erst sehr spät aus (Juni). Im weiteren jahreszeitlichen Verlauf standen Pflegemaßnahmen wie das Abwildern der Unterlagen, das Stäben der Pfropflinge zur Fixierung der Veredelungsstelle und Unkraut- und Schädlingsbekämpfung im Vordergrund. Der Anwuchserfolg lag bei der NW-FVA bei ca. 55 % und bei der FVA-BW bei ca. 33 %, wobei der Anwuchs je Plusbaum (= Genotyp) stark variierte. 91 Genotypen (NW-FVA) bzw. 66 Genotypen (FVA-BW) wiesen mehr als sechs Rameten auf. Diese Rametenzahl hat sich in der Praxis (Flächenanlage) als sinnvoll erwiesen. Es zeigte sich, dass der Veredelungserfolg stark von der Qualität der Reiser und der Qualität der verwendeten Unterlagen abhing. Auswertungen der NW-FVA ergaben, dass qualitativ gute Reiser, die durch einen kräftigen Wuchs und große Endknospen gekennzeichnet waren, signifikant besser anwuchsen als qualitativ schlechte Reiser, welche schwachwüchsig und reich an Kurztriebketten waren. Der Anwuchserfolg guter Reiser lag bei 65,9 %, mittelguter Reiser bei 54,9 % und schlechter Reiser bei 46,9 %. Reiser, die auf Container-Unterlagen mit einem intakten, feinwurzelreichen Wurzelsystem gepfropft wurden, zeigten Überlebensraten von 63,2 %. Reiser, die auf wurzelnackte Unterlagen gepfropft wurden, welche im Vorfeld einem starken Wurzelschnitt unterzogen wurden waren, zeigten hingegen Überlebensraten von 49,8 %. Auch Krahl-Urban & Pott (1955) und BENOIT (2009) beschreiben, dass der Anwuchserfolg, neben der fachgerechten Anwendung unterschiedlicher Veredelungstechniken, insbesondere in der Qualität der Reiser, der Qualität der Unterlagen sowie Pfropfunverträglichkeiten begründet liegt.

Die einjährigen Veredelungen der NW-FVA wurden im Frühjahr 2024 ins Freiland verschult.

Im 1. Quartal 2024 erfolgte an der NW-FVA eine Nachveredelung von 64 Reisern aus Brandenburg. Die Reiser stammten von zwei Plusbäumen, bei denen die Veredelungen im Jahr 2023 nur ungenügend angewachsen waren, sowie von einem Plusbaumkandidaten aus demselben Bestand. An der FVA-BW wurden 1.080 Reiser von 53 Plusbäumen und Plusbaumkandidaten nachveredelt. Die Veredelungen erfolgten nach demselben Vorgehen wie 2023. An der NW-FVA konnten die für diesen Zweck seit November 2021 angezogenen Roteichen-Sämlinge als Unterlagen verwendet werden. Die Anzucht erfolgte sowohl bei NW-FVA als auch bei FVA-BW über das Jahr 2024 in Töpfen. Der Anwuchserfolg lag bei ca. 45 %.

Insgesamt wurden in den Jahren 2023 und 2024 an beiden Standorten 5.744 Veredelungen durchgeführt.

Literatur

Benoit, D. (2009): Clonal Oak Propagation by Grafting. International Oak Journal No. 20, S. 7-12.

Krahl-Urban, J., & Pott, H. (1955): Erfahrungen bei Eichen-und Buchenpfropfungen. Zeitschrift für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, *4*, 58-64.

Arbeitspaket 19: Design und Anlage von Versuchsflächen (Nachkommenschaftsprüfungen)

Nachkommenschaftsprüfung (NKP)

Im Frühjahr 2025 werden im gesamten Bundesgebiet 5 vergleichbare Flächen zur NKP angelegt. Je eine dieser Flächen befindet sich im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW, der NW-FVA, des SBS, des LFE und des Thünen-Instituts. Bei der Auswahl der Flächen ist vorab nicht explizit darauf geachtet worden, eine möglichst breite Standortsamplitude abzubilden. Aufgrund der großräumigen Verteilung der Versuchsflächen und der damit verbundenen Abdeckung verschiedenster Wuchsgebiete wird von unterschiedlichen Standortsbedingungen ausgegangen. Vielmehr lag der Fokus darauf, im Zuständigkeitsgebiet der involvierten Projektpartner ausreichend große Versuchsflächen zu finden, die zudem standörtlich für Roteiche geeignet sind.
Die Pflanzen für die Anlage der NKP sind im Rahmen von AP 18 angezogen worden. Bei der Wahl des **Versuchsdesigns** wurde berücksichtigt, sowohl eine Auswertung der Ursprungsbestände (Herkünfte) als auch der Familien (Einzelbaumabsaaten der Plusbäume) zu ermöglichen. Des Weiteren muss das Design eine Überführung in spätere Sämlings-Samenplantagen ermöglichen, nachdem bestimmte Individuen, Familien und Herkünfte aufgrund deren Leistung herausselektiert und entfernt worden sind. Zusätzlich soll bei der späteren Auswertung der NKP eine möglichst hohe statistische Aussagekraft und Präzision erreicht werden. Daher werden die Prüfglieder als Einzelbaumparzelle gepflanzt, wobei 24 Wiederholungen angelegt werden. Dies bedeutet, dass die Nachkommen einer Familie zum Zeitpunkt der Pflanzung mit 24 Individuen auf der Versuchsfläche vertreten sind. Die einzelnen Wiederholungen sind dabei als *randomized complete block design* (RCB) angeordnet. Somit entspricht jede Wiederholung einem Block, in dem jede Familie mit exakt einem Nachkommen vertreten ist. Die einzelnen Blöcke sind dabei vollständig unabhängig voneinander randomisiert und möglichst als Rechteck geformt, wodurch kleinräumige standörtliche Unterschiede auszugleichen werden

können (Liesebach et al., 2017). Großer Vorteil des RCB ist die relativ unkomplizierte Umsetzung auf der Versuchsfläche sowie die einfachen und möglichst fehlerfreien Auswertungsmöglichkeiten bezüglich genetischer Parameter und Zuchtwerte (White et al. 2007). Bei der praktischen Umsetzung wurden zwei unterschiedliche Ansätze gewählt:

1) FVA-BW, SBS & Thünen-Institut
Bei der Pflanzung wird auf internes Personal zurückgegriffen. Daher ist mittels der Software CycDesigN (Whitaker et al. 2006) vorab ein Pflanzplan erstellt worden. Diese Software ermöglicht es, die Randomisierung auch zwischen den einzelnen Wiederholungen zu optimieren. Jedoch ist der Aufwand bei der Pflanzung durch das aufwendige Zuordnen der Einzelpflanzen am jeweiligen Pflanzplatz deutlich erhöht.

2) NW-FVA & LFE
Hier werden externe Dienstleister bei der Pflanzung miteinbezogen. Da der Aufwand zur Sensibilisierung, Einarbeitung und Überprüfung des externen Personals als zu aufwendig eingeschätzt wird, ist vorab kein finaler Pflanzplan erstellt worden. Stattdessen wird je Wiederholung ein Pflanzsack vorbereitet, in welchem alle Prüfglieder mit genau einem Nachkommen vertreten sind. Anschließend wird das mit der Pflanzung betraute Personal an jedem Pflanzplatz zufällig eine etikettierte Pflanze aus dem Sack ziehen. Dieses Vorgehen führt ebenfalls zu einer guten Randomisierung der Prüfglieder. Erst im Nachgang kann dann der finale Flächenplan erstellt werden. Vorteil dieser Methode ist der reduzierte Aufwand bei der Pflanzung.

Es wurden bei der NKP nur die Familien berücksichtigt, für die ausreichend Nachkommen zur Anlage der 5 Versuchsflächen angezogen werden konnten. Somit werden auf allen Versuchsflächen immer die gleichen Familien vertreten sein, wodurch diese Flächen auch langfristig miteinander vergleichbar sind. Damit auch Nachkommen für theoretisch notwendige Nachpflanzungen in ausreichendem Maß vorhanden sind, werden je Versuchsflächen mind. 40 Pflanzen einkalkuliert. Folglich sind insgesamt mind. 200 Nachkommen je Familie für die Anlage der 5 Versuchsflächen notwendig. In Abhängigkeit der Saatgutgewinnung (siehe AP 15) und der Anzucht der Nachkommenschaften (siehe AP 18) können voraussichtlich 125-130 Familien für die NKP berücksichtigt werden. Der Pflanzverband wird bei 2 x 2 m liegen. Somit ergab sich eine reine Pflanzfläche von ca. 1,25 ha (130 Familien*24 Wiederholungen*4m²). Zur Vermeidung von Randeffekten werden zusätzlich Randreihen mit weiteren Roteichen um die Versuchsfläche gesetzt. Zudem sind bei der Erstellung der Flächenpläne bereits Rückegassen eingeplant und diese werden ebenfalls mit Randpflanzen versehen. Folglich steht allen Versuchspflanzen ein ähnlicher Wuchsraum zur Verfügung und auch die Konkurrenzsituation ist vergleichbar.

Je nach Ausgangslage der Versuchsfläche waren zusätzlich vorbereitende Maßnahmen notwendig. Dies umfasste die Räumung der Fläche und ggf. den Einsatz einer Stockfräse. Alle Flächen wurden zudem gezäunt, um Wildschäden durch bspw. Verbiss zu verhindern. Aufgrund der Projektlaufzeit bis zum 31.01.2025 und der verzögerten Saatgutgewinnung können die finalen **Pflanzarbeiten** erst im Frühjahr 2025 abgeschlossen werden und erfolgen damit nach Projektende.

Zusätzlich wird im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW eine weitere, im Design etwas vereinfachte Fläche angelegt. Grund hierfür ist die teils hohe Anzahl an vorhandenen Nachkommen vieler Familien. Auf dieser rund 1 ha großen Fläche werden aus organisatorischen Gründen keine Einzelbaumparzellen verwendet. Stattdessen wird auf in Reihen angeordnete Mehrbaumparzellen zurückgegriffen. Somit ist in einer Wiederholung eine Familie mit mehreren Nachkommen vertreten, die in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander gepflanzt werden. 60 Familien werden dabei in 7facher Wiederholung vertreten sein. Der Pflanzabstand beträgt 2 x 2 m, ebenso werden Randreihen angelegt. Diese Fläche wird als Absicherung zur in Baden-Württemberg angelegten Nachkommenschaftsprüfung gesehen. Zudem kann diese auch zum Vergleich zwischen dem Aufwand für die Flächenanlage mit Einzel- vs. Mehrbaumparzellen oder zwischen Unterschieden bei der Präzision der späteren statistischen Auswertung dienen.

Pfropflings-Samenplantage

Nach Absprache mit allen beteiligten Projektpartnern wurde entschieden, zwei Pfropflings-Samenplantagen anstelle von zwei Klonarchiven aus den Roteichen-Veredelungen anzulegen. Diese Möglichkeit wurde

Abbildung 35: Pfropflings-Samenplantage „Oldendorf", A: ausgetriebener Roteichen-Pfropfling, B: Samenplantage nach dem reihenweisen Mulchen (Fotos: NW-FVA)

aufgrund der ausreichenden Genotypen- und Rametenzahl gewählt. Wichtig dabei ist, dass eine als Samenplantage angelegte Fläche als Klonarchiv dienen kann, während dies umgekehrt nicht möglich ist. Damit können sowohl die wertvollen genetischen Informationen der ausgewählten Plusbäume gesichert als auch hochwertiges Saatgut produziert werden.

Die Pfropflings-Samenplantage der NW-FVA (Abbildung 35) wurde bereits im Frühjahr 2024 angelegt, da zu diesem Zeitpunkt unklar war, ob es eine Projektverlängerung geben würde. Bei der Fläche handelt es sich um eine ehemalige Fichten-Samenplantage im Forstamt Oldendorf, Revier Ottenstein in Niedersachsen mit einer Größe von 2 ha. Die Verteilung der Pfropflinge wurde im Vorfeld mit dem Optimum Neighborhood Algorithm (ONA) nach Chaloupková et al. (2016) berechnet, um eine größtmögliche Zufallsverpaarung (Panmixie) zwischen den Genotypen zu fördern. Dabei soll ein Genotyp X mit möglichst vielen verschiedenen Genotypen benachbart sein und nicht neben zwei oder mehr Individuen gleichen Genotyps stehen. Insgesamt gibt es 5.050 Genotyp-Genotyp-Kombinationen. 2.702 Genotyp-Genotyp-Kombinationen kommen nicht auf der Fläche vor. 2.335 Genotyp-Genotyp-Kombinationen stehen exakt einmal auf der Fläche. Nur in 13 Fällen kommt es vor, dass eine Kombination aus zwei Genotypen zweimal vorhanden ist. Es wird davon ausgegangen, dass der intensivste Pollenaustausch zwischen engen Nachbarn stattfindet (Chaloupková et al., 2016). Auch die Nachveredelungen der drei Plusbäume aus Brandenburg wurden miteinbezogen. Für deren Nachpflanzung wurden entsprechende Pflanzplätze auf der Fläche freigehalten. Insgesamt wurden 628 Pflanzplätze angelegt. Nach Abschluss aller notwendigen Vorarbeiten (Mulchen, Zaunbau, Pflanzplatzmarkierung) erfolgte die Pflanzung im 5 x 5 m-Verband, um sowohl eine große Kronenbildung, einhergehend mit einer häufigen und reichlichen Fruktifikation, als auch eine einfache Beerntbarkeit der Bäume zu gewährleisten (Vgl. STEINER, 2012). Die Pfropflinge wurden über die Vegetationsperiode 2024 mehrmals händisch freigeschnitten. Ende Juli und Anfang November wurde durch einen Unternehmer entlang der Pflanzreihen gemulcht, um die Begleitvegetation einzudämmen (Abbildung 35). Die Nachpflanzung der im Jahr 2024 nachveredelten Genotypen erfolgte Ende 2024/Anfang 2025. Die angelegte Roteichen-Samenplantage besteht aus 100 Genotypen aus den Bundesländern Hessen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt, Schleswig-Holstein, Brandenburg und Sachsen mit jeweils 5-7 Rameten. Bei Bedarf können schlechte Individuen oder Prüfglieder zu einem späteren Zeitpunkt entfernt werden, ohne die Diversität auf der Fläche zu verringern. Durch die hohe Anzahl an Genotypen unterschiedlicher Herkünfte sowie deren zufällige Verteilung ist mit einer hohen genetischen Vielfalt und damit einhergehend mit einer hohen Anpassungsfähigkeit des Saatgutes gegenüber dem Klimawandel zu rechnen (PAUL & LAU, 2022). Nach Abschluss des Projektes geht die Zuständigkeit für die Pfropflings-Samenplantage auf das Sachgebiet 1 „Erhaltung und Nutzung forstlicher Genressourcen" der Abteilung Waldgenressourcen an der NW-FVA über.

Im Frühjahr 2025 wird eine zweite Pfropflings-Samenplantage im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW angelegt. Aufgrund von Verzögerungen bei der Flächenvorbereitung ist eine frühere Anlage nicht möglich. Die Pfropflings-Samenplantage wird eine Fläche von rund 2,0 ha umfassen und befindet sich in einer vormaligen Forstbaumschule von ForstBW im Forstbezirk Oberland westlich von Biberach an der Riß. Zur Erstellung des Flächenplans wird ebenfalls auf ONA zurückgegriffen. Insgesamt bietet die Fläche bei einem angestrebten

Pflanzverband von 5 x 5 m Platz für ca. 800 Pfropflinge. Es ist vorgesehen, mindestens 100 der im Rahmen von AP 18 erfolgreich veredelten Genotypen mit ausreichender Rametenzahl zu pflanzen.

Literatur

Chaloupková, K.; Stejskal, J.; El-Kassaby, Y.A.; Lstibůrek, M. 2016: Optimum neighborhood seed orchard design. Tree Genetics & Genomes, Volume 12(105), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 7 S.

Liesebach M, Ahrenhövel W, Janßen A, Karopka M, Rau H-M, Rose B, Schirmer R, Schneck D, Schneck V, Steiner W, Schüler S, Wolf W (2017): Planung, Anlage und Betreuung von Versuchsflächen der Forstpflanzenzüchtung : Handbuch für die Versuchsanstellung. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 80 p, Thünen Rep 49, DOI:10.3220/REP1496222427000

Steiner, W. 2012: Hochwertiges Vermehrungsgut durch züchterische Verbesserung - Ein Vergleich verschiedener Möglichkeiten am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.). Forstarchiv 83, Heft 2, S. 85-92.

Whitaker D.; Williams E.R.; John J.A. (2006): Cycdesign 3.0: A package for the computer generation of experimental designs. CycSoftware Ltd, Hamilton, New Zealand

White, T.L.; Adams, W.T.; Neale D.B. 2007: Advanced-generation breeding strategies – Breeding population size, structure and management. Forest genetics. Wallingford UK: CABI, S. 479-522

Paul, M.; Lau, M. 2022: Forstliche Samenplantagen. ImDialog 18(2), S. 10-11.

Arbeitspaket 20: Gesamtkoordination des Vorhabens, Öffentlichkeitsarbeit und Wissenstransfer (Nachkommenschaftsprüfungen)

Gesamtkoordination des Vorhabens

Die Präsenztreffen in den Jahren 2023 und 2024 dienten unter anderem zur Vorstellung der bisherigen Projektarbeiten, zur Klärung offener Sachverhalte oder zur Absprache des weiteren Vorgehens bei einzelnen Arbeitspaketen, insbesondere bei einer Beteiligung mehrerer Partner. Ebenso konnten Schwierigkeiten und Verzögerungen bei einzelnen Arbeitspaketen in großer Runde thematisiert und an potentiellen Lösungsansätzen gearbeitet werden.
Daneben wurden in Teilverbund B monatliche online-Treffen abgehalten. Diese erwiesen sich stets als sehr hilfreich für die Umsetzung der einzelnen Arbeitspakete. Auf diese Weise wurde nicht nur der fortlaufende Austausch mit allen Projektpartnern aus Teilverbund B sichergestellt, sondern auch ein gemeinsames sowie stringentes Vorgehen gewährleistet. Zusätzliche themenspezifische Treffen sorgten für eine weitgehende Einhaltung der Meilensteine.

Informationsaustausch

Zum Austausch aller vorliegenden Informationen wurde eine Cloud eingerichtet, auf die alle Projektpartner des Verbundvorhabens zugreifen konnten (https://cloud.landbw.de). Diese BITBW-Cloud wurde durch die FVA-BW verwaltet. Des Weiteren verfügten die Projektpartner der Universität Göttingen gemeinsam mit der LFE über eine OwnCloud-Datenbank (https://owncloud.gwdg.de), um Daten aus den Gewächshausversuchen auszutauschen.

Öffentlichkeitsarbeit und Wissenstransfer

Das Projekt ist bei verschiedenen Gelegenheiten sowohl der breiten Öffentlichkeit als auch im Rahmen von Tagungen unterschiedlichstem Fachpublikum vorgestellt worden (Tabelle 10). Des Weiteren wurde bei einzelnen Außendiensttätigkeiten wie der Reiserernte via Sozialer Medien oder via Print- und Funkmedien über das Projekt berichtet. Darüber hinaus ist für das Projekt ein eigenes Logo (Abbildung 36) sowie eine TYPO3 Website (www.rubraselect.de) erstellt worden. Hier werden die einzelnen Teilvorhaben sowie deren

Abbildung 36: Logo des Projekts RubraSelect

Arbeitsschwerpunkte vorgestellt und es wurde fortlaufend über das Projekt in Form kurzer Newsbeiträge informiert. Einige der Forschungseinrichtungen verweisen auf der jeweiligen Homepage ebenfalls auf das Projekt: https://www.uni-goettingen.de/de/661304.html (TV1); https://www.uni-goettingen.de/de/189169.html (TV2); https://www.nw-fva.de/forschen/projekte/rubraselect-1 (TV5); https://www.wald.sachsen.de/rubraselect.html (TV7). Im Zuge der Feldarbeiten wurden die zuständigen Revierleitenden bzw. die Forstämter stets über die geplanten Tätigkeiten mit dem Ziel informiert, diese für die zukünftige Bedeutung der Roteiche zu sensibilisieren und damit auf die Wichtigkeit des Projekts hinzuweisen.

Tabelle 10: Öffentlichkeitsarbeit während der Projektlaufzeit. Sortierung nach Teilvorhaben.

Anlass	Art	Titel	Ort	Datum
Alle TV 1 – 7a				
7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz	Ahrensburg	14.09.2022
Forstwissenschaftliche Tagung (FoWiTa)	Vortrag	Roteiche im Klimawandel: Verbundprojekt RubraSelect.	Dresden	11.-13.10.2023
FNR Themennachmittage	Vorträge	Roteiche: Baum des Jahres 2025 - auch Baum mit Zukunft?	online	17.12.2024
Workshop on Forest Genetic Trials Networks. IUFRO, CSIC (Spain), INIA (Spain).	Vortrag	Selection and breeding of red oak (*Quercus rubra* L.) for production of high quality reproductive material in Germany.	Madrid	29.11.2024
TV1 - 3				
Waldklimafonds-Kongress	Poster	Charakterisierung der genetischen Basis und der Metabolomprofile für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche	Göttingen	11./12.10.2022
1. Physiologie-Workshop der Sektion Forstgenetik / Forstpflanzenzüchtung	Poster	Charakterisierung der genetischen Basis und der Metabolomprofile für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche	Gotha	13.-14.06.2023
Forstwissenschaftliche Tagung in Dresden	Vortrag	Charakterisierung der genetischen Basis und der Metabolomprofile für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche	Dresden	11.-13.09.2023
2. CiBreed Fall Workshop	Vortrag	RubraSelect - Genomic Analysis of Growth Traits and Drought Tolerance in Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) for Sustainable Forestry in Germany	Göttingen	11.10.2023
TV1 (UGOE-FG)				
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Unveiling the Genetic Blueprint: Empowering German Forests with Northern Red Oak Resilience	Freiburg i. Br.	12.09.2024
TV3 (Thünen Institut)				
Evaluierung des Arbeitsbereiches Herkunft- und Züchtungsforschung	Vortrag	Wuchsverhalten und Trockenstresstoleranz in einem Roteichen-Herkunftsversuch sowie Auswahl von Plusbäumen	Großhansdorf	09.06.2022

Anlass	Art	Titel	Ort	Datum
7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Analyse von Herkunft-Umwelt Interaktionen der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in einer Herkunftsversuchsserie in Deutschland	Ahrensburg	14.09.2022
Symposium for Future PhDs	Vortrag	Analysis of provenance-environment interactions in a Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) provenance trial in Germany	Göttingen	29.09.2022
Waldklimafonds-Kongress	Vortrag	Analyse des Wuchsverhaltens und der Trockenstresstoleranz von Roteichen in einem Herkunftsversuch sowie Auswahl von Plusbäumen	Göttingen	11.10.2022
Waldklimafonds-Kongress	Poster	Herkunft-Umwelt-Interaktionen der Roteiche in einem Herkunftsversuch in Deutschland	Göttingen	11./12.10.2022
Tag der offenen Tür in Großhansdorf	Poster	Wie können wir den klimatischen Einfluss auf das Baumwachstum genauer bestimmen? – Beschreibung einer Jahrringanalyse am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.)	Großhansdorf	03.09.2023
2nd Evoltree Conference 2023	Poster	Climate sensitivity of tree growth differs between northern red oaks (*Quercus rubra* L.) – a study in a 33-years-old provenance trial in Germany	Brasov, Rumänien	11.-15.09.2023
TRACE 2024 Conference – Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology	Poster	Intraspecific differences in wood anatomical traits of northern red oak (*Quercus rubra* L.) provenances provide opportunities for forest management	Brasov, Rumänien	03.-08.06.2024
Jahrestagung 2024 der Stiftung August Bier	Vortrag	Alternativbaumarten für den klimastabilen Mischwald: genetische Variation, Wachstumsunterschiede und Trockenstresstoleranz am Beispiel von Spitz-Ahorn, Hainbuche, Robinie und Rot-Eiche	Sauen	06.09.2024
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA		Unterschiede in der Reaktion auf Klimaeinflüsse bieten Möglichkeiten für die Herkunftswahl der Roteiche (*Quercus rubra* L.)	Freiburg i. Br.	12.09.2024
TV4 (FVA-BW)				
Statusseminar der FNR	Vortrag	Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz	online	11.09.2023
Seminar Waldklimafonds	Vortrag	Eichen: Bewährte Baumarten im Klimawandel neu gedacht	online	24.10.2023
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in Mitteleuropa als Grundlage für zukünftige Züchtung	Freiburg i. Br.	12.09.2024

Anlass	Art	Titel	Ort	Datum
TV5 (NW-FVA)				
Tag der offenen Tür	Poster	Aufbau einer Zuchtpopulation am Beispiel der Roteiche	NW-FVA (Hann. Münden)	10.09.2022
7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Poster	Einleitung eines Züchtungsprogramms für die Roteiche	Ahrensburg	14.09.2022
Vorstellung der neuen Herkunftsempfehlungen für Sachsen-Anhalt	Vortrag	Die Roteiche in Sachsen-Anhalt - Erste Ergebnisse aus dem Projekt RubraSelect	Hundisburg	22.03.2023
Vorstellung der neuen Herkunftsempfehlungen für Niedersachsen	Vortrag	Die Roteiche in Niedersachsen - Erste Ergebnisse aus dem Projekt RubraSelect	Münchehof	03.05.2023
verschiedene Zeitungsartikel (u.a. Holzzentralblatt, regionale Tageszeitungen) und Beiträge in den sozialen Medien (Pressemitteilungen Landesforsten)	Zeitungsartikel	Zeitungsartikel zur Reisererernte an der NW-FVA im Projekt RubraSelect	print und online	2023
Vorabendprogramm im Fernsehen	Fernseh-reportage	Erbgut für den Wald der Zukunft: Forscher setzen auf die Roteiche	Servus-TV, Guten Abend Deutschland	05.05.2023
Fortbildungsveranstaltung für die Forstbetriebsgemeinschaft Ringau	Vortrag	Die Roteiche in Hessen - Erste Ergebnisse aus dem Projekt RubraSelect	Hann. Münden	24.05.2023
Seminar „Die neuen Herkunftsempfehlungen für Hessen“ im Rahmen des Bildungsprogramms Hessen-Forst	Vortrag	Die Roteiche (Projektvorstellung)	NW-FVA (Hann. Münden)	28.05.2024
Seminar „Herkünfte alternativer Baumarten für Hessen“ im Rahmen des Bildungsprogramms HessenForst	Vortrag	Die Roteiche (Projektvorstellung)	NW-FVA (Hann. Münden)	04.06.2024
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Poster	Anlage einer Pfropflings-Samenplantage zur Erzeugung von hochwertigem Vermehrungsgut am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.)	Freiburg i. Br.	12.09.2024
TV6 (LFE)				
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Phänotypisierung und Differenzierung von Plusbäumen der Rot-Eiche	Freiburg i. Br.	12.09.2024
TV7 (SBS)				
Lange Nacht der Wissenschaften	Poster	Auslese und Charakterisierung von hochwertigem Vermehrungsgut bei Roteiche (*Quercus rubra* L.) unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz	Dresden-Pillnitz	08.07.2022
1.Workshop der Gehölzphysiologie	Poster	Trockenstressexperimente der Rot-Eiche (*Quercus rubra L.*) im Rahmen des Projektes RubraSelect	Gotha	13.-14.06.2023

Anlass	Art	Titel	Ort	Datum
FoWiTa – Forstwissenschaftliche Tagung	Poster	Genetische Analysen von ausgewählten Roteichen-Beständen und Plusbaum-Nachkommenschaften im Rahmen des Projektes RubraSelect zur Bewertung der genetischen Variation und deren Ursprungsregion	Dresden	11.-13.09.2023
Lange Nacht der Wissenschaften	Poster	Auslese und Charakterisierung von hochwertigem Vermehrungsgut bei Roteiche (*Quercus rubra* L.) unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz	Dresden-Pillnitz	22.06.2024
8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA	Vortrag	Phänologische Bonitur von Plusbaum-Nachkommenschaften der Rot-Eiche aus sieben Bundesländern über die Vegetationsperiode 2024 - Ist eine Bewertung des gewonnenen Saatgutes zur temporären Anpassung an den Standort des Mutterbaumes möglich?	Freiburg i. Br.	12.11.2024
Statusseminar der FNR	Vortrag	Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Rot-Eiche (*Quercus rubra* L.) als Grundlage für zukünftige Züchtung	online	11.09.2023
14. Wermsdorfer Regionaltagung für private und kommunale Waldbesitzer		Exkursionspunkt mit Projektpräsentation, Exkursionsführer	Wermsdorf	21.März 2025
2.Workshop der Gehölzphysiologie	Vortrag	Evaluierung des Austrocknungsversuches von Rot-Eichen-Nachkommenschaften innerhalb des Projektes RubraSelect	Gotha	17. und 18. 6.2025
Internationalen Tagung „Forstliches Saatgut- und Baumschulwesen“	Vortrag	*Výber a charakterizácia kvalitného reprodukčného materiálu duba červeného (Quercus rubra L.) v Nemecku s ohľadom na odolnosť voči stresu zo sucha*.	Liptovský Ján (Slowakische Republik)	18. und 19. 6.2025

2. Verwertung

Teilverbund A

Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die im Rahmen des Verbundvorhabens RubraSelect durch den Teilverbund A gewonnenen Erkenntnisse zur Roteiche tragen maßgeblich zu einem besseren Verständnis dieser Baumart bei und fördern somit kurz- bis langfristig ihren vermehrten Anbau durch den Praxistransfer und die Kommunikation der generierten Ergebnisse. Die Auswertung der im Herkunftsversuch erfassten adaptiven Merkmale liefert Anhaltspunkte für die Verbesserung der Herkunftsempfehlungen der Roteiche. Das übergeordnete Ziel des Teilverbunds A, die Auslese und Charakterisierung von hochwertigem und klimafittem Vermehrungsgut der Roteiche, schafft die

Grundlage für eine verbesserte Marktversorgung und trägt zur Stabilität von Waldökosystemen im Klimawandel bei. Ein vermehrter Anbau der Roteiche trägt zur Stärkung von Absatzmärkten für forstliches Vermehrungsgut (FVG) dieser Baumart bei.

Die Identifizierung von Herkünften mit überlegener Wuchsleistung und hoher Toleranz gegenüber klimatischen Extremen (Trockenheit und Spätfrost) stellt eine geeignete Basis für die Erzeugung von hochwertigem forstlichem Vermehrungsgut dar. Dies ermöglicht kurz- bis langfristig die Implementierung der neuen Erkenntnisse in Verwendungs- und Herkunftsempfehlungen, was einen direkten Nutzen für die forstliche Praxis darstellt. Die Entwicklung von genetischen, metabolomischen und transkriptomischen Markern für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz wird zukünftig eine präzisere und effizientere Auswahl von geeignetem Vermehrungsgut ermöglichen, was zu einer Steigerung des Holzertrags und der Holzqualität führt und somit die Wertschöpfungskette verbessert.

Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Die umfassende Analyse auf genomischer, transkriptomischer, metabolomischer, dendroökologischer Ebene liefert tiefe Einblicke in die Anpassungsprozesse der Roteiche an unterschiedliche Standortbedingungen und klimatische Extreme.

Zu den wesentlichen wissenschaftlich-technischen Errungenschaften des Teilverbunds A gehören:

- Die Identifizierung und Validierung von Metabolom- und Transkriptomprofilen als Marker für Trockenstresstoleranz, die Anpassungsprozesse regulieren und ermöglichen. Neue Marker für Trockenstress und Trockenstresstoleranz wurden identifiziert.
- Die Entwicklung von Genmarkern für Trockenstresstoleranz mithilfe einer genomweiten Assoziationsstudie. Dies schließt die Analyse des Zusammenhangs zwischen Herkunft, genetischer Variation und Wuchsleistung ein.
- Die Analyse der Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz von Roteichen-Herkünften in Deutschland mittels genomischer und dendroökologischer Analysen (Jahrringanalysen). Dies umfasste die Identifikation wachstumslimitierender Faktoren wie Sommertrockenheit und Frostereignisse sowie die Beurteilung der Resistenz der Herkünfte gegenüber diesen Extremen.

Die generierten Ergebnisse werden umfassend veröffentlicht in praxisnahen und internationalen Fachzeitschriften sowie auf nationalen und internationalen Fachtagungen präsentiert.

Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die wissenschaftlichen Methoden sind von besonderem Nutzen für die Sicherung des Ertrages und ein nachhaltiges Wirtschaften in der forstwirtschaftlichen Produktion. Sie können auf andere Baumarten übertragen werden, um langfristig die Anpassungsfähigkeit und hohe Erträge unserer Wälder zu sichern. Anschlussprojekte werden möglich gemacht durch die Publikation der Ergebnisse in Fach- und Übersichtsartikeln in wissenschaftlichen Fachzeitschriften. Von den ausgewählten Plusbäumen werden Reiser zur Anlage einer Samenplantage gewonnen, mit der hochwertiges Saatgut produziert werden kann. Wenn die Samenplantage fruktifiziert, lassen sich Bestäubungsverhältnisse bestimmen. Zur Bestimmung von Zuchtwerten können gelenkte Kreuzungen zwischen Elternbäumen durchgeführt werden, deren Nachkommen geprüft werden.

Teilverbund B

Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die Arbeitsschritte bis zur Bereitstellung von Vermehrungsgut aus Pfropflings-Samenplantagen sind äußerst vielfältig und somit zeit-, arbeits- sowie kostenintensiv. Trotz dieser Umstände hat sich der Aufbau solcher Plantagen in den letzten Jahren für eine Vielzahl von Baumarten bewährt. Dies basiert auf der Annahme, dass phänologische Eigenschaften neben der Umwelt auch durch die Genetik bedingt sind. Die hohe Selektionsintensität bei der Auswahl von Plusbäumen aus einer möglichst großen Vielzahl an Ausgangsbeständen im Gelände lässt daher auch bei deren Nachkommen gute Wuchseigenschaften erwarten. Durch die Berücksichtigung von 100 verschiedenen Genotypen bei der Anlage der Pfropflings-Samenplantage im Zuständigkeitsbereich der NW-FVA ist bereits die Grundlagen für einen breit gestreuten Genpool geschaffen. Hinzu kommt die noch ausstehende zusätzliche Plantage in Baden-Württemberg. Durch die zukünftige gegenseitige Bestäubung der Pfropflinge wird somit genetisch vielfältiges und damit anpassungsfähig Saatgut erwartet. Des

Weiteren wurden die beiden Pfropflings-Samenplantagen im Weitverband angelegt. Dadurch können Einzelbäume mit großer Krone erzogen werden, die bei zielgerichteter Behandlung zu häufiger und reichlicher Fruktifikation neigen. Außerdem sind diese Flächen technisch wesentlich einfacher als herkömmliche Erntebestände zu beernten. Während Erntebestände aufgrund gesetzlicher Vorschriften frühestens in einem Alter von 40 Jahren beerntet werden dürfen, ist bei einer Pfropflings-Samenplantage dieser Zeithorizont nicht vorgegeben. Bereits 15 Jahre nach Anlage der Fläche kann von einer ausreichenden Fruktifikation zur kommerziellen Beerntung ausgegangen werden.
Mittels der beiden Flächen und der dabei hohen Anzahl an berücksichtigten Genotypen kann in einem forstlich betrachtet kurzen Zeitraum ein Beitrag zur Sättigung der steigenden Nachfrage nach hochwertigem Roteichen-Saatgut geleistet werden. Hierzu werden ebenfalls die Nachkommenschaftsprüfungen beitragen, die nach intensivsten Selektionsmaßnahmen in Sämlings-Samenplantagen überführt werden sollen.

Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Im Zuge vielfältigster Arbeitsschritte wurde Know-how beim Umgang mit der Roteiche gewonnen und dieses Wissen bei der Heran- und Weiterbildung von technischem und wissenschaftlichem Personal genutzt. So können sich die Eicheln benachbarten Roteichen in Form, Farbe und/oder Größe teils erheblich unterscheiden. Dies wurde bei der Saatgutgewinnung in 2022 für den Trockenstressversuch am SBS ersichtlich und anschließend auch im Rahmen von AP 16 bestätigt. Dies verdeutlichte, mit welcher Vorsicht bei Einzelstammabsaaten vorzugehen ist. Dieses Wissen wurde direkt bei der umfangreichen Saatgutgewinnung für die Anlage der NKP berücksichtigt, wodurch verhindert werden konnte, dass irrtümlicherweise in größerem Maßstab Eicheln benachbarter Roteichen gesammelt werden. Zusätzlich konnte durch die in 2023 und 2024 erfolgten Veredelungen die Wissensbasis bei der Pfropfung von Roteiche vertieft und die die Vorgehensweise optimiert werden. Dies wird insbesondere bei ggf. zu einem späteren Zeitpunkt notwendigen Nachveredelungen von Vorteil sein.

Aus praktischen Gründen bei der Flächenanlage wurden NKP in der Vergangenheit häufig mit Mehrbaumparzellen begründet. Das nun im Projekt gewählte Design mit Einzelbaumparzellen findet bislang in Deutschland noch keine verbreitete Anwendung. Daher kann nun der zusätzlich zu erwartende Erkenntnisgewinn mit dem erhöhten Aufwand bei der Flächenanlage gegenübergestellt werden. Auf diese Weise kann die Flächenanlage bei Roteiche aber auch bei anderen Baumarten optimiert und möglicherweise ein Kompromiss zwischen theoretischen Überlegungen und der praktischen Umsetzung gefunden werden. Des Weiteren sind bei der Anlage der NKP mit identischem Flächendesign und weitgehend einheitlicher Vorgehensweise verschiedenste Institutionen beteiligt. Somit können die Grundlagen für ein zukünftig deutschlandweit einheitliches Vorgehen weiter vertieft werden, wodurch auch die Vergleichbarkeit von Daten gesteigert wird.

Des Weiteren verbesserte sich der Wissensstand über die Herkunft und genetische Vielfalt der Roteiche in Deutschland bzw. allgemein in Mitteleuropa deutlich. Das Verständnis der Herkunft, genetischer Vielfalt sowie deren Übertragung über Generationen wurden erweitert und lassen Schlussfolgerungen über nichtheimische Baumarten zu. Ein Züchtungsprogramm mithilfe von Nachkommenschaftsprüfungen einzuleiten, die zukünftig in Sämlings-Samenplantagen überführt werden, ist außerdem bei dieser Art relativ neu.

Kenntnisse über Wuchseigenschaften bestimmter Genotypen und Herkünfte können zur Steigerung der Wirtschaftlichkeit von Roteichen in der Waldbewirtschaftung genutzt werden. Außerdem ist eine langfristig rentablere Nutzung durch die Erzeugung höherwertigen Holzes in Beständen, die mit Vermehrungsgut aus den Samenplantagen des Projektes begründet wurden möglich. Die gewonnene technische Expertise kann in Zukunft auch bei der Initiierung von Züchtungsprogrammen weiterer Baumarten eingesetzt werden.

Aufgrund der umfangreichen im Projekt erzeugten Datensätze und der langjährigen Erfahrung der Projektpartner in Fachbereichen wie der Waldpflanzengenetik, Forstpflanzenzüchtung oder Baumphysiologie werden die Erfolgsaussichten des Vorhabens nach wie vor als sehr gut eingeschätzt. Die beteiligten Institutionen besitzen einen hohen wissenschaftlichen Standard und haben eine Vielzahl an Artikeln in referierten und praxisrelevanten Fachzeitschriften vorzuweisen. Dies spiegelt sich in den bereits während der Projektlaufzeit getätigten Veröffentlichungen wieder. Mit dem Projektende konnten jedoch noch nicht alle Datensätze vollumfänglich ausgewertet werden. Es ist also mittelfristig mit weiteren wissenschaftlichen Publikationen zu rechen. Daneben ist auch vorgesehen, Artikel für populärwissenschaftliche und praxisrelevante Zeitschriften zu verfassen. Solche Artikel sollen gesichertes Wissen zusammenfassen und der interessierten Leserschaft näherbringen. Zum aktuellen Zeitpunkt wird der Schwerpunkt auf die Veröffentlichung in referierten Fachzeitschriften gelegt. Anschließend sollen diese Ergebnisse auch in populärwissenschaftlichen Beiträgen vorgestellt werden.

Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Es ist zwingend erforderlich, die angelegten NKP langfristig durch Pflegemaßnahmen zu erhalten. Denn wiederkehrende Bonituren lassen einen Kenntnisgewinn hinsichtlich Wuchseigenschaften bestimmter Genotypen und Herkünfte unter verschiedenen Standortsbedingungen erwarten (Kormann et al. 2023). Basierend auf den erhobenen Daten können einzelne Individuen, Familien oder gar ganze Herkünfte vollständig aufgrund von unterdurchschnittlicher Leistung entnommen werden. Mittels gezielter Durchforstungen ist anschließend die Überführung der NKP in Sämlings-Samenplantagen angestrebt. Nach Zulassung dieser Flächen kann auch hier zukünftig hochwertiges Forstvermehrungsgut der Roteiche bereitgestellt werden.

Zudem wurde umfangreiches Wissen zur Klimaanpassung der Baumart generiert, welches in die Bewertung der Baumartenneigungen einfließen sollte. Dieser Erkenntnisgewinn ist an die Politikberatung über bspw. Vorträge und Veröffentlichungen vorzubringen. Nur so kann der fachlichen und wissenschaftlichen Lehre und somit auch der forstlichen Praxis dieses Wissen weitergegeben werden. Auf diese Weise kann durch die punktuelle Beimischung der Roteiche auf hierfür geeigneten Standorten ein Beitrag zum langfristigen Erhalt der Leistungsfähigkeit der Wälder getätigt werden.

Der erarbeitete Boniturschlüssel zur Vitalitätsbewertung von Roteichen hat sich als äußerst anwenderfreundlich erwiesen. Somit kann dieser neben der Wissenschaft noch weiteren Berufsfeldern zur Verfügung gestellt werden. Für die Forstpraxis können so ganze Roteichenbestände in transparenter Weise hinsichtlich der Vitalität beurteilt und einzelne Vorkommen untereinander verglichen werden. Außerdem kann dieser gezielt genutzt werden, um in stark frequentierten Waldbereichen Rückschlüsse auf die Verkehrssicherungspflicht von vorhandenen Roteichen zu gewinnen. Schulungen zum sicheren Umgang mit dem Boniturschlüssel sowie zur anschließenden Bewertung sind hierfür jedoch unverzichtbar.

3. Erkenntnisse von Dritten

Teilverbund A

Es sind keine relevanten Ergebnisse von dritter Seite bekannt.

Teilverbund B

Es sind keine relevanten Ergebnisse von dritter Seite bekannt.

4. Veröffentlichungen

Die aufgeführten Veröffentlichungen beziehen sich nur auf TV 1,2,4,5,6,7 des Projekts. Veröffentlichen des Thünen-Instituts (TV 3) sind einem gesonderten Abschlussbericht zu entnehmen.

Erfolgte Veröffentlichungen

Ardao Rivera, E.; Cao, X.H.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Brückner, M.; De Abreu, I.; Erbacher, J.; Feussner, I.; Feussner, K.; Gailing, O.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kelly, A.; Kleinschmit, J.; Kormann, J.; Lamprecht, N.; Liepe, K.J.; Liesebach, M.; Löffler, S.; Neophytou, C.; Riedel, D.; Schildbach, M.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Wolf, H. 2023: Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz. In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen 7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 12. bis 14. September 2022 in Ahrensburg. Tagungsband. Thünen Report 105, S. 244-256.

Ardao Rivera, E.; Cao, H.X.; Becker, F.; Bilela-Ecker, S.; Braun, A.; Brückner, M.; de Abreu, I.; Erbacher, J.; Feussner, I.; Feußner, K.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kelly, A.; Kleinschmit, J.; Kormann, J.; Lamprecht, N.; Liepe, K.; Liesebach, M.; Löffler, S.; Riedel, D.; Schildbach, M.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Wolf, H.; Gailing, O; Neophytou, C. 2022: Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz. In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Abstract-Band und

Exkursionsführer zur 7. Tagung der Sektion Forstgenetik / Forstpflanzenzüchtung „Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen“ in Ahrensburg, 12.-14.09.2022. Großhansdorf und Graupa, S. 61.

Ardao Rivera, E.; Neophytou, C. 2024: Selection and breeding of red oak (*Quercus rubra* L.) for production of high quality reproductive material in Germany. Workshop on Forest Genetic Trials Networks. 27th – 29th of November 2024 Madrid. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Headquarters. Organized by: Interconnecting Forests, Science and People (IUFRO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Centro Nacional Instituto de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Brückner, M.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Erbacher, J.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kleinschmit, J.; Löffler, S.; Meyer, M.; Neophytou, C.; Riedel, D.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Wenzel, J. 2024: Phänologische Bonitur von Plusbaum-Nachkommenschaften der Rot-Eiche aus sieben Bundesländern über die Vegetationsperiode 2024 - Ist eine Bewertung des gewonnenen Saatgutes zur temporären Anpassung an den Standort des Mutterbaumes möglich? In: Liesebach M, Tröber U, Neophytou C (Hrsg.): 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung "Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung": Freiburg, 11. bis 13. September 2024; Abstract-Band und Exkursionsführer. Großhansdorf, Graupa und Freiburg. S. 57.

Cao, H.X.; Abreu, I.N.; Kelly, A.A.; Kormann, J.M.; Vu, G.T.H.; Feußner, K.; Liesebach, M.; Feußner, I.; Gailing, O. 2023: Charakterisierung der genetischen Basis und der Metabolomprofile für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche [Poster]. In: Technische Universität Dresden (Hrsg.) FowiTa 2023: Forstwissenschaftliche Tagung vom 11.-13. September 2023 in Dresden; Wald- und Holzforschung zwischen Klimawandel, Bioökonomie und gesellschaftlichen Umbrüchen [Abstractband]. S. 171, DOI:10.25368/2024.36

Cao, H.X.; Kelly, A.A.; de Abreu, I.; Kormann, J.M.; Vu, G.T.H.; Feußner, K.; Liesebach, M.; Feußner, I.; Gailing, O. 2023: Charakterisierung der genetischen Basis und der Metabolomprofile für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche. In: Krabel, D.; Kätzel, R.; Liesebach, M. (Hrsg.) 1. Tagung zur Gehölzphysiologie in Gotha vom 13. bis 14. Juni 2023: Programm und Abstracts. Ahrensburg: Deutsche Dendrologische Gesellschaft, S. 27.

Cao, H.X.; Kelly, A.A.; Abreu, I.N.; Kormann, J.M.; Vu, G.T.H.; Feußner, K.; Liesebach, M.; Feußner, I.; Gailing, O. 2024: Unveiling the genetic blueprint: Empowering German forests with northern red oak resilience. In: Liesebach M, Tröber U, Neophytou C (Hrsg.): 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung "Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung": Freiburg, 11. bis 13. September 2024; Abstract-Band und Exkursionsführer. Großhansdorf, Graupa und Freiburg, S. 51.

Erbacher, J.; Neophytou, C.; Gailing, O.; Abreu, I.N.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Brückner, M.; Cao, H.; Feußner, I.; Feußner, K.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kelly, A.A.; Kleinschmit, J.; Kormann, J.M.; Liepe, K.J.; Liesebach, M.; Löffler, S.; Riedel, D.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Wolf, H. 2023: Roteiche im Klimawandel: Grundlagen zur Züchtung unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz (RubraSelect). In: Technische Universität Dresden (Hrsg.) FowiTa 2023: Forstwissenschaftliche Tagung vom 11.-13. September 2023 in Dresden; Wald- und Holzforschung zwischen Klimawandel, Bioökonomie und gesellschaftlichen Umbrüchen [Abstractband]. S. 101. DOI: https://doi.org/10.25368/2024.36

Kätzel, R.; Becker, F.; Frank, E.; Löffler, S. 2024: Phänotypisierung und Differenzierung von Plusbäumen der Rot-Eiche. In: Liesebach M, Tröber U, Neophytou C (Hrsg.): 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung "Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung": Freiburg, 11. bis 13. September 2024; Abstract-Band und Exkursionsführer. Großhansdorf, Graupa und Freiburg, S. 55.

Kätzel, R.; Becker, F.; Frank, E.; Häuser, H.; Bing, J.; Löffler, S. 2025: Phänotypisierung und Differenzierung von Plusbäumen der Rot-Eiche. In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 11. bis 13. September 2024 in Freiburg i. Br. Tagungsband. Thünen Report 119, S. 148-167.

Neophytou, C.; Jansen, S.; Lee, F.; Brückner, M.; Bilela-Eckert, S.; Tröber, U. 2024: Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in Mitteleuropa als Grundlage für zukünftige Züchtung. In: Liesebach M, Tröber U, Neophytou C (Hrsg.): Abstract-Band und Exkursionsführer zur 8. Tagung der Sektion Forstgenetik / Forstpflanzenzüchtung „Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen“ in Freiburg i. Br., 11.-13.09.2024. Großhansdorf und Graupa. S. 52.

Neophytou, C.; Jansen, S.; Lee, F.; Brückner, M.; Bilela-Eckert, S.; Tröber, U. 2025: Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in Mitteleuropa als Grundlage für zukünftige Züchtung. In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 11. bis 13. September 2024 in Freiburg i. Br. Tagungsband. Thünen Report 119, S. 123-137.

Töppe, M.; Watermeier, M.; Hofmann, M. 2023: Einleitung eines Züchtungsprogramms für die Roteiche (*Quercus rubra* L.). In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Beiträge von Forstpflanzenzüchtung und Forstgenetik für den Wald von Morgen 7. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 12. bis 14. September 2022 in Ahrensburg. Tagungsband. Thünen Report 105: 267-273.

Wenzel, J.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Brückner, M.; Erbacher, J.; Kätzel, R.; Kleinschmit, J.; Löffler, S.; Meyer, M.; Neophytou, C.; Riedel, D.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Hofmann, M. 2024: M Anlage einer Pfropflings-Samenplantage zur Erzeugung von hochwertigem Vermehrungsgut am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.). In: Liesebach M, Tröber U, Neophytou C (Hrsg.): 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung "Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung": Freiburg, 11. bis 13. September 2024; Abstract-Band und Exkursionsführer. Großhansdorf, Graupa und Freiburg. S. 53.

Geplante Veröffentlichungen

Cao et al. Arbeitstitel: Cross-Continental Adaptation of Northern Red Oak: Genomic Insights into Growth and Drought Resilience in Europe.

Cao et al. Arbeitstitel: Seedling Performance Under Drought Stress: Linking Genetic Markers to Regeneration Potential in *Quercus rubra*.

Kätzel, R.; Bing. J.: Arbeitstitel: Vergleichende Untersuchungen zur Trockenstresstoleranz unterschiedlicher Nachkommenschaften der Rot-Eiche in Deutschland. Tagung zur Gehölzphysiologie: Gotha, 17.-18.06.2025.

Lee, F.; Brückner, M.; Tröber, U.; Jansen, S.; Neophytou, C. et al.: Arbeitstitel: Tracing the origin of northern red oak (*Quercus rubra* L.) in Central Europe. A multipopulation study. Voraussichtlich einzureichen in: European Journal of Forest Research.

Neophytou, C.; Körtels, E. et al.: Arbeitstitel: Retaining genetic diversity in introduced northern red oak (*Quercus rubra* L.) stands: effects of population size and isolation. Voraussichtlich einzureichen in: Forest Ecology and Management.

Erfolgte Abschlussarbeiten

Bojilov, K. 2025: Untersuchung der physiologischen Unterschiede zwischen Plusbaum-Absaaten der Rot-Eiche (*Quercus rubra* L.) und Flaum-Eiche (*Quercus pubescens* WILLD.) in einem Trockenstressversuch unter der Verwendung von Thermalphotographie mittels UAS-Befliegung. Bachelorarbeit. Technische Universität Dresden.

Brielmayr, M. 2025: Vergleichende Analyse der Blattseneszenz von Roteichenpopulationen in Baden-Württemberg. Bachelorarbeit. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.

Gorges, F. 2025: Wasserdefizitreaktion junger Rot-Eichen (*Quercus rubra* L.) verschiedener Nachkommenschaften – Versuchsvariante bei volumetrischem Bodenwassergehalt (Theta) von 10 %. Bachelorarbeit. Technische Universität Dresden.

Göhler F 2024: Comparison of physiological and morphological trait differences among *Quercus rubra* provenances. Bachelorarbeit. Technische Universität Dresden.

Abschlussarbeiten in Vorbereitung

Körtels, E. 2025. Transfer of genetic diversity in introduced northern red oak stands (*Quercus rubra* L.) to the next generation. Effect of population size and isolation. Masterarbeit (in Vorbereitung). Albert-Ludwigs Universität Freiburg.

ANHANG

Teilvorhaben 1: Charakterisierung genetischer Marker für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche (UGOE-FG)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Ziel des Teilvorhabens 1 ist zum einen die erstmalige Charakterisierung der genetischen Grundlagen von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei der Roteiche und die Entwicklung von entsprechenden Markern für Trockenstresstoleranz. Die Identifizierung von Trockenstress-Markern auf der Ebene des Genoms, und des Transkriptoms sowie des Metaboloms (von Teilvorhaben 2) wird helfen, die molekularen Grundlagen für Trockenstresstoleranz und Zuwachsleistung zu verstehen, und ist für die Auswahl von Beständen und unter züchterischen Aspekten von großer Bedeutung. So könnten in der Zukunft genetische Korrelationen zwischen Wuchsleistung und Markern für Trockenstresstoleranz bei der Auswahl von geeignetem Vermehrungsgut zur Produktion und Züchtung berücksichtigt werden.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

Die grundlegende Aufgabe von Teilvorhaben 1 bestand darin, die genetischen Grundlagen von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei *Quercus rubra* zu untersuchen. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden verschiedene Ansätze durch die Durchführung von 6 aufeinander aufbauenden Arbeitspaketen verfolgt.

Phänotypische Charakterisierung: Aufnahme der phänotypischen Merkmale (Stomatadichte, Wassernutzungseffizienz) in mindestens zwei aufeinanderfolgenden Jahren im Gewächshaus, um genetische und Umweltvariation zu bestimmen (Arbeitspaket 1).

Probennahme: Sammlung von Blattproben aus einem Roteichenherkunftsversuch für DNA- Untersuchungen und aus einem Sämlingsversuch, der aus 11 deutschen Herkünften aus unterschiedlichen Regionen bestand, wobei jeweils 500 Sämlinge unter kontrolliertem Trockenstress angezogen wurden, für DNA-, phänotypische und Metabolom-Analysen (Arbeitspaket 2).

DNA-Isolierung: Quantifizierung und Qualitätskontrolle von ca. 600 Altbäumen im Herkunftsversuch und von ca. 1000 Sämlingen im Gewächshausversuch für Genotypisierung und/oder Next Generation Sequenzierung (Arbeitspaket 4).

Genomweite Sequenzierung und Assoziationskartierung: Durch die Anwendung von ddRADseq wurde eine hochauflösende genetische Karte erstellt, um die Variation im Genom der Roteiche zu untersuchen. Dies ermöglichte die Identifizierung von genetischen Markern (Arbeitspaket 5).

SNP-Analysen für signifikant assoziierte Gene: Test und Validierung der signifikant assoziierten Gene auf Merkmalsassoziation im Herkunftsversuch (ca. 600 Altbäume), im Gewächshausversuch (1000 Sämlinge) und bei den Plusbäumen (Verknüpfung zu Teilverbund B) mittels SNP-Analysen mit dem MassARRAY-System, Agena Bioscience (Arbeitspaket 8).

Gesamtkoordination Öffentlichkeitsarbeit und Wissenstransfer: die Arbeiten beider Teilverbünde wurden von der FVA-BW koordiniert. Auswertung der Daten für Praxisempfehlungen. Publikation der Daten in praxisnahen deutschsprachigen und in internationalen Fachzeitschriften (Arbeitspaket 20).

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Sämlingsversuch und Phänotypische Charakterisierung

In einem Gewächshausversuch haben wir zweijährige Sämlinge aus 11 deutschen Herkünften untersucht, die aus unterschiedlichen Herkunftsgebieten stammen und verschiedene ökologische Grundeinheiten und Bodentypen repräsentieren. Im Durchschnitt sind etwa 100 Sämlinge pro Herkunft vertreten, was insgesamt 1041 Roteichen-Sämlinge ergibt. Der Versuch ist so aufgeteilt, dass eine Hälfte der Sämlinge (i.e. 521 Sämlinge) unter gut bewässerten Bedingungen und die anderen Sämlinge (i.e. 520 Sämlinge) unter kontrolliertem Trockenstress kultiviert werden (Abbildung A1**.**A). Wir haben im Sommer 2021 einen moderaten Trockenstress angewendet, der zu einer signifikanten Verringerung des Sämlingswachstums ohne offensichtliche Trockenheitssymptome führte. Im Sommer 2022 verursachte ein starker Trockenstress eine Reihe von Trockenheits-

symptomen an den Sämlingen (Abbildung A1.B). Während einige Sämlinge unter diesem ausgeprägten Trockenstress weiterhin vital aussahen, begannen andere Sämlinge Trockenstresssymptome zu zeigen wie z.B. Verlust des Turgors, Einrollen und Verfärben der Blätter, sowie Vertrocknen und Ausbleichen der Blätter (Abbildung A1.C). Dabei erfassten wir eine Vielzahl von Trockenstresssymptomen sowie die Mortalität, den Zeitpunkt des Knospenaufbruchs und die Wuchsleistung. Interessanterweise zeigten Pflanzen der drei Herkünfte NW022, HEdda und BW022 deutliche Unterschiede in der Trockenstresstoleranz (Abbildung A2). Sämlinge der Herkunft NW022 und HEdda waren vergleichsweise anfällig für Trockenstress, während Pflanzen der Herkunft BW022 eine höhere Trockenstresstoleranz aufwiesen.

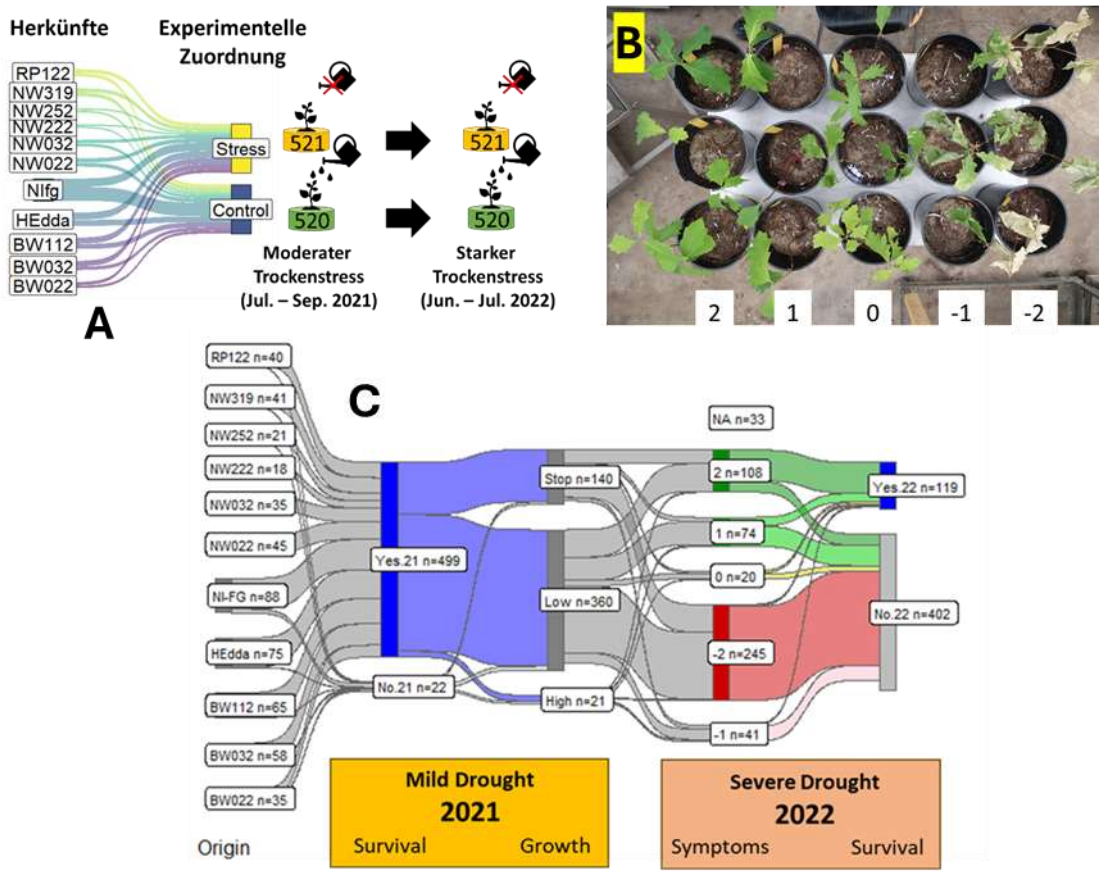


Abbildung A1: Sämlingsversuch. A) Trockenstressexperimente – Versuchsübersicht. B) Klassifizierung der Trockenstress-Symptome von Roteichen-Sämlingen nach gravierendem Trockenstress (Juni-Juli 2022). Stufe 2: ohne Symptome; Stufe 1: einzelne Blätter ohne Turgor; Stufe 0: mindestens ein Blatt eingerollt; Stufe -1: > 50% der Blätter eingerollt, trocken; Stufe -2: die Blätter verfärben sich weiß. C) Überblick über die Pflanzenmortalität und die Trockenheitssymptome während des Trockenstressexperiments. Alle 521 Sämlinge aus 11 verschiedenen Herkünften („Origin") waren zwei aufeinanderfolgenden Trockenstressperioden im Sommer 2021 und 2022 ausgesetzt, indem die Bewässerung für mindestens einen Monat eingestellt wurde. Obwohl 95,7% der Sämlinge (n = 499) nach dem Trockenstress im Jahr 2021 überlebten, reduzierten die meisten Sämlinge entweder ihr Wachstum (69%, n = 360) oder stoppten es sogar vollständig (26,9%, n = 140). Von den wenigen (4,1%, n = 21), die ihr Wachstum aufrechterhalten konnten (Zunahme ≥ 10 cm), überlebten nur 15 dieser Sämlinge bis zum nächsten Jahr. Die zweite Trockenstressperiode im Jahr 2022 führte bei den Sämlingen zu einer Reihe von Trockenheitssymptomen, angefangen von den stärksten (-2; 47% der Sämlinge, n = 245) bis zu den schwächsten (+2; 20,7% der Sämlinge, n = 108). Die meisten Sämlinge (241 von 245 Sämlingen), die die stärksten Trockenstresssymptome zeigten (-2), trieben im Frühjahr 2023 nicht aus. Im Gegensatz dazu waren die meisten Sämlinge (79 von 108 Sämlingen), die die schwächsten Trockenstresssymptome zeigten (+2), im nächsten Jahr vital. Von den 15 Sämlingen mit starkem Wachstum während der Trockenstressperiode 2021 zeigten nur 2 Sämlinge die schwächsten Trockenstresssymptome (+2) während der Trockenstressperiode 2022 und überlebten auch im Frühjahr 2023.

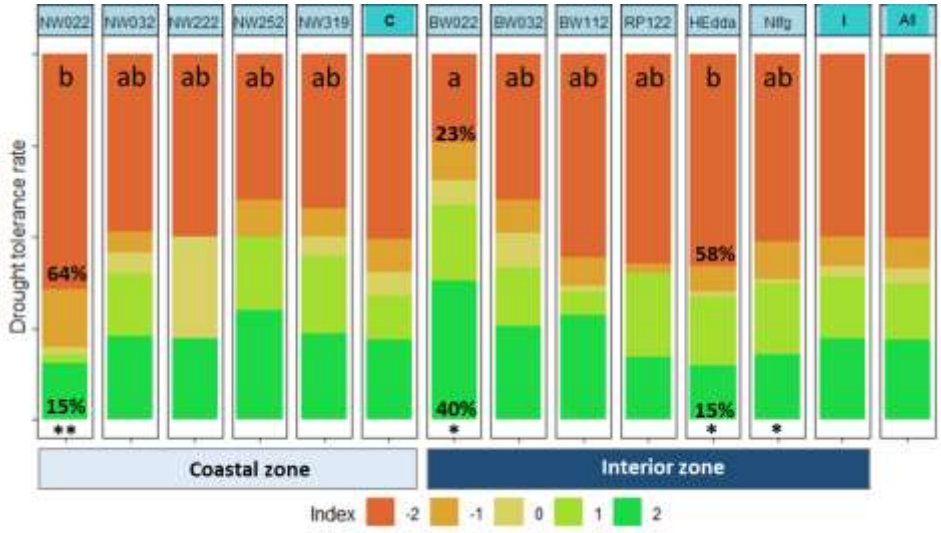


*Abbildung A2: Zusammenfassung der Trockenheitssymptome 2022. Während des Trockenstressexperiments im Juni-Juli 2022 zeigten Sämlinge aus 11 verschiedenen Herkünften unterschiedliche Trockenheitssymptome. Insgesamt (All) wiesen 47% der Sämlinge in der zweiten Tro-ckenstressperiode im Jahr 2022 die stärksten Trockenheitssymptome auf, während 20.7% der Sämlinge keine erkennbaren Symptome zeigten. Bemerkenswert ist, dass nur 23% der Sämlinge aus der Provenienz BW022 die stärksten Trockenheitssymptome aufwiesen, verglichen mit 64% bzw. 58% in den Provenienzen NW022 und HEdda. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Sämlingen aus den beiden Saatzonen Küstenzone (Coastal zone - C) und Binnenzone (Interior zone - I) (Dunn-Test: * p ≤ 0.01; ** p ≤ 0.001).*

Charakterisierung der genetischen Grundlagen von Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei den Roteichensämlingen

Die DNA-Isolierung von 608 Roteichen-Proben, darunter 463 Sämlinge aus dem Trockenstressexperiment und 144 Bäume vom Herkunftsversuch, wurde mithilfe des DNeasy Plant Minikit (Qiagen) abgeschlossen. Die ddRADseq-Analysen mit einem NovaSeq S4 2x150 Hochdurchsatzsequenzierer am UMGC (Universität Minnesota - Genomics Center) ergaben, dass die Kombination der Restriktionsenzyme *Bam*HI und *Nsi*I für die Reduzierung der Genomkomplexität der Roteiche und eine durchschnittliche Sequenziertiefe von 4.2 Millionen Roh-Reads pro Probe für ein effizientes Genotyping-by-Sequencing (GBS)-Verfahren geeignet waren.

Durch die Abbildung der Sequenzdaten von 463 ddRAD-Bibliotheken aus Trockenstresssämlingen auf das kürzlich veröffentlichte *Q. rubra*-Genom (Kapoor et al. 2023) konnten wir genetische Varianten zwischen den untersuchten Proben identifizieren, was diese Analyse ermöglichte. Nach Qualitätskontrolle und Filterung wurden 24.993 hoch-qualitative SNPs in 456 Trockenstresssämlingen erhalten (unter Ausschluss von 2 potenziell kontaminierten Proben aufgrund hoher Ähnlichkeit; 5 technische Replikate). Die Relatedness-Analyse und PCoA-Analyse der SNP-Daten zeigten die Familienstruktur (Abbildung A3**.**A) und genetische Clusterung der Sämlingsproben aus der Sammlung (Abbildung A3**.**B).

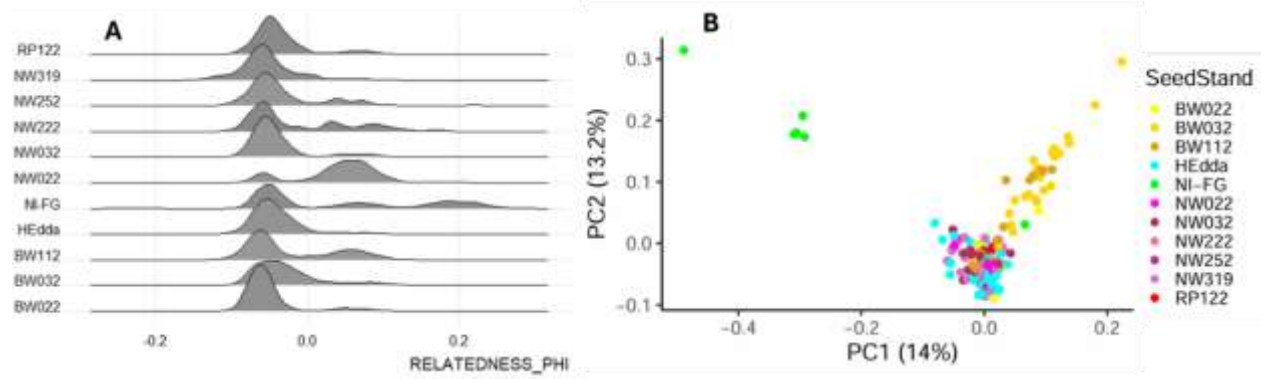


Abbildung A3: Familienstruktur und genetische Clusterung der Sämlingsproben aus dem Sämlingsversuch. A) Relatedness-Phi-Werte aus SNP-Daten zeigen für die meisten Herkünfte eine geringe oder keine Verwandtschaft. Ausnahmen sind die Halbgeschwisterfamilien aus Göttingen (NI-FG) und die Sämlinge aus NW022. B) Die PCoA-Analyse von 200 nicht verwandten Individuen zeigt, dass sich die meisten Proben in einer Hauptgruppe clustern lassen, mit zwei Ausnahmen: Eine Gruppe aus Baden-Württemberg (BW032 und BW112) und die Gruppe von NI-FG. Darüber hinaus gruppieren sich die Proben aus NI-FG in einer weiteren, distinkten Gruppe, was vermutlich auf die Mutterbäume aus den Sammlungen der Universität Göttingen zurückzuführen ist, die wahrscheinlich zu einem gesonderten Zeitpunkt mit den etablierten Bäumen in den eingeführten deutschen Beständen angepflanzt wurden.

Während und nach dem Experiment haben wir verschiedene physiologische Parameter (z.B. Stomatadichte, Wassernutzungseffizienz (Δ^{13} C), Photosynthese (PS-II) -Effizienz, Chlorophyllgehalt, stomatäre Leitfähigkeit, Sämlingswachstum) aufgenommen, die als phänotypische Marker für Trockenstresstoleranz getestet werden. Für alle relevanten Merkmale wurde eine genomweite Assoziationskartierung mithilfe verschiedener Assoziationsmodelle (GLM, MLM, MLMM, FarmCPU, Blink) mit dem GAPIT3-Paket (Wang and Zhang 2021) durchgeführt (Abbildung A4). Dieser Ansatz ermöglichte die Identifizierung genetischer Faktoren - SNPs, die das Wachstumsverhalten und die Trockenstresstoleranz beeinflussen (Tabelle A1).

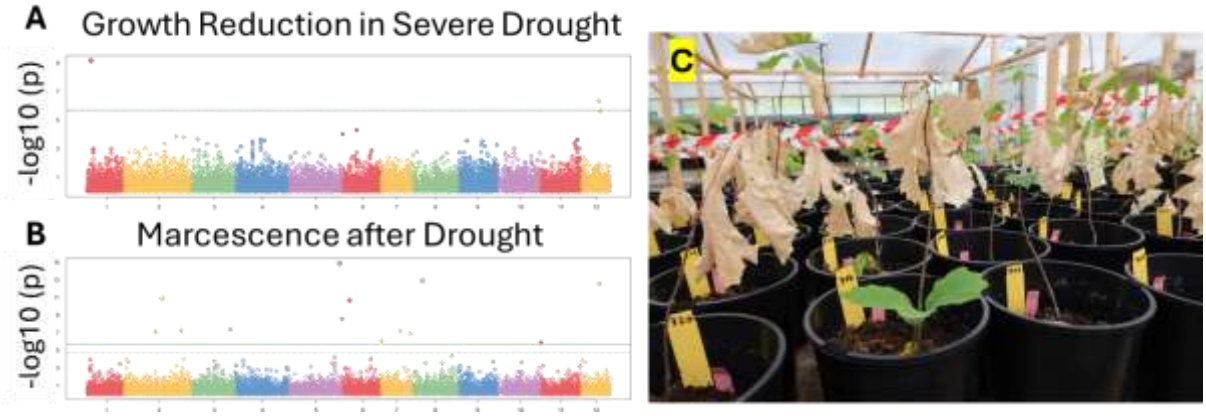


Abbildung A4: Genomweite Assoziationsanalyse zwischen SNPs und exemplarischen phänotypischen Markern für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz. (A) Manhattan-Plot der genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) für die Sämlingswuchsleistung unter wiederholtem starkem Trockenstress bei Roteiche. Die GWAS wurde unter Verwendung des FarmCPU-Modells (GAPIT v3) mit den sequenzierten Trockenstresssämlingen aus den Gewächshausversuchen durchgeführt. Dargestellt ist der negative dekadische Logarithmus des p-Wertes (-log10 p) der Assoziation zwischen der Sämlingswuchsleistung und der genomischen Position der SNPs (x-Achse) auf den Chromosomen der Roteichen. Die drei signifikant mit der Sämlingswuchsleistung assoziierten SNPs liegen oberhalb der grünen Linie, die den korrigierten p-Wert (False Discovery Rate - FDR) markiert, und befinden sich auf Chromosom 1 und 12. (B) Manhattan-Plot der SNP-Merkmal-Assoziationen für die Sämlingsmarcescence nach wiederholtem Trockenstress. (C) Die Sämlingsmarcescence ist ein Trockenstressmerkmal, bei dem die Roteichensämlinge abgestorbene Blätter über den Winter und ins Frühjahr hinein behalten.

Tabelle A1: Assoziationskartierung für phänotypischen Merkmale der Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz. Die Assoziationen wurden anhand von fünf verschiedenen Modellen analysiert, nämlich dem allgemeinen linearen Modell (GLM), dem gemischten linearen Modell (MLM), dem gemischten linearen Modell mit mehreren Loci (MLMM), dem festen und zufälligen Modell Circulating Probability Unification (FarmCPU) und dem Bayes'schen Informations- und Linkage-Disequilibrium Iteratively Nested Keyway (Blink) Modell (Cao et al., in Vorbereitung 1). Die 37 in eckigen Klammern ([...]) aufgeführten SNPs wurden für die SNP-Analyse mittels MassArray-Genotypisierung ausgewählt.

Phänotypischen Markern	#assoziierten SNPs	GWAS-Model
Trockenstresstoleranz	**(64)**	
Sämlingswuchsleistung unter moderaten Trockenstress	8 [3]	GLM, MLM, MLMM, FarmCPU, BLINK
Sämlingswuchsleistung unter wiederholtem starkem Trockenstress	3 [1]	MLM, MLMM, FarmCPU, BLINK
Trockenstress-induzierte Mortalität	1 [1]	GLM
Wassernutzungseffizienz	52 [19]	GLM, MLM, MLMM, FarmCPU, BLINK
Wuchsleistung	**(35)**	
Pflanzengewicht	3 [1]	GLM, BLINK
Photosynthesekapazität	13 [4]	GLM, MLM, MLMM, FarmCPU, BLINK
Knospenaufbruch	1 [1]	BLINK
Marcescence	18 [7]	GLM, MLM, MLMM, FarmCPU, BLINK

SNP-Analysen für signifikant assoziierte Gene

Die ddRADseq-Analysen von 144 Roteichen aus dem Herkunftsversuch generierten 46.784 hoch-qualitative SNPs. Durch Dendrogenomik unter Verwendung der Jahrringdaten aus TV3 (Kormann et al. 2024) konnten die 100 besten SNPs im Modell zur Vorhersage des jährlichen Zuwachses identifiziert werden. Mithilfe des Programms snpEff (Cingolani et al. 2012) wurden 62 SNPs innerhalb protein-kodierender Genregionen gefunden, darunter 21 SNPs in Exons (Abbildung A5). Interessanterweise gibt es mehrere genomische Regionen, die sowohl die dendrogenomischen SNPs der Roteichen aus dem Herkunftsversuch als auch GWAS-SNPs der Trockenstresssämlinge aus dem Gewächshausversuch umfassen. Darüber hinaus wurden mehrere signifikant assoziierte Gene identifiziert, die auch in anderen Pflanzenmodellen eine wichtige Rolle für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz spielen (

Tabelle A2). Ein zweiter MassArray-Chip mit 33 ausgewählten dendrogenomischen SNPs wurde entwickelt. Die Validierung der signifikant assoziierten SNP-Gene auf Merkmalsassoziation im Herkunftsversuch (576 Altbäume), im Gewächshausversuch (die Kontrollsämlinge) und bei den Plusbäumen (Verknüpfung zu Teilverbund B) erfolgte mittels SNP-Analysen am MassARRAY-System, Agena Bioscience und wird in einem Manuskript in Vorbereitung zusammengefasst (Cao et al., in Vorbereitung 2).

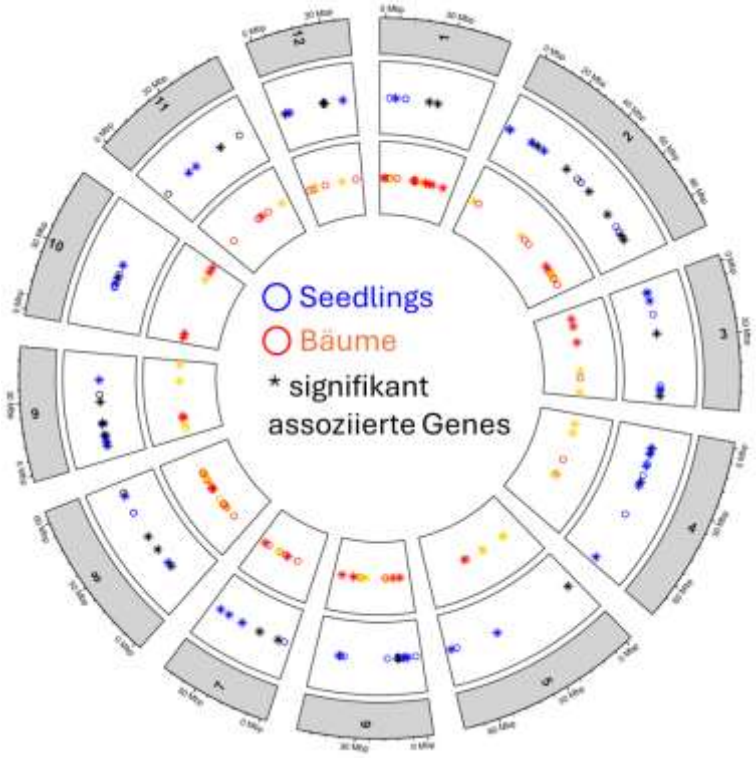


Abbildung A5: Circos-Plot der SNP-Analysen für signifikant assoziierte Gene. (1) Der äußere Kreis zeigt die 12 Chromosomen der Roteiche. (2) SNP-Marker für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz aus dem Sämlingsversuch, die 37 für die MassArray-Genotypisierung ausgewählt wurden, sind schwarz dargestellt. (3) Die dendrogenomischen SNPs der Bäume aus dem Herkunftsversuch, die 33 für die MassArray-Genotypisierung ausgewählt wurden, sind orange dargestellt. Asterisk (*) kennzeichnen die genomischen Positionen der signifikant assoziierten Gene.

Tabelle A2: Kurzübersicht der signifikant assoziierten Gene für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz. Abkürzungen: Chr.: Chromosom der Roteiche; Mortalität: Trockenstress-induzierte Mortalität; Wuchsleistung21: Sämlingswuchsleistung unter einmaligem moderaten Tro-ckenstress; Wuchsleistung22: Sämlingswuchsleistung unter wiederholtem starkem Tro-ckenstress; WNE: Wassernutzungseffizienz.

SNP_ID	Chr.	Assoziierte Merk-male	SNP Effekt	Gene Name	Gene Function	Gene Description
82012856	2	Mortalität	INTRON	SCPL	Stress Response	serine carboxypeptidase-like 29
32927460	8	Wuchsleistung22	INTRON	TPS-CIN	Metabolic enzyme	terpene synthase-like sequence-1,8-cineole
4875717	9	WNE	DOWNSTREAM	HIPP	Stress Response	Heavy metal transport/detoxification super-family protein
6499487	9	WNE	EXON	SS	Metabolic enzyme	Glycogen/starch synthases, ADP-glucose type
10545240	9	Wuchsleistung21	UPSTREAM	CIGR	Plant Growth	chitin-inducible gibberellin-responsive pro-tein 2
28363117	9	WNE	INTRON	GA2ox2	Plant Growth	gibberellin 20 oxidase 2

Geplante Veröffentlichungen

Cao *et al*. Arbeitstitel: Cross-Continental Adaptation of Northern Red Oak: Genomic Insights into Growth and Drought Resilience in Europe [in Vorbereitung 1]

Cao *et al*. Arbeitstitel: Seedling Performance Under Drought Stress: Linking Genetic Markers to Regeneration Potential in *Quercus rubra* [in Vorbereitung 2]

Teilvorhaben 2: Charakterisierung von Metabolomprofilen für Wuchsleistung und Trockenstresstoleranz bei Roteiche (UGOE-BP)

4. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Im Verbundprojekt war es die Aufgabe von TV2 (UGOE-BP), Metabolit- und Transkript-Marker für Roteiche zu entwickeln, welche mit Trockenstress (TS) bzw. TS-Toleranz assoziiert sind. Anhand dieser sollten sowohl (I) die metabolische und in Zusammenarbeit mit dem Partner GOE-FG die genetische Grundlage für TS-Toleranz identifiziert werden, als auch (II) verlässliche Marker für TS-Toleranz in noch jungen Sämlingen für die Saatbaumauslese generiert werden. Mit Hilfe von Metabolom- und Transkriptom-Analysen kann der Einfluss abiotischer und biotischer Umweltfaktoren auf einen Organismus sehr genau beschrieben werden. Als Folge des Klimawandels zeigen Pflanzen dementsprechend auch ein verändertes Profil von Metaboliten und Transkripten in Folge von TS, einem wesentlichen abiotischen Stressfaktor. Ungerichtete Metabolom-Analysen erlauben den Vergleich des Metaboloms von Organismen unterschiedlicher genetischer Ausstattung (z.B. von toleranten und anfälligen Individuen) bzw. von gestressten und nicht-gestressten Spezies und führen zur Identifizierung von Genotyp- bzw. Toleranz-assoziierten Metabolit-Markern. Werden die Daten der ungerichteten Metabolom-Analyse mit Daten von Transkriptom-Analysen kombiniert, kann die Aussagekraft und die Zuverlässigkeit der Analyse noch einmal deutlich erhöht werden (Kaever et al., 2015). Für die entwickelten Marker sollten anschließend spezifische analytische Methoden für die gerichtete Analyse dieser Marker etabliert werden (AP6) (König et al., 2012; König et al., 2014; Stringlis, 2018; Rekhter et al., 2019).

5. Bearbeitete Arbeitspakete

Die grundlegende Aufgabe von Teilvorhaben 2 bestand darin, Metabolit- und Transkript-Marker für Roteiche zu identifizieren, die mit Trockenstress (TS) bzw. TS-Toleranz assoziiert sind.

In **AP3** wurden zunächst Methoden für die ungerichteten Metabolom- und Transkriptom-Analysen von Roteichen-Blättern aus Trockenstress-Versuchen etabliert und mehrere Experimente für ausgesuchte Proben kontrastierender Herkünfte zur Identifizierung von sowohl Metabolit- und Transkript-Markern durchgeführt.

Ziel von **AP6** war es, gerichtete Metabolit-Analysen für alle 521 Sämlingen der TS-Gruppe (plus eine kleinere Anzahl entsprechender Kontrollen) durchzuführen. Dazu wurde zunächst untersucht, ob es möglich ist, die Herkünfte anhand ihrer Metabolom-Profile zu unterscheiden. Weiterhin sollten sowohl bereits aus der Literatur bekannte Marker als auch die zuvor in AP3 entwickelten Marker validiert werden und Methoden für die gerichtete Analyse etabliert werden. Hiermit könnten Metabolit- und Transkript-Marker langfristig eine Plusbaumauslese unterstützen. Zur Identifizierung genetischer Marker wurden in einem parallelen Ansatz von UGOE-FG für den gleichen Probensatz (Kontroll- und TS-Gruppen) genomweite SNP-Daten für Assoziationsstudien zwischen SNPs und den verschiedensten Phänotypen (AP8) sowie den gerichteten Metabolit-Analysen generiert.

In **AP11** und **AP20** erfolgten die Auswertung der Daten für Praxisempfehlungen. Eine Publikation der Daten in praxisnahen deutschsprachigen und in internationalen Fachzeitschriften befindet sich in Vorbereitung. Zwischenberichte und Schlussbericht sowie die Gesamtkoordination und Öffentlichkeitsarbeit bzw. Wissenstransfer erfolgten im Rahmen des Projektes. Die Arbeiten der Teilverbünde I und II wurden von der FVA-BW koordiniert.

6. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Probenauswahl für die ungerichteten Metabolom- und Transkriptom-Analysen

Zur Identifizierung von Metabolit- und Transkript-Markern durch ungerichtete Analysen standen insgesamt ca. 3000 Blattproben der TS-Gruppe + 3000 Kontrollproben von zwei Wachstumsexperimenten unter TS zur Verfügung. Die Probenauswahl für die Transkriptom-Experimente I und II sowie für die Metabolom-Experimente I-V erfolgte aufgrund der im Jahr 2022 erfolgten Klassifizierung von insgesamt 521 gestressten Roteichen-Sämlingen hinsichtlich ihrer TS-Toleranz (AP1 und AP2). Weiterhin wurde die erst in 2023 erfolgte, endgültige Auswertung bezüglich der Überlebensrate der Sämlinge berücksichtigt.

Für die Durchführung des Transkriptom-Experimentes I als auch der Metabolom-Experimente I-III wurden zunächst drei kontrastierende Herkünfte hinsichtlich ihrer gesamtheitlichen TS-Toleranz im Vergleich zu den

anderen Herkünften ausgewählt: BW022 (+) zeigte die beste Toleranz, während HEdda (-) und NW022 (-) die geringste Toleranz aufwiesen (AP1 und 2, Abbildung 2 im Anhang von TV1). Die Auswahl der einzelnen Proben für die verschiedenen Analysen erfolgte aufgrund der phänotypischen Klassifizierungen der Sämlinge: Für jede der drei kontrastierenden Herkünfte wurden zunächst Sämlinge ausgewählt, welche im Gewächshausversuch von 2022 die stärksten (-2) bzw. die schwächsten (+2) TS-Symptome aufwiesen und sich im darauf folgenden Frühjahr 2023 in Bezug auf ihre Vitalität konsistent zeigten, d.h. mit (+2) klassifizierte Sämlinge mussten eine gute Vitalität zeigen, während als (-2) klassifizierte Sämlinge nicht wieder austreiben sollten (siehe auch AP1 und AP2). Für das Transkriptom-Experiment I wurden T2 Blattproben dieser drei kontrastierenden Herkünfte des ersten Wachstumsexperimentes (2021, nach 52-Tagen schwachem TS ausgewählt. Zur Identifizierung und Validierung von Marker-Metaboliten derselben Herkünfte wurden T1 Blattproben aus dem zweiten Wachstumsexperiment (2022, 30 Tage starker TS) ausgewählt und für drei ungerichtete Metabolom-Experimente eingesetzt.

Ungerichtete Metabolom-Experimente I-III zur Identifizierung von Metabolit-Markern für TS-Toleranz

Im ersten, ungerichteten Metabolom-Experiment (T1, 2022, 30 Tage starker TS) wurden 14 Proben der Kontroll- und 18 Proben der TS-Gruppe analysiert. Die TS-Gruppe setzte sich aus je drei Proben von TS-toleranten (+2) und je drei Proben von TS-anfälligen (-2) Sämlinge der Herkünfte NW022 (-), HEdda (-) und BW022 (+) zusammen. Roteichenblätter zeigen nach 30 Tagen TS eine deutliche Antwort im Metabolom, aufgrund derer es möglich war, sowohl die Sämlinge der Kontrollgruppe, als auch die der TS-toleranten- und der TS-anfälligen Gruppen durch Hauptkompenenten-Analysen zu differenzieren (Abbildung A6.A). Durch die ungerichtete Analyse wurden insgesamt 3370 Features detektiert. Eine anschließende Clusteranalyse der Intensitätsprofile mittels der von uns entwickelten Software „MarVis“ (marvis.gobics.de) ergab 217 Metabolit-Feature mit einer *false discovery rate* (FDR) < 0.0005, welche ein TS-relevantes Intensitätsprofil aufweisen. Als Marker für TS *per se* (ohne Unterschiede zwischen TS-anfälligen und toleranten Sämlingen) wurden prominente Marker wie z.B. Glutathion, ein Lipid, sowie Dihydrophaseinsäure durch die UHPLC-HRMS/MS-Experimente putativ identifiziert (Abbildung A6.B). Glutathion liegt nach TS reduziert vor, während eine große Anzahl komplexer Lipide und Dihydrophaseinsäure in trocken-gestressten Sämlingen anreichern. Die Phaeseinsäure ist ein Hauptabbauprodukt von ABA und spielt eine Rolle bei TS und Keimung (Yin et al., 2021).

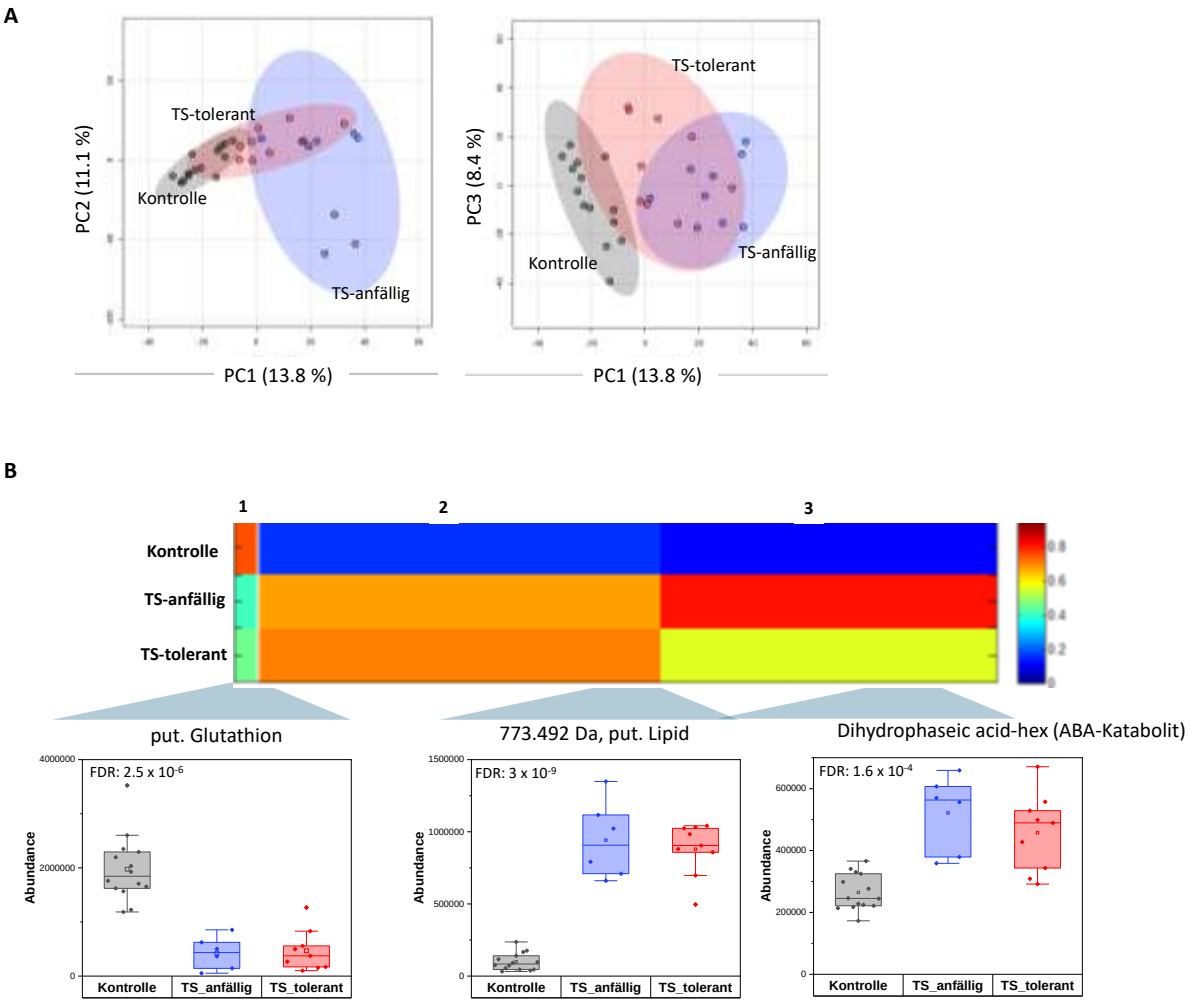


Abbildung A6: Identifizierung erster herkunftsunabhängiger Metabolit-Marker für TS und TS-Toleranz im Metabolom-Experiment I von Roteichenblättern, geerntet zum Zeitpunkt T1 des Gewächshausversuches 2022. Pro Herkunft (BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-) wurden je 3 Proben der TS-anfälligen (-2) und der TS-toleranten (+2) Sämlinge sowie insgesamt 14 Kontrollproben mit einer globalen Metabolitenextraktion extrahiert, mittels UHPLC-HRMS in full scan mode analysiert, Metabolit-Marker identifiziert und mögliche Identitäten mittels MS-gestützter Strukturvorhersage ermittelt. A: Differenzierung von Kontrollen sowie TS-anfälligen und TS-toleranten Sämlingen mittels zwei Hauptkomponentenanalysen (PC1 vs. PC2 und PC1 vs. PC3; Unsupervised discriminant analysis). B Dargestellt sind die Prototypen einer Clusteranalyse mit den Intensitätsprofilen von 3370 Features mit einer FDR (false discovery rate) < 0.0005. Boxplots von drei ausgewählten Metaboliten werden im unteren Teil der Abbildung gezeigt.

Weiterhin konnten auch erste Marker für TS-Toleranz in Roteiche identifiziert werden (Abbildung A7). Bei den hier gezeigten Markern zeigte sich, dass ausgewählte Metabolite vor allem Aminosäuren darstellen und im Gegensatz zu den Kontrollen und den TS-toleranten Sämlingen signifikant angereichert sind. Es ist bekannt, dass Pflanzen unter starkem TS bis zu 40 % des Gesamt Proteins im Blatt abbauen (Heinemann et al., 2021), unter anderem für die Synthese von Prolin.

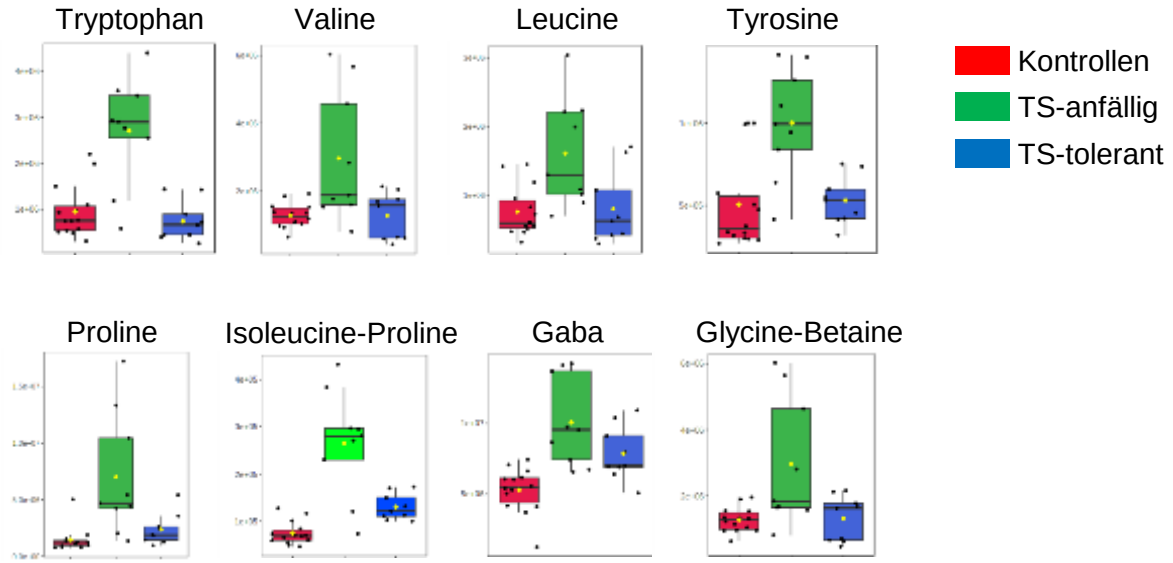


Abbildung A7: Boxplots von möglichen Marker-Metaboliten, welche im Metabolom-Experiment 1 gefunden wurden und ein mit TS-Toleranz assoziiertes Intensitätsprofil aufweisen.

Mit Hilfe eines **zweiten ungerichteten Metabolom-Experimentes** wurden die Marker für TS-Toleranz aus Experiment 1 validiert und weitere Marker identifiziert. Dazu wurde die Probenanzahl mit je 20 Blattproben von TS-toleranten bzw. TS-anfälligen Sämlingen erhöht. In dieser größeren Stichprobe konnten ca. 90 Features mit einem TS-Toleranz-assoziierten Intensitätsprofil selektiert werden. Weiterhin konnten die bereits im Metabolom-Experiment I gefundenen und in Abbildung 2 gezeigten Marker in ihrer TS-Toleranz bestätigt werden (nicht gezeigt).

In einem dritten ungerichteten Metabolom-Experiment wurden die zuvor gefundenen *Features* mit einem TS-Toleranz-assoziierten Intensitätsprofil aus dem ersten und zweiten Experiment validiert. Diese Analyse umfasste 137 Blattproben der insgesamt 521 Sämlingen der TS-Gruppe, und setzten sich hinsichtlich der Klassifizierung der Sämlinge wie folgt zusammen: 75 Proben von TS-anfälligen (-2), 28 Proben von TS-toleranten (+2) und 34 Proben von indifferenten (-1, 0, +1) Sämlingen. Blattproben wurden extrahiert und mittels *full-scan* UHPLC-HRMS-Messungen analysiert. Die erhaltenen Daten wurden sowohl ungerichtet als auch in Bezug auf einige der zuvor ermittelten Marker gerichtet ausgewertet. Einige Marker (wie z.B. Tyrosin, Leucin und GABA aus dem ersten und zweiten Metabolom-Experiment) zeigten dabei keine Signifikanz mehr und wurden nicht weiter genutzt. Die ungerichtete Auswertung der Daten des dritten Metabolom-Experimentes ergab, dass TS-anfällige und TS-tolerante Sämlinge herkunftsunabhängig durch Metabolom-Analysen differenziert und ca. 25-30 Metabolit-Marker identifiziert werden können, welche mit TS-Toleranz assoziiert sind (Abbildung A8.A und A8.B). In Abbildung 3C werden beispielhaft die gegensätzlichen Intensitätsmuster von zwei Kandidaten gezeigt, die entweder in TS-toleranten Sämlingen (UPD-Hexose) oder TS-anfälligen (Unknown P_1364) eine Anreicherung im Vergleich zu den TS-anfälligen bzw. TS-toleranten Sämlingen zeigen.

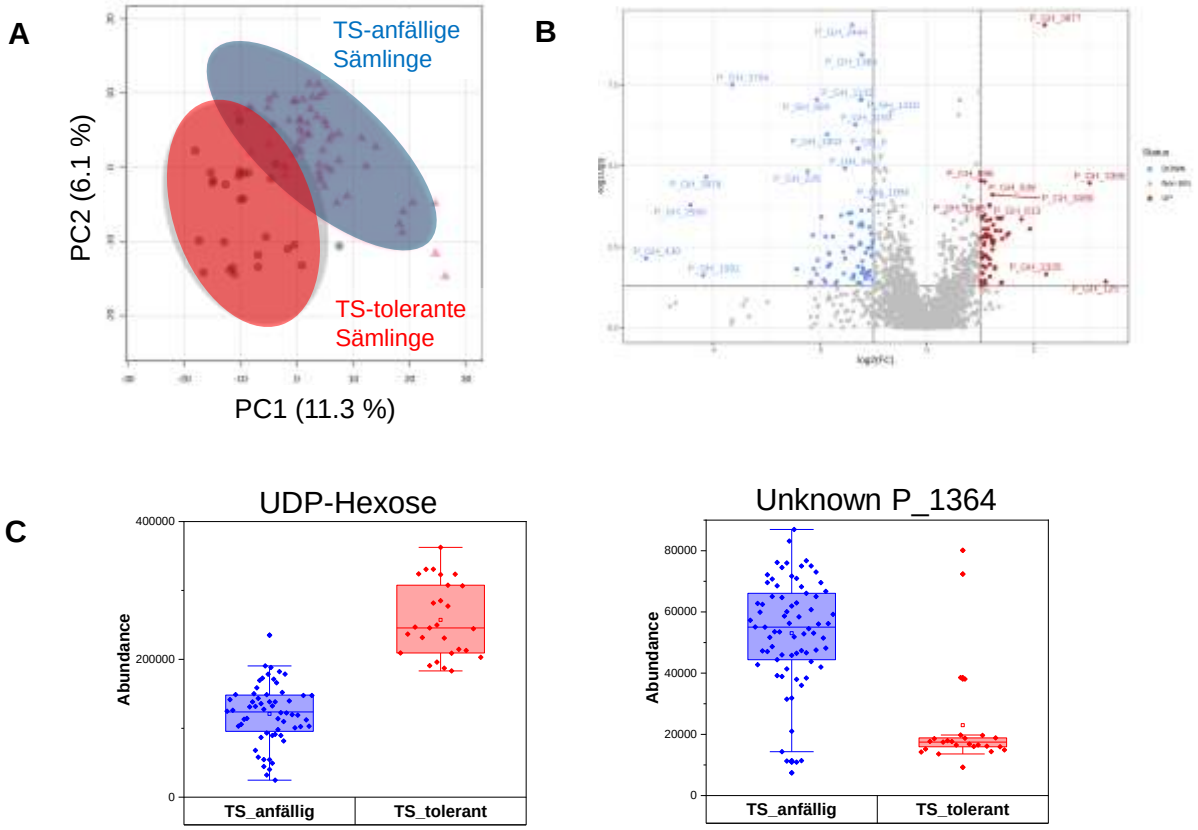


Abbildung A8: Differenzierung von TS-anfälligen und TS-toleranten Sämlingen durch Metabolom-Analysen (Metabolom-Experiment III). Blätter von insgesamt 137 Sämlingen der Herkünfte BW022 (+), HEdda (-), NW022 (-) aus der TS-Gruppe wurden extra-hiert und mittels full-scan UHPLC-HRMS-Messungen analysiert, gefolgt von einer ungerichteten Auswertung der Messun-gen von 75 TS-anfälligen (-2) und 28 TS-toleranten (+2) Sämlingen. A: Herkunftsunabhängige Hauptkompo-nentenanalyse differenziert TS-anfällige von TS-toleranten Sämlingen. B: „Vulcano plot" zur Darstellung und Identifizierung von signifikanten Metabolit-Marker Kandidaten für TS-Toleranz. C: Boxplots zur Darstellung der herkunftsunabhängigen und gegensätzlichen Akkumulation von zwei ausgewählten Metabolit-Markern in TS-toleranten und TS-anfälligen Proben.

Eine herkunftsabhängige Auswertung der Ergebnisse zeigt, dass die in Abbildung A9 gezeigten Marker-Kandidaten (UPD-Hexose und Unknown P_1364) auch in allen drei untersuchten Herkünften ähnliche Intensitätsprofile wie in den herkunftsunabhängigen Analysen aufweisen. Abbildung A9 zeigt eine Clusteranalyse, in der Prototypen die Intensitätsprofile von 77 ausgewählten Features mit einer *false discovery rate* (FDR) besser als 0.001 gruppieren, mit der schon bekannten deutlichen Anreicherung von UDP-Hexose in TS-toleranten Sämlingen, sowie der Anreicherung von Unknown P_1356 in den TS-anfälligen Sämlingen. Hier nicht zu erkennen ist eine eindeutige Differenzierung zwischen BW022 (+), welche insgesamt als eine TS-tolerantere Herkunft klassifiziert wurde, und den beiden als weniger TS-tolerant eingestuften Herkünften HEdda (-) und NW022 (-). Dies gilt auch für den Metaboliten-Marker P_1364, welcher ein gegensätzliches Intensitätsmuster zeigt, für diesen Metaboliten war die Strukturaufklärung nicht erfolgreich. Studien in Arabidopsis, Reis und Pappel haben gezeigt, dass ein TS-bedingter Anstieg ausgewählter Zucker weit verbreitet ist (Todaka et al., 2017; Fàbregas et al., 2018; Fàbregas and Fernie, 2019; Fox et al., 2023).

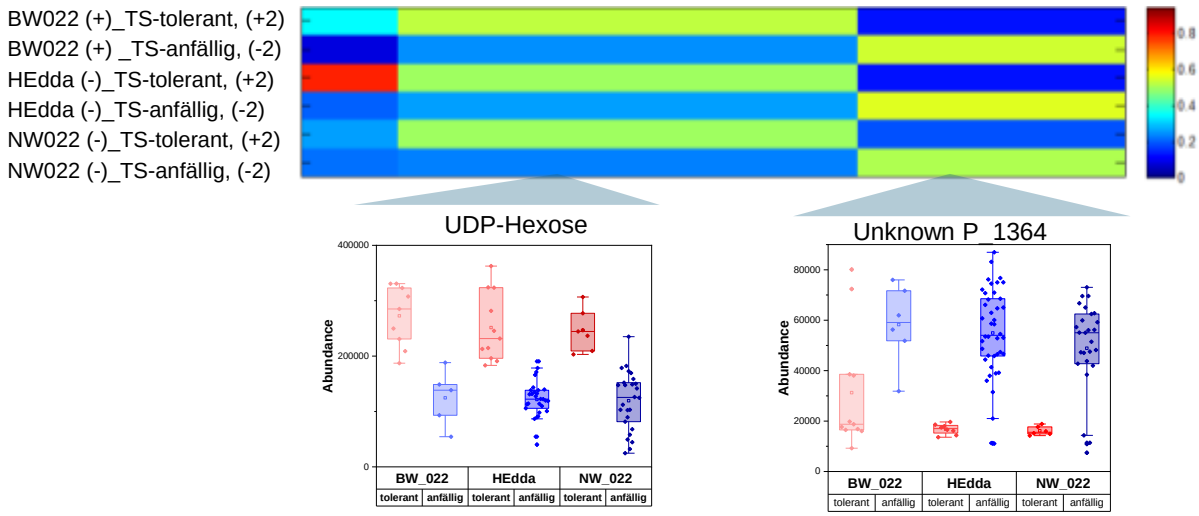


Abbildung A9: Herkunftsabhängige Darstellung der Akkumulation von UDP-Hexose und Unknown P_1364 als Metabolit-Marker für TS-Toleranz (Metabolom-Experiment III, T1, 2022, Datenauswertung von 75 Proben der TS-anfälligen (-2) und 28 Proben der TS-toleranten (+2) Sämlinge der Herkünfte BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-).

Insgesamt wurden somit durch den Vergleich der Metabolome von TS-toleranten (+2) bzw. TS-anfälligen (-2) Sämlingen aus drei Metabolom-Experimenten, die in Tabelle 1 zusammengefassten Metabolit-Marker für TS-Toleranz der Roteichenherkünfte NW022, HEdda und BW022 ermittelt und validiert. Diese stehen nun für die (gerichtete) Analyse der verbliebenen Herkünfte aus T1-2022 des Gewächshaus-TS-Experimentes II und für zukünftige Experimente zur Verfügung. Alle in Tabelle 1 gezeigten Marker weisen eine *false discovery rate* (FDR) < 0.05 auf. Zusätzlich zu den in Tabelle A3: Ausgewählte Marker-Metaboliten für TS-Toleranz in Roteiche gelisteten Marker-Metaboliten gibt es noch weitere Kandidaten, welche durch weitere Analysen bestätigt werden können.

Tabelle A3: Ausgewählte Marker-Metaboliten für TS-Toleranz in Roteiche

Marker	für	Masse (Da)	RT (min)	Formel	FDR
UDP-Hexose	Toleranz	566.055	0.68	C15H24N2O17P2	4.0×10^{-19}
Hexitol-Phosphat	Toleranz	262.0454	0.54	C6H15O9P	2.3×10^{-4}
UNC 294_0.57	Toleranz	294.0255	0.57	C6H14O11S	2.7×10^{-5}
UNC 360_0.81	Toleranz	360.0479	0.81	C11H13N4O8P	4.9×10^{-4}
UNC 238_2.51	Toleranz	238.14164	2.51	C10H22O6	5.4×10^{-18}
UNC 732_7.24	Toleranz	732.4081	7.24	C38H62O12	5.3×10^{-9}
UNC 758_7.39	Toleranz	758.4221	7.39	C40H64O12	1.7×10^{-4}
Tryptophan	Anfällig	204.090	2.52	C11H12N2O2	2.7×10^{-5}
Monosaccharid	Anfällig	180.0634	0.57	C6H12O6	8.6×10^{-6}
Prolin	Anfällig	115.0633	0.56	C5H9NO2	4.3×10^{-4}
Valin	Anfällig	117.0789	0.78	C5H11NO2	4.3×10^{-3}

RNASeq Experimente I und II

Für die RNASeq-Analysen wurden zunächst mehrere Gesamt-RNA-Extraktionsmethoden an Blattproben von Roteichen-Sämlingen getestet. Die höchsten Ausbeuten wurden mit dem Spectrum™ Plant-Total-RNA-Kit und Zugabe von 2.5 % Polyvinylpyrrolidon (PVP-40) im Extraktionspuffer sowie anschließender DNAse Behandlung erzielt. Im Schnitt wurden so ca. 3 µg Gesamt-RNA aus 100 mg schockgefrorenem und in flüssigem Stickstoff homogenisierten Material gewonnen. Es wurden insgesamt zwei RNASeq-Experimente durchgeführt. Zunächst wurden für ausgewählte T2-Proben von BW022, NWo22 und HEdda des ersten Gewächshaus-TS-Versuchs (RNASeq-Analyse I, 2021, 52 Tage mit moderatem TS) Gesamt-RNA extrahiert und ein erstes RNA-Seq-Experiment durchgeführt. Für den zweiten Transkriptom-Versuch wurden Proben von fünf weiteren Herkünften (BW032, BW112, NW032, NW252, NW319) aus dem zweiten Wachstumsexperiment (T1, 2022,

30 Tage starker TS) ausgewählt. Für beide Transkriptom-Experimente wurden Vergleiche der Genexpressionen zwischen TS-anfälligen und TS-toleranten Sämlingen innerhalb der einzelnen Herkünfte als auch herkunftsunabhängig durchgeführt.

Ziel des **ersten Transkriptom-Experiments** war es, den weiteren Workflow zu etablieren und erste Transkript-Marker für TS-Toleranz zu identifizieren, die bereits zu einem frühen Zeitpunkt eine Differenzierung von TS-anfälligen bzw. TS-toleranten Sämlingen erlauben. Jede der insgesamt sechs Bedingungen (BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-), jeweils TS-anfällig bzw. TS-tolerant) umfasste vier biologische Replikate und es wurden nur Blattproben von Sämlingen genutzt, die als (+2) bzw. (-2) klassifiziert worden waren. Bei Auswahl der Proben wurde darauf geachtet, dass nur solche Blätter ausgewählt wurden, die bei der Ernte keine Läsionen oder braune Stellen aufwiesen und ein vergleichbares Blattgewicht hatten. Eine erste Hauptkomponenten-Analyse ergab keine eindeutige Differenzierung der Sämlinge aufgrund ihrer TS-Toleranz oder Herkunft (Abbildung A10.A). Stattdessen gruppieren jene Sämlinge, welche auf Tischen #6 und #7 während des Wachstumsversuchs angezogen worden waren. Eine erste herkunftsunabhängige Datenanalyse von Experiment 1 ergab 1.129 differentiell exprimierte Gene, die eine signifikant erhöhte (596) bzw. erniedrigte Expression (533) in TS-anfälligen vs. TS-toleranten Roteichen-Sämlingen aufweisen ($p<0.05$) (Abbildung 5B).

Dargestellt in Abbildung 5C ist der Boxplot für *FK132_ARATH F-box/kelch-repeat protein At5g60570*, dessen Transkript in Blättern von TS-anfälligen Sämlingen signifikant erhöht ist ($p<5*10E-09$). F-Box Proteine sind an selektiven Protein-Protein-Interaktionen beteiligt (z.B. im Proteinabbau), auch wurde gezeigt, dass einige wenige Mitglieder der Gruppe der sogenannten „Kelch motif (repeat) containing F-box (KFB)“ Proteine bei der zirkadianen Steuerung oder bei der Modulation der Blütezeit mitwirken (Zhang et al., 2013). Wie zuvor schon erwähnt, bauen Pflanzen unter starkem TS bis zu 40 % des Gesamt Proteins im Blatt ab (Heinemann et al., 2021). Ein weiterer Transkript-Marker, welcher in TS-anfälligen Proben akkumuliert, gehört zu der Gruppe der Pentatricopeptide repeat (PPR) Proteinen, welche RNA binden und an der Regulation von Genaktivitäten sowohl im Kern als auch in Organellen beteiligt sind (Manna, 2015). Die herkunftsabhängige Darstellung der Expression beider Transkripte offenbart keine Unterschiede zwischen den insgesamt als TS-tolerant (BW022) und TS-anfälligen (HEdda und NW022) klassifizierten Herkünften.

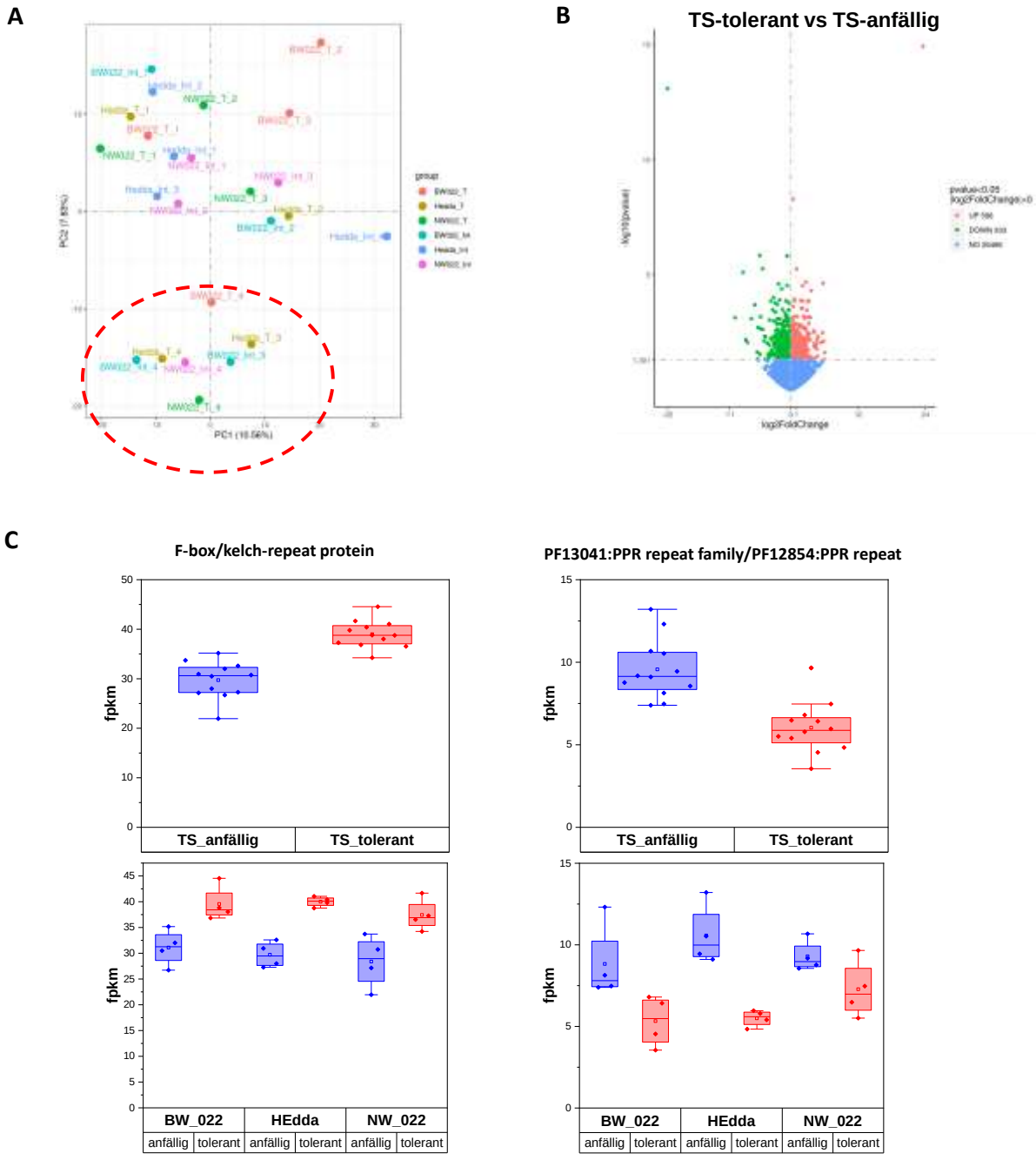


Abbildung A10: Differentielle Genexpression erlaubt herkunftsunabhängige Diskriminierung von TS-toleranten und TS-anfälligen Roteichen Sämlingen nach 52 Tagen schwachem Trockenstress (TS) (T2-2021, Transkriptom-Experiment I). Gesamt-RNA wurde von insgesamt 24 Proben der Herkünfte BW022 (+), HEdda (-), NW022 (-), bestehend aus je 4 Proben von TS-anfälligen (-2) und -toleranten (+2) Sämlingen pro Herkunft isoliert und für Transkriptom-Sequenzierungen eingesetzt. A: Eine erste Hauptkomponentenanalyse der 6 Gruppen (drei Herkünfte, TS-tolerant bzw. TS-anfällig) differenzierte Sämlinge nach ihrer Position im Gewächshaus während des Wachstums-Experiment und nicht nach Herkunft oder Toleranz gegenüber TS. Sämlinge innerhalb der rot gestrichelten Markierung wurden auf den Tischen #6 und #7 angezogen. B: „Vulcano-Plot" zur Darstellung von Genen, welche eine signifikant veränderte Genexpression in TS-anfälligen (-2) und TS-toleranten (+2) Sämlinge aufweisen. C: Boxplots zur und herkunftsunabhängigen und herkunftsabhängigen Darstellung der Akkumulation von zwei Transkripten mit unterschiedlichen Intensitätsprofilen in Blättern von TS-anfälligen und TS-toleranten Sämlingen.

In einem **zweiten Transkriptom-Experiment** (RNASeq-Analyse II) wurden T1-Proben des zweiten Gewächshaus-Versuches (2022, 30 Tage starker TS) ausgewählt. Dieser Probesatz umfasste fünf weitere Provenienzen (BW032, BW112, NW032, NW252, NW319*)* mit je 3-4 biologischen Replikaten pro Herkunft und Klassifizierung. Auch hier wurden nur Blattproben von Sämlingen genutzt, die als Folge des TS als (+2) bzw. (-2) eingestuft worden waren, zusätzlich umfasste dieses Experiment auch Proben aus der Kontrollgruppe, welche

von Sämlingen stammten, die keinem TS ausgesetzt worden waren. In einer ersten Hauptkomponentenanalyse ist eine Differenzierung der Proben nach Zugehörigkeit zur Kontroll- oder Stress-Gruppe zu erkennen, jedoch nicht nach Herkunft oder TS-Toleranz (Abbildung A11.A).

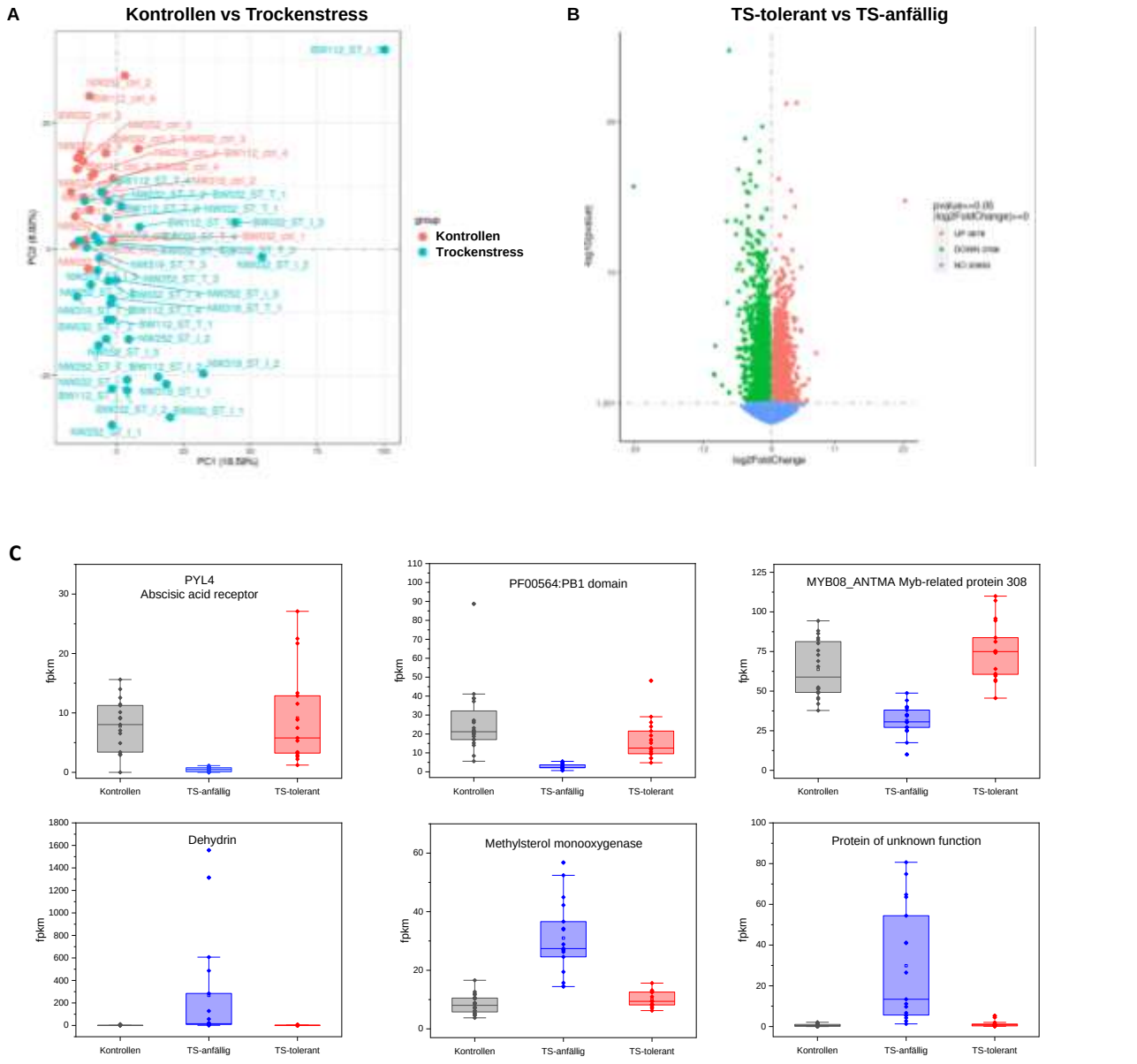


Abbildung A11: Differentielle Genexpression erlaubt herkunftsunabhängige Diskriminierung von Kontrollen, toleranten und anfälligen Rotei-chen-Sämlingen nach 30 Tagen starkem TS (TS, T1-2022, Transkriptom-Experiment II). Gesamt-RNA wurde von insgesamt 54 Proben der Herkünfte BW032, BW112, NW032, NW252, NW319, bestehend aus je 4 Kontrollproben pro Herkunft sowie 3-4 Proben der TS-anfälligen (-2) und je 3-4 Proben der TS-toleranten (+2) Sämlinge pro Herkunft isoliert und für Transkriptom-Sequenzierungen eingesetzt. A: Herkunftsunabhängige Hauptkomponentenanalyse differenziert Sämlinge der Kontrollgruppe von Sämlingen nach TS. B: „Vulcano-Plot" zur Darstellung von Genen, welche eine signifikant veränderte Genexpression in TS-anfälligen (-2) und -toleranten (+2) Sämlinge aufweisen. C: Boxplots von je drei ausgewählten Genen, welche im Gegensatz zu den Kontrollen und TS- eine stark reduzierte Akkumulation bzw. eine starke Anreicherung in den TS-anfälligen Sämlingen aufweisen

Des Weiteren ergab eine herkunftsunabhängige Datenanalyse von Transkriptom-Experiment II insgesamt 7444 differentiell exprimierte Gene, welche eine signifikant erhöhte bzw. erniedrigte Expression in TS-toleranten vs. TS-anfälligen Roteichen-Sämlingen aufweisen ($p<0.05$; 3678 + 3766), (Abbildung 6B). In Abbildung 6C dargestellt sind auszugsweise Boxplots der Expressionen von Transkripten, welche in TS-anfälligen Sämlingen eine reduzierte Akkumulation (obere Reihe) bzw. eine Anreicherung im Vergleich zu den TS-toleranten Sämlingen zeigen (untere Reihe). Interessanterweise korrelieren in diesen ausgewählten Beispielen die Expressionsraten der (gewässerten) Kontrollen in beiden Fällen mit denen der TS-toleranten Sämlingen. PYL4 stellt einen Teil eines Rezeptor-Komplexes dar, welcher an ABA-vermittelten Reaktionen wie z.B. Schließung der Stomata, oder Keimung beteiligt ist (Pizzio et al., 2013). Die PF00564 PB1 Domäne vermittelt z.B. Protein-

Protein Bindungen bei der Oligomerisierung von ARF (Auxin Response Transcription Factor) Regulatoren (Nanao et al., 2014). Eine Akkumulation von Transkripten wurde für Dehydrin beobachtet, welches eins der bekanntesten Stressproteine bei Trockenstress darstellt (Tiwari and Chakrabarty, 2021). Das Arabidopsis-Gen AT4G12110 stellt das orthologe Gen zu dem hier als Methylsterol monooxygenase annotierten Gen dar, welches verstärkte Expression nach Trockenstress zeigte (Shaar-Moshe et al., 2015). Weiterhin wurden für das identische Probenset des zweiten Transkriptom-Experiments ein eigenes Metabolom-Experiment („Metabolom-Experiment IV“) durchgeführt. Ziel ist hier nicht nur eine Anpassung der Marker auf weitere Provenienzen, sondern auch eine integrative Analyse von Metabolom- und Transkriptomdaten. So soll analysiert werden, ob es einen Zusammenhang zwischen den genetischen und metabolischen Variationen besteht. Die LC-MS-Messung ist bereits erfolgt, jedoch steht die Zusammenführung dieser mit den respektiven Transkriptomdaten noch aus.

Differenzierung von Provenienzen aufgrund ihrer herkunftsspezifischen Metabolom-Profile

Der Probensatz für die Wachstums-Experimente setzt sich aus insgesamt 11 Roteichen-Herkünfte aus unterschiedlichen Regionen in Deutschland zusammen, welche bei der phänotypischen Charakterisierung teilweise signifikante Unterschiede in ihrer TS-Toleranz zeigten (AP1 und AP2). Interessanterweise ergab eine erste gerichtete Analyse der für die ersten drei Metabolom-Experimente ausgewählten kontrastierenden Herkünfte (BW022 (+), HEdda (-), NW022 (-), dass diese in der Tat aufgrund ihrer Metaboliten-Profile mittels gerichteter Metabolom-Analysen eindeutig differenziert werden können (Abbildung A12). Dazu wurden die im ungerichteten Metabolom-Experiment III aufgenommenen Daten von 28 Blattproben von TS-toleranten Sämlingen aller drei Herkünfte gerichtet ausgewertet und einer Hauptkomponentenanalyse (*Partial Least-Squares Discriminant Anaysis* (PLS-DA)) unterzogen. Eine vorläufige putative Identifizierung bzw. Klassifizierung der respektiven Marker ergab, dass sich vor allem die Zusammensetzung der Metabolite aus dem spezialisierten Stoffwechsel (Phenole) in den drei Herkünften unterscheiden und für die Differenzierung ausschlaggebend sind.

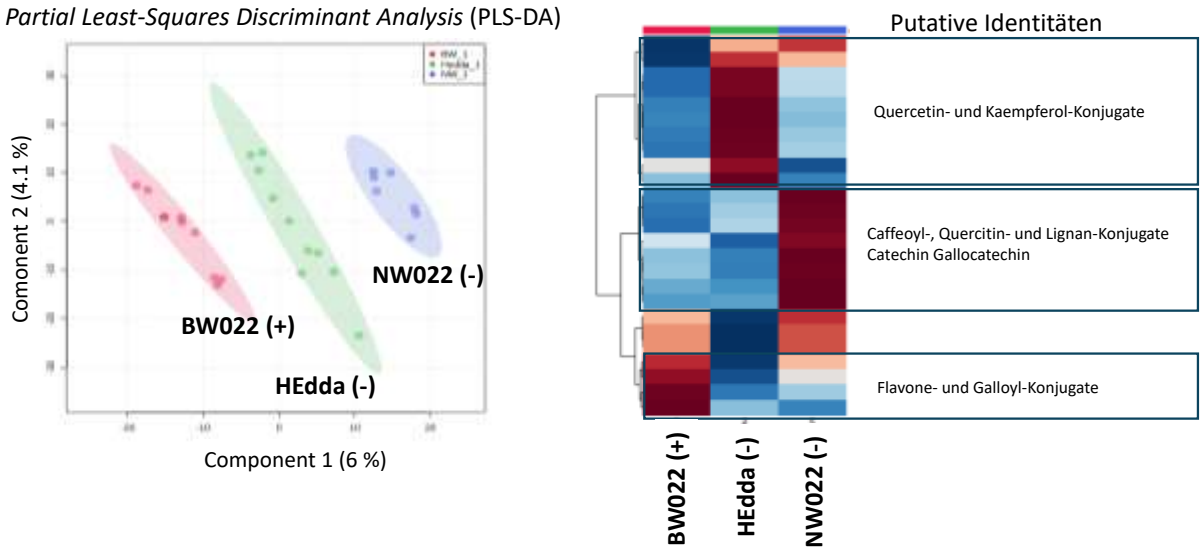


Abbildung A12: Der spezialisierte Stoffwechsel (Phenole) der TS-toleranten Sämlinge zeigt herkunftsspezifische Profile. Das für die gerichtete Auswertung eingesetzte Probenset stammt aus dem Metabolom-Experiment III, und setzt sich zusammen aus den 28 Proben der TS-toleranten Sämlinge von BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-).

Etablierung von gerichteten Analysen für Abscisinsäure und Prolin

Abscisinsäure (ABA) und Prolin sind aus der Literatur bekannte Marker für Trockenstress (Schraml and Rennenberg, 2002; Kersten et al., 2013). Für beide Metabolite wurde eine quantitative LC-MS-basierte Methode unter Einsatz von isotopenmarkierten Standards ($^{13}C_6$-Prolin und D_9-ABA) etabliert, optimiert und zunächst für ein kleineres Probenset (Metabolom-Experiment I) genutzt (Abbildung A13). Wie erwartet zeigen ABA und Prolin eine generelle Anreicherung nach TS und können somit auch hier als TS-Marker für Roteiche angesehen werden. Allerdings bilden sie auch deutlich die Heterogenität der Stressantwort der einzelnen Sämlinge ab, wie insbesondere an Prolin in den TS-anfälligen Sämlingen zu sehen ist.

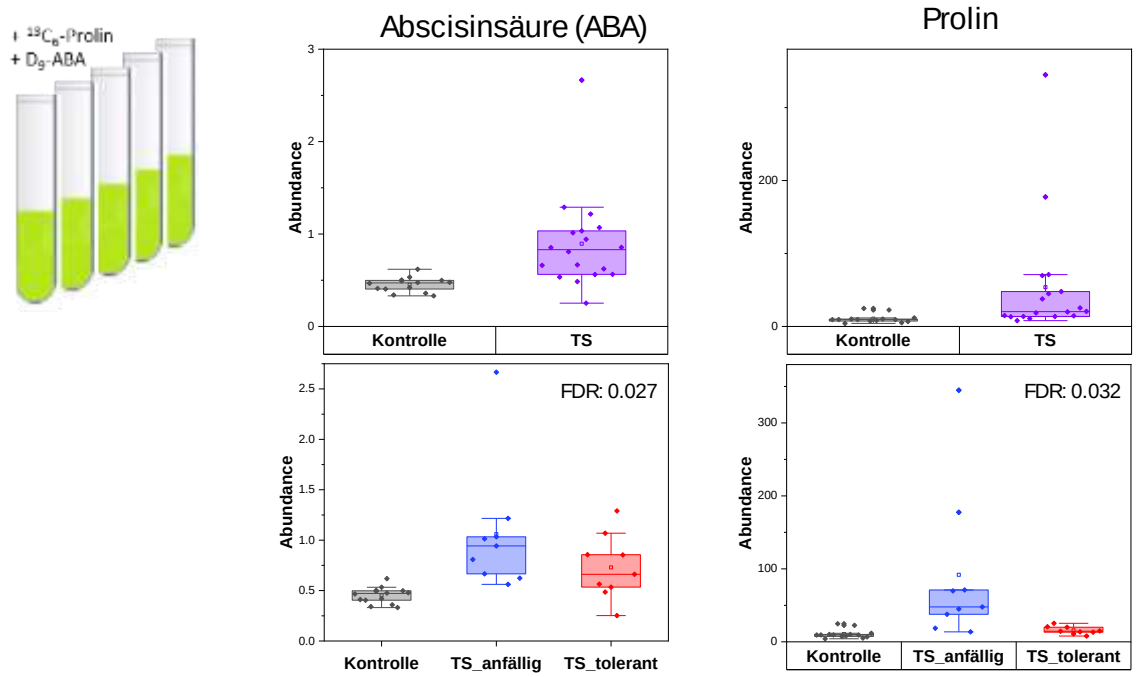


Abbildung A13: ABA und Prolin zeigen eine Trockenstress (TS)-korrelierte Anreicherung und bilden die Heterogenität der TS-Antwort des Blattmaterials ab. In Metabolom-Experiment I ausgewählte Proben des T1 des Gewächshausversuches 2022 ((BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-), 30 Tage starker TS, Probenauswahl siehe Abbildung 3) aufgenommene Daten von Roteichenblättern wurden gerichtet ausgewertet. Die gerichtete Auswertung basiert auf die während der Extraktion zugesetzten, isotopenmarkierten Standards (13C6-Prolin und D9-ABA).

In einem ähnlichen Ansatz (gerichtet und basierend auf die während der Extraktion zugesetzten, isotopenmarkierten Standards ($^{13}C_6$-Prolin und D_9-ABA)) wurden auch die in Metabolom-Experiment III aufgenommenen Daten ausgewertet und die Akkumulation von ABA und Prolin in TS-toleranten und TS-anfälligen der drei Herkünfte BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-) verglichen (Abbildung A14). In diesem Experiment zeigen die Blätter TS-toleranter Sämlinge zeigen eine geringere Heterogenität in Bezug auf ABA- und Prolin-Gehalt nach TS.

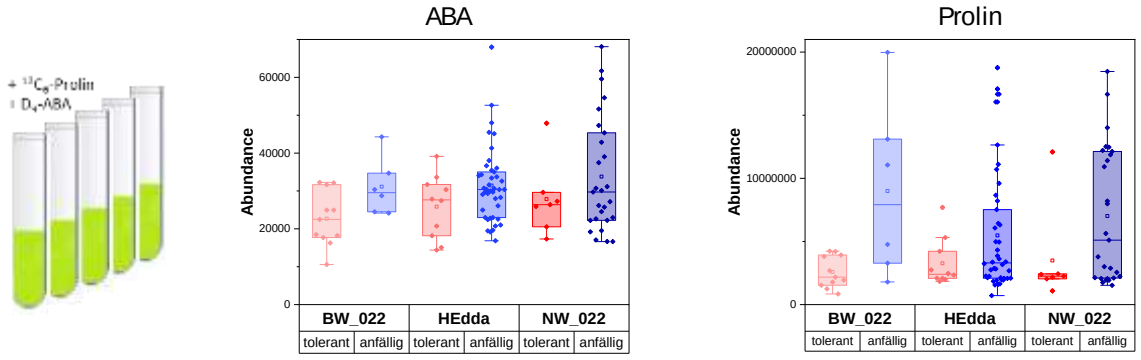


Abbildung A14: Blätter TS-toleranter Sämlinge zeigen eine geringere Heterogenität in Bezug auf ABA- und Prolin-Gehalt nach TS. In Metabolom-Experiment III ausgewählte Proben des T1 des Gewächshausversuches 2022 ((75 anfällige (-2) + 28 tolerante (+2) Sämlinge von BW022 (+), HEdda (-) und NW022 (-), 30 Tage starker TS) aufgenommene Daten von Roteichenblättern wurden gerichtet ausgewertet. Die gerichtete Auswertung basiert auf die während der Extraktion zugesetzten, isotopenmarkierten Standards (13C6-Prolin und D9-ABA).

Gerichtete Analysen der Metabolom-Experimente IV und V

Wie bereits erläutert stehen sowohl die gerichtete Auswertung des Metabolom-Experimentes IV für die integrative Datenanalyse der Metabolom- und Transkriptomdaten mittels MARVIS sowie die Analyse (Messung plus gerichtete Auswertung) des Metabolom-Experimentes V der 360 verbliebenen Blattproben wegen Verzögerungen in AP3 noch aus. Die hierfür erforderliche Extraktion des schockgefrorenen und lyophilisierten Blattmaterials wurde im Projektjahr 2024 durchgeführt.

Literatur

Djamei, A., Schipper, K., Rabe, F., Ghosh, A., Vincon, V., Kahnt, J., Osorio, S., Tohge, T., Fernie, A.R., Feussner, I., Feussner, K., Meinicke, P., Stierhof, Y.-D., Schwarz, H., Macek, B., Mann, M., and Kahmann, R. (2011). Metabolic priming by a secreted fungal effector. Nature 478, 395-398.

Fàbregas, N., and Fernie, A.R. (2019). The metabolic response to drought. J. Exp. Bot. 70, 1077-1085.

Fàbregas, N., Lozano-Elena, F., Blasco-Escámez, D., Tohge, T., Martínez-Andújar, C., Albacete, A., Osorio, S., Bustamante, M., Riechmann, J.L., Nomura, T., Yokota, T., Conesa, A., Alfocea, F.P., Fernie, A.R., and Caño-Delgado, A.I. (2018). Overexpression of the vascular brassinosteroid receptor BRL3 confers drought resistance without penalizing plant growth. Nat. Commun. 9, 4680.

Fox, H., Ben-Dor, S., Doron-Faigenboim, A., Goldsmith, M., Klein, T., and David-Schwartz, R. (2023). Carbohydrate dynamics in *Populus* trees under drought: An expression atlas of genes related to sensing, translocation, and metabolism across organs. Physiol. Plant. 175, e14001.

Heinemann, B., Künzler, P., Eubel, H., Braun, H.-P., and Hildebrandt, T.M. (2021). Estimating the number of protein molecules in a plant cell: protein and amino acid homeostasis during drought. Plant Physiol. 185, 385-404.

Kaever, A., Landesfeind, M., Feussner, K., Mosblech, A., Heilmann, I., Morgenstern, B., Feussner, I., and Meinicke, P. (2015). MarVis-Pathway: integrative and exploratory pathway analysis of non-targeted metabolomics data. Metabolomics 11, 764-777.

Kersten, B., Ghirardo, A., Schnitzler, J.-P., Kanawati, B., Schmitt-Kopplin, P., Fladung, M., and Schroeder, H. (2013). Integrated transcriptomics and metabolomics decipher differences in the resistance of pedunculate oak to the herbivore *Tortrix viridana* L. BMC Genomics 14, 737.

König, S., Feussner, K., Kaever, A., Landesfeind, M., Thurow, C., Karlovsky, P., Gatz, C., Polle, A., and Feussner, I. (2014). Soluble phenylpropanoids are involved in the defense response of Arabidopsis against *Verticillium longisporum*. New Phytol. 202, 823-837.

König, S., Feussner, K., Schwarz, M., Kaever, A., Iven, T., Landesfeind, M., Ternes, P., Karlovsky, P., Lipka, V., and Feussner, I. (2012). Arabidopsis mutants of sphingolipid fatty acid α-hydroxylases accumulate ceramides and salicylates. New Phytol. 196, 1086-1097.

Manna, S. (2015). An overview of pentatricopeptide repeat proteins and their applications. Biochimie 113, 93-99.

Nanao, M.H., Vinos-Poyo, T., Brunoud, G., Thévenon, E., Mazzoleni, M., Mast, D., Lainé, S., Wang, S., Hagen, G., Li, H., Guilfoyle, T.J., Parcy, F., Vernoux, T., and Dumas, R. (2014). Structural basis for oligomerization of auxin transcriptional regulators. Nat. Commun. 5, 3617.

Pizzio, G.A., Rodriguez, L., Antoni, R., Gonzalez-Guzman, M., Yunta, C., Merilo, E., Kollist, H., Albert, A., and Rodriguez, P.L. (2013). The PYL4 A194T mutant uncovers a key role of PYR1-LIKE4/PROTEIN PHOSPHATASE 2CA interaction for abscisic acid signaling and plant drought resistance. Plant Physiol. 163, 441-455.

Rekhter, D., Mohnike, L., Feussner, K., Zienkiewicz, K., Zhang, Y., and Feussner, I. (2019). Enhanced Disease Susceptibility 5 (EDS5) is required for *N*-hydroxy pipecolic acid formation. bioRxiv, 630723.

Schraml, C., and Rennenberg, H. (2002). Ökotypen der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zeigen unterschiedliche Reaktionen auf Trockenstreß. Forstwissenschaftliches Centralblatt vereinigt mit Tharandter forstliches Jahrbuch 121, 59-72.

Shaar-Moshe, L., Hübner, S., and Peleg, Z. (2015). Identification of conserved drought-adaptive genes using a cross-species meta-analysis approach. BMC Plant Biol. 15, 111.

Stringlis, I. (2018). Signals from the underground and their interplay with plant immunity. In Plant-Microbe Interactions (Utrecht University).

Tanaka, S., Brefort, T., Neidig, N., Djamei, A., Kahnt, J., Vermerris, W., Koenig, S., Feussner, K., Feussner, I., and Kahmann, R. (2014). A secreted *Ustilago maydis* effector promotes virulence by targeting anthocyanin biosynthesis in maize. eLife 3, e01355.

Tiwari, P., and Chakrabarty, D. (2021). *Dehydrin* in the past four decades: From chaperones to transcription co-regulators in regulating abiotic stress response. Current Research in Biotechnology 3, 249-259.

Todaka, D., Zhao, Y., Yoshida, T., Kudo, M., Kidokoro, S., Mizoi, J., Kodaira, K.-S., Takebayashi, Y., Kojima, M., Sakakibara, H., Toyooka, K., Sato, M., Fernie, A.R., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2017). Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions. Plant J. 90, 61-78.

Yin, X., Bai, Y.-L., Ye, T., Yu, M., Wu, Y., and Feng, Y.-Q. (2021). Cinnamoyl coA: NADP oxidoreductase-like 1 regulates abscisic acid response by modulating phaseic acid homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. J. Exp. Bot. 73, 860-872.

Zhang, X., Gou, M., and Liu, C.J. (2013). *Arabidopsis* Kelch repeat F-box proteins regulate phenylpropanoid biosynthesis via controlling the turnover of phenylalanine ammonia-lyase. Plant Cell 25, 4994-5010.

Teilvorhaben 4: Auslese von Plusbäumen der Roteiche und genetische Untersuchung ihrer Herkunft und Vielfalt (FVA-BW)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Ziel des Teilvorhabens ist es, einen Beitrag zur zukünftigen Versorgung des Marktes mit hochwertigem und anpassungsfähigem Vermehrungsgut der Roteiche (*Quercus rubra* L.) zu leisten. Dazu umfasst das Teilvorhaben im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW die Auswahl von Plusbäumen, deren Einzelbaumabsaaten zur Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen verwendet werden, die es langfristig in Samenplantagen zu überführen gilt. Neben umfangreichen Feldarbeiten steht dabei die Gewinnung von Probenmaterial im Vordergrund, um den genetischen Fingerabdruck der Plusbäume und deren Nachkommen zu sichern, die nordamerikanische Herkunft der Plusbäume einzugrenzen und die potentielle genetische Verarmung in zugelassenen Erntebeständen zu prüfen. Dazu werden in Zusammenarbeit mit dem SBS und dem Labor der BOKU spezielle Marker entwickelt. Zum Projektende soll eine Fläche zur Nachkommenschaftsprüfung im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW angelegt werden. Zusätzlich übernimmt die FVA-BW die Gesamtkoordination im Projekt RubraSelect und speziell im Teilverbund B und unterstützt zudem die Teilvorhaben 6 und 7 mit der Bereitstellung von Probenmaterial (AP 16 & 17) sowie Saatgut (AP 17).

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 12: In der ersten Projektphase wurde eine vorläufige Zuchtzoneneinteilung vorgenommen. Das Konzept, für weiterführende Maßnahmen Deutschland in 2 Zuchtzonen einzuteilen, wurde im weiteren Verlauf verworfen (siehe AP12 in Sektion II.1).

AP 13: Gemeinsam mit den Partnern wurden die Variablen erarbeitet, die zur Charakterisierung der Bestände verwendet werden sollten. Ein einheitlicher Tabellenkopf zur Aufnahme der Variablen pro Bestand wurde erstellt und 34 Bestände als Ausgangspopulation zur Massenauslese anhand diesem erfasst.

AP14: Wie vorgesehen konnten im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW insgesamt 100 Plusbäume nach einem vorab entwickelten Kriterienkatalog in den 34 Ausgangspopulationen ausgewählt werden. Für den Fall einer unzureichenden Fruktifikation dieser oder dem Ausfall einzelner Plusbäume wurden in den festgelegten Ausgangspopulationen weitere 93 Plusbaumkandidaten kartiert.

AP 15: Die **Reisergewinnung** aus der Lichtkrone erfolgte nach getätigter Ausschreibung im Januar und Februar 2023 mittels Baumkletterern von 124 kartierten Roteichen. Aufgrund teils geringer Anwuchsquoten bei einigen Genotypen sind im Januar 2024 erneut Reiser für notwendige Nachveredelungen gewonnen worden. Zusätzlich wurden von bisherigen Plusbaumkandidaten, die bei der Saatguternte Berücksichtigung fanden, ebenfalls Reiser geschnitten. Insgesamt sind auf diese Weise im Januar 2024 weitere 53 Roteichen zur Reisergewinnung aufgesucht worden.

Im Oktober 2022 startete planmäßig die **Saatgutgewinnung**. Für den Trockenstressversuch beim SBS wurde ausreichend Saatgut von je 12 Plusbäumen gesammelt. Für die anzulegende Nachkommenschaftsprüfung konnte die Saatgutgewinnung hingegen infolge unzureichender Fruktifikation der meisten kartierten Roteichen nur in Teilen abgeschlossen werden. So konnte lediglich von 33 Roteichen insgesamt rund 135 kg Eicheln einzelbaumweise gesammelt werden. Nach erfolgter Thermotherapie wurde dieses an der Staatsklenge Nagold eingelagert. Um die vorgesehene Nachkommenschaftsprüfung anlegen zu können, fand daher im Herbst 2023 erneut eine Saatguternte bei 97 Roteichen statt, wobei etliche der bereits 2022 beernteten Roteichen erneut aufgesucht wurden. Das gesammelte Saatgut wurde im Feld der Schwimmprobe unterzogen, sodass weitere rund 460 kg Eicheln an die Staatsklenge Nagold zur Einlagerung übergeben worden sind. Zusätzlich dazu sind 95 kg der abgeschwemmten Eicheln als Reserve aufbewahrt worden (vgl. AP 15 in Sektion 1.2). Unter Einbezug der Ernte in 2022 standen rund 690 kg Eicheln von 105 Roteichen bis zur Aussaat 2024 bereit.

AP 16: Als vorbereitende Maßnahme im Jahr 2022 sind gemeinsam mit dem SBS und dem Labor der BOKU 31 nSSR-Marker an vorhandenen Roteichenproben getestet und bewertet worden. Nach abschließender Beurteilung wurden 15 dieser Marker für die Durchführung der späteren Genotypisierung ausgewählt. Insgesamt war die FVA-BW mit der Bearbeitung von rund 3.800 Einzelproben beauftragt (Plusbäume & Plusbaumkandidaten: ca. 500; Intensivflächen: ca. 2.600; Referenzherkünfte: ca. 700). Diese wurden im Verlauf des Jahres 2023 durch Projektmitarbeitende aufbereitet und die DNA extrahiert. Die extrahierte DNA ist anschließend mit

der Ecogenics GmbH an einen externen Dienstleister für die weitere Genotypisierung übermittelt worden. Anschließend wurden die genotypischen Daten je nach Fragestellung mit verschiedenen populationsgenetischen Softwarepaketen ausgewertet.

AP 17: Für den Trockenstressversuch beim SBS wurde das entsprechende Saatgut, welches im Rahmen von AP15 geerntet worden ist, verschickt.
Sowohl im Jahr 2022 als auch in 2023 wurde dem LFE eine Liste mit für physiologische Untersuchungen geeigneten Roteichen übermittelt. Insgesamt sind 123 ausgewählte Roteichen aus 32 Beständen beprobt worden.

AP 18: Die notwendigen **Veredelungsarbeiten** erfolgten von Mitte Januar bis Mitte Februar 2022 weitgehend parallel zur Reisergewinnung. Als Unterlage für die 2.400 durchzuführenden Pfropfungen dienten Containerpflanzen, die vor der eigentlichen Veredelung für 2-3 Wochen im Gewächshaus angetrieben worden sind. Zur verbesserten Wurzelentwicklung wurden diese nach der Veredelung umgehend getopft. Im Januar 2023 wurden die Veredelungsarbeiten für 53 Roteichen wiederholt (siehe AP15 in Sektion II. 1). Dabei wurden rund 1.000 Pfropfungen getätigt, wobei nun auf wurzelnackte Pflanzen ohne vorheriges Antreiben zurückgegriffen worden ist. Auch diese Pflanzen galt es umgehend zu topfen. Alle Pfropflinge wurden gestäbt und die Unterlagen regelmäßigen abgewildert. Im Frühjahr 2023 war zudem eine Bekämpfung des Frostspanners mittels NeemAzal notwendig. Ein Teil der Veredelungen aus 2023 ist zudem zur Förderung der Wurzelentwicklung in 2024 umgetopft worden.

Aufgrund des äußerst niederschlagsreichen Frühjahres im Jahr 2024 konnte mit der **Aussaat** des gewonnenen Saatguts erst Mitte Mai begonnen werden. Jede Einzelbaumabsaat wurde in voneinander getrennt angelegten Parzellen händisch etwa 2-3 cm tief gesteckt und mit Sand bedeckt. Vorab ist das Saatgut jedoch erneut abgeschwemmt worden. Bei einzelnen Absaaten wurde daraufhin von einer Aussaat abgesehen. Unabhängig der vorhandenen Eichelzahl sind je Absaat nicht mehr als rund 1.200 Eicheln gesteckt worden. Insgesamt wurden rund 470 kg Saatgut von 99 Einzelbaumabsaaten ausgebracht. Die anschließende Unkrautbekämpfung erfolgte weitgehend händisch. Von einer Bewässerung konnte bis auf wenige Ausnahmen abgesehen werden. Zur Ermittlung der **Keimfähigkeit** wurden für jede vorhandene Einzelbaumabsaat zusätzlich Eicheln in QuickPots gesteckt und diese später bonitiert. Außerdem ist für die einzelnen Familien die **Johannistriebbildung** erfasst worden, indem auf dem Pflanzacker 25 Pflanzen je Parzelle systematisch markiert worden sind. Mitte August und zum Abschluss der Vegetationszeit wurden diese dann hinsichtlich des Johannistriebs begutachtet und dessen Trieblänge gemessen. Des Weiteren ist im Rahmen einer Bachelorarbeit das Voranschreiten der **Blattseneszenz** im Herbst 2024 erfasst worden. Dazu sind die bereits im Zuge der Johannistriebbonitur markierten Nachkommen wöchentlich ab September mittels einer sechsstufigen Skala bewertet worden.

AP 19: Eine rund 2,0 ha große Fläche zur Anlage der **Pfropflings-Samenplantage** ist vorhanden. Die finale Flächenanlage konnte jedoch erst nach Projektende erfolgen.
Für die vorgesehene **Nachkommenschaftsprüfung** in Baden-Württemberg ist eine im kommunalwaldbefindliche Fläche des Rhein-Neckar-Kreises vorhanden. Der Versuch wurde dabei als *randomised complete block design* (RCBD) mit Einzelbaumparzellen angelegt (siehe AP19 in Sektion II. 1). Als vorbereitende Maßnahmen ist die rund 2 ha große Fläche vollständig geräumt und eine Eindämmung der flächig vorkommenden Brombeere vorgenommen worden. Weitere Maßnahmen (u.a. Zaunbau) inklusive der Pflanzarbeiten werden erst nach Projektende umgesetzt werden können. Neben Pflanzen aus Baden-Württemberg wird auch auf angezogene Roteichen der beteiligten Projektpartner zurückgegriffen (siehe AP 19 in Sektion II. 1.), sodass auf dieser Fläche schlussendlich 142 Familien mit jeweils 24 Nachkommen auf der Fläche vertreten sein werden. Da von vielen Mutterbäumen aufgrund der hohen Keimungsrate des Saatgutes deutlich mehr Nachkommen angezogen wurden als final benötigt werden, wird zusätzlich eine zweite rund 1,2 ha große Fläche im Kommunalwald des Landkreises Konstanz angelegt. Für die Pflanzung wird vom zuständigen Revierleiter externes Personal beauftragt. Um die Fehleranfälligkeit bei der Pflanzung zu reduzieren, wird deshalb statt auf Einzelbaumparzellen nun auf Mehrbaumparzellen zurückgegriffen.

AP 20: Die **Gesamtkoordination** betreffende Tätigkeiten umfassten die Kommunikation mit den Kollegen und Kolleginnen aus Teilverbund A, die Organisation der monatlichen Treffen mit Teilverbund B, die in 2023 und 2024 in Präsenz abgehaltenen Projektreffen oder die Verwaltung der zu Projektbeginn erstellten Cloud. Im Rahmen der **Öffentlichkeitsarbeit** und des **Wissenstransfers** ist die vorhandene Webseite gepflegt und mittels regelmäßiger Newsbeiträge über die Arbeitsfortschritte der Projektpartner informiert worden. Zudem ist bei diversen Veranstaltungen das Gesamtprojekt sowie Ergebnisse des Teilvorhabens vorgestellt worden (siehe AP20 ins Sektion).

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Aufgrund einer mangelnden Datenbasis konnte im Projektverlauf keine wissenschaftlich belegbare Zuchtzoneneinteilung vorgenommen werden (**AP12**). Das Konzept musste daher vorläufig verworfen werden.

Im Zuge der Plusbaumauslese (**AP14**) konnten in Baden-Württemberg nicht nur die geforderten 100 Roteichen auf Basis eines herausragenden Phänotyps und guter Vitalität aufgenommen werden, sondern zusätzlich weitere 93 Einzelbäume ausfindig gemacht werden. Diese wurde georeferenziert und im Gelände markiert. Von einem Teil dieser Bäume wurden in 2023 und 2024 mittels Baumkletterer Reiser gewonnen (**AP15**). Im Zuge der abschließenden **Veredelungsarbeiten** konnten 140 der kartierten Roteichen erfolgreich vegetativ vermehrt werden, sodass rund 1.250 Pfropflinge mit zwischen 1 und 20 Rameten zur Anlage einer **Pfropflings-Samenplantage** zur Verfügung stehen. Diese wurde im Frühjahr 2025 auf einer vorhandenen Fläche vorgesehen. Unter Berücksichtig vereinzelter Ausfälle im jahreszeitlichen Verlauf lag der Anwuchserfolg bei rund 36,1 % (2023: 33,5 %; 2024: 45,2 %). Von 99 der ausgewählten Plusbäume konnte außerdem einzelbaumweise Saatgut gesammelt werden. Die in QuickPots gesteckten Eicheln wiesen insgesamt mit 89 % eine sehr hohe **Keimungsrate** auf, wobei diese auf dem Acker tendenziell etwas geringer ausfiel. Dabei zeigten sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen dem Saatgut aus 2022 und 2023. Eine **Johannistriebbildung** konnte an rund 1.200 der dauerhaft markierten 2.475 Nachkommen beobachtet werden (≙ 50 %). Zwischen den Einzelbaumabsaaten zeigten sich dabei teils erhebliche Unterschiede. So wiesen einige Familien kaum eine Johannistriebbildung auf (Anteil < 10 %), während dieser Anteil in anderen Familien bei über 90 % lag. Des Weiteren kam es im August 2024 an rund 30 % der Nachkommenschaften mit einem Johannistrieb zu einem einen dritten Wachstumsschub, sodass vereinzelt Wuchshöhen von über 70 cm erreicht worden. Im Zeitraum vom 25.09. bis 10.12.2024 ist außerdem wöchentlich der **Knospenabschluss** bonitiert worden, um familien- und herkunftsspezifische Unterschiede zu ermitteln. Die Auswertung dieser Daten erfolgt jedoch erst im Rahmen einer Abschlussarbeit nach Projektende (Brielmayr 2025). Insgesamt konnte von ca. 80 Familien ausreichend Saatgut angezogen werden, um damit in Kooperation mit den beteiligten Partnern in TV B und dem Thünen-Institut eine **Nachkommenschaftsprüfung** anzulegen. Unter Hinzunahme von weiteren Pflanzen, die an der NW-FVA angezogen worden sind, können so 5 Parallelflächen angelegt werden. Auf diesen werden Nachkommen von ca. 140 unterschiedlichen Familien vertreten sein. Es wurde für eine vollständige randomisierte Blockanlage mit Einzelpflanzparzellen und eine möglichst hohe Anzahl an Wiederholungsblöcken entschieden. Dieses Design ist optimal sowohl für die Auswertung der Familien in den ersten Jahren des Versuchs als auch für weitere Auslese innerhalb und zwischen Familien im Zuge der Überführung einer Versuchsfläche in eine Samenplantage (White et al. 2007). Zusätzlich ist eine weitere Fläche mit modifiziertem Versuchsdesign und reduzierter Familienzahl vorgesehen. Beide Flächen im Zuständigkeitsbereich der FVA-BW werden im Frühjahr 2025 angelegt. Nach intensiver Selektion wird dann eine Überführung der NKP zur Sämlings-Samenplantage angestrebt. Folglich kann durch die vielfältigen Arbeitsschritte, die zur Bereitstellung von Pflanzgut und somit zur Anlage einer Pfropflings-Samenplantage sowie der NKP dienen, die Basis für die zukünftige Bereitstellung von hochwertigem und anpassungsfähigen Vermehrungsgut gelegt werden.

Zum Projektende lagen an der FVA-BW Listen mit vollständigen Genotypen der 15 verwendeten Kern-Mikrosatellitendaten für folgende Kollektive: i) Referenzbestände aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet, ii) Plusbäume und Plusbaumkandidate, iii) Altbäume aus den vier Internsivflächen in Baden-Württemberg und iv) Nachkommen (Eicheln oder Naturverjüngung) aus den vier Intensivflächen (**AP16**). Bei den Markern handelt es sich um die selektiv neutralen Mikrosatelliten quru-GA-1F02 und quru-GA-1F02 (Aldrich et al. 2002) sowie QpZAG15 (Steinkellner et al. 1997), um die EST-Mikrosatelliten FIR053, FIR104, GOT009, PIE039, PIE099, PIE040, PIE125 und WAG065 (Durand et al. 2010), die EST-Mirkosatelliten REO_371, REO_368 und REO_433 (Konar et al. 2017) sowie Qr6783 (Müller et al. 2018). Zudem wurden Daten der fünf analysierten Chloroplasten-Mikrosatelliten (ccmp2 und ccmp3 aus Weising & Gardner 1999, sowie µcd4, µdt1 und µdt4 aus Deguilloux et al. 2003) für eine Stichprobe von 900 Individuen aus den o.g. Kollektiven bereitgestellt. Diese Daten waren sowohl mit den Genotypen aus dem TV7 als auch mit weiteren österreichischen Beständen abgeglichen, um eine gemeinsame Auswertung und dabei einen Mehrwert zu ermöglichen. Die populationsgenetische Analyse dieser Daten lieferte Auskunft über die Herkunft deutscher Roteichenbestände sowie deren genetichen Diversität. In den Intensivbeständen konnte die genetische Vielfalt zwischen Altbäumen und deren Folgegeneration verglichen sowie der Anteil externen Polleneinflugs geschätzt werden. Vorläufige Ergebnisse beider Untersuchungen wurden in der 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung im DVFFA in Freiburg am 12.09.2024 präsentiert und im Tagungsband veröffentlicht (Neophytou et al. 2025). Einer länderübergreifenden Studie mit Schwerpunkt auf der Herkunftsidentifikation war zum Projektende in

Arbeit und soll im Rahmen der Kooperation zwischen TV4, TV7 und BOKU in einer Fachzeitschrift veröffentlicht werden. Die Analyse der genetischen Vielfalt und Elternschaftsbeziehungen in den vier Intensivbeständen wird im Rahmen einer Masterarbeit (Körtels 2025) bearbeitet. Es wird geplant, die Endergebnisse dieser Analyse ebenfalls in einer referierten Fachzeitschift zu publizieren. Schließlich stehen die genotypischen Daten der Plusbäume allen Partnern zur Verfügung und können auch in Zukunft der Klonidentifikation dienen.

Als wichtige Plattform für die Öffentlichkeitsarbeit (**AP20**) diente die durch die FVA-BW eingerichtete Webseite des Projekts (https://www.rubraselect.de), die unter anderem Informationen über die Projektpartner und –inhalte sowie Publikationen beinhaltet. Außer der Teilnahme an Fachtagungen wurden Vorträge gerichtet an das fachinteressierte sowie allgemeine Publikum gehalten. So wurde z.B. in Kooperation mit der FNR ein Themennachmittag unter dem Titel „Roteiche: Baum des Jahres 2025 - auch Baum mit Zukunft?“ organisiert, in dessen Rahmen wesentliche Projektergebnisse präsentiert wurden.

Literatur

Aldrich, P. R., Michler, C. H., Sun, W., & Romero-Severson, J. (2002). Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Notes*, *2*(4), 472-474.

Brielmayr, M. 2025: Vergleichende Analyse der Blattseneszenz von Roteichenpopulationen in Baden-Württemberg. Bachelorarbeit. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.

Deguilloux, M. F., Dumolin-Lapègue, S., Gielly, L., Grivet, D., & Petit, R. J. (2003). A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Molecular Ecology Notes*, *3*(1), 24-27.

Durand, J., Bodénès, C., Chancerel, E., Frigerio, J. M., Vendramin, G., Sebastiani, F., Buonamici, A., Gailing, O., Koelewijn, H.-P., Villani, F., Mattioni, C., Cherubini, M., Goicoechea, P.G., Herrán, A., Ikaran, Z., Cabané, C., Ueno, S., Alberto, F., Dumoulin, P.-Y., Guichoux, E., de Daruvar, A., Kremer, A., Plomion, C. (2010). A fast and cost-effective approach to develop and map EST-SSR markers: oak as a case study. *BMC genomics*, *11*, 1-13.

Konar, A., Choudhury, O., Bullis, R., Fiedler, L., Kruser, J. M., Stephens, M. T., Gailing, O., Schlarbaum, S., Coggeshall, M.V., Staton, M.E., Carlson, J.E., Emrich, S., Romero-Severson, J. (2017). High-quality genetic mapping with ddRADseq in the non-model tree *Quercus rubra*. *BMC genomics*, *18*(1), 1-12.

Müller, M.; Gailing, O. 2018: Characterization of 20 new EST-SSR markers for northern red oak (*Quercus rubra* L.) and their transferability to *Fagus sylvatica* L. and six oak species of section Lobatae and Quercus. Annals of Forest Research 61: 211-222.

Neophytou, C.; Jansen, S.; Lee, F.; Brückner, M.; Bilela-Eckert, S.; Tröber, U. 2025: Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Roteiche (*Quercus rubra* L.) in Mitteleuropa als Grundlage für zukünftige Züchtung. In: Liesebach, M.; Tröber, U. (Hrsg.): Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung 8. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung vom 11. bis 13. September 2024 in Freiburg i. Br. Tagungsband. Thünen Report 119, S. 123-137.

Steinkellner, H., Lexer, C., Turetschek, E., & Glössl, J. (1997). Conservation of (GA) n microsatellite loci between *Quercus* species. Molecular Ecology, 6(12), 1189-1194.

Weising, K., & Gardner, R. C. (1999). A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. Genome, 42(1), 9-19.

White, T.L.; Adams, W.T.; Neale D.B. 2007: Advanced-generation breeding strategies – Breeding population size, structure and management. Forest genetics. Wallingford UK: CABI, S. 479-522.

Teilvorhaben 5: Einleitung eines Züchtungsprogrammes durch Auswahl und Beerntung von Plusbäumen (NW-FVA)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Gegenstand des Teilvorhabens 5 ist die Einführung eines Züchtungsprogrammes für die Roteiche als wichtigste eingeführte Laubbaumart. Dafür ist die Auswahl, Beerntung und Vermehrung von herausragenden Phänotypen (Plusbäumen) der Roteiche vorgesehen. Aus den Einzelbaumabsaaten der Plusbäume sollen Nachkommenschaftsprüfungen angelegt werden, die langfristig in Samenplantagen überführt werden. Durch den Aufbau von Samenplantagen soll in Zukunft hochwertiges Saatgut der Roteiche erzeugt und auf dem Markt bereitgestellt werden. Bisher gibt es in Deutschland für die Roteiche noch keine Samenplantagen, sondern es ist nur ausgewähltes Vermehrungsgut aus Roteichenerntebeständen auf dem Markt verfügbar (BLE, 2019). Neben den Einzelbaumabsaaten werden ebenfalls Reiser zum Zwecke einer Veredlung (Pfropfung) der Plusbäume gewonnen, um das genetische Material der Plusbäume in Klonarchiven zu sichern.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 12: 2022 erfolgte in Zusammenarbeit mit der FVA-BW eine vorläufige Einteilung auf Basis der klimatischen Wasserbilanz und der nutzbaren Feldkapazität, bei der 245 Bestände berücksichtigt wurden (FVA-BW [66], NW-FVA [140], SBS [30], LFE [9]). Für die endgültige Einteilung der Zuchtzonen sollten die Ergebnisse der Phänotypisierung aus AP17 einbezogen werden. Diese zeigten zwar Unterschiede zwischen den Individuen auf, ließen aber keine Grenze zwischen zwei potenziellen Zuchtzonen erkennen (AP 17). Eine Zuchtzoneneinteilung bei Roteiche ist daher in Deutschland bislang wissenschaftlich nicht begründbar.

AP 13: Um geeignete Ausgangspopulationen festlegen zu können, erfolgte 2021 eine Recherche der Ausgangssituation der Roteiche in Hessen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein. Dafür wurden die Waldbaukonzepte der Trägerländer analysiert, die zugelassenen Erntebestände anhand des Erntezulassungsregisters erfasst, die Forsteinrichtungs- und Standortsdaten ausgewertet sowie bereits bestehende Versuchsflächen der NW-FVA gesichtet. Es wurden alle Saatguterntebestände im Staatswald einbezogen, weil die Chancen, dort Plusbäume zu finden, naturgemäß höher waren. Um ein breites Spektrum der Standortswasserbilanz abzudecken, wurden über die Erntebestände hinaus, weitere Bestände zur Plusbaumsuche angefahren. Zugleich wurde auf eine gute räumliche Verteilung geachtet.

AP 14: Der 2022 gemeinsam erarbeitete Aufnahmebogen zur Plusbaumauslese gewährleistete einen gleichen Standard bei allen Partnern. Für die Bereisung im Gelände wurden Karten der Bestände (Ausgangspopulationen) erstellt. Neben den Bestandsdaten enthielten diese die Kontaktdaten der Revierleiter, welche im Vorfeld über das Projekt informiert wurden.

AP 15: Aufgrund des ausgebliebenen Eichelbehangs im Herbst 2022 wurde die **Saatguternte** verschoben und erfolgte im September 2023. Die NW-FVA organisierte die Ernte in den Bundesländern Brandenburg, Hessen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein. Zuvor wurden Ernteprognosen von den verantwortlichen Revierleitern sowie von weiteren Fachkundigen (u.a. Saatgutbeauftragte der Landesdarren) eingeholt, um abschätzen zu können, wie gut die Bäume in diesem Jahr fruktifiziert hatten. Für die Ernte wurden Aufträge an zwei Unternehmer vergeben, deren Ausschreibung im Sommer 2023 erfolgte. Da nicht alle Plusbäume ausreichend fruktifiziert hatten, wurden zusätzlich einige der Plusbaumkandidaten beerntet (vgl. Tabelle 2). Das Saatgut wurde abgeschwemmt, sortiert und abgepackt. Die Einlagerung sowohl des hoch- als auch des minderwertigen Saatgutes erfolgte nach vorheriger Thermotherapie in der Darre der Niedersächsischen Landesforste.

Die **Reiserernte** konnte wie geplant im Jahr 2023 durchgeführt werden. Nach Auftragsvergabe an einen Unternehmer erfolgte diese im 1. Quartal 2023 (16.01.-24.02.2023). Es wurden 65 Plusbäume aus den Bundesländern Brandenburg (15), Hessen (15), Niedersachsen (16), Sachsen-Anhalt (14) und Schleswig-Holstein (5) beerntet. Von jedem Plusbaum wurden ca. 45 Reiser aus der Lichtkrone geschnitten. Bis zur anschließenden Pfropfung wurden die Reiser im Kühlhaus gelagert.

AP 16 & 17: Die Arbeitspakete 16 und 17 sind kein unmittelbarer Bestandteil des Teilvorhabens 5. Eine Zuarbeit an die zuständigen Projektpartner erfolgte.

AP 18: Die für den **Trockenstressversuch** benötigten Sämlinge wurden 2023 entgegen der ursprünglichen Planung direkt beim SBS in Graupa angezogen (vgl. AP 18). Durch die verschobene Saatguternte verzögerte sich auch die **Anzucht der Sämlinge** für die NKP um ein Jahr. Nach Lagerung des Saatgutes über den Winter erfolgte die Aussaat im Mai 2024 (3 Arbeitstage) in der Baumschule der NW-FVA. Die Keimungsrate wurde

über die Aussaat einer repräsentativen Menge Eicheln je Plusbaum in Quick-Pots ermittelt und lag bei 80 % (vgl. AP 18). Aufgrund geringer Saatgutmengen wurden sowohl das gute als auch das abgeschwemmte minderwertige Saatgut ausgesät. Im Verlauf der Vegetationsperiode 2024 erfolgte eine regelmäßige Saatbeetpflege durch Baumschulpersonal, Projektmitarbeitende und studentische Hilfskräfte. Aufgrund von Stellenvakanz in der hauseigenen Baumschule kam per Auftragsvergabe ein externer Dienstleister (Forstprojektleitung Nedden GmbH) zum Einsatz. Es erfolgten Bonituren des Sämlingsauflaufs, der Johannistriebbildung, der Pflanzenhöhen und des Triebabschlusses (vgl. AP 18).

Die **Pfropfung** der Reiser konnte wie geplant im 1. Quartal 2023 durchgeführt werden. Sie erfolgte vor Ort bei der NW-FVA durch hauseigene Gärtner und Projektangestellte. Die dazu benötigten Unterlagen waren im Vorjahr in der Baumschule der NW-FVA angezogen bzw. bei externen Baumschulen bestellt worden. Es wurden Container- und wurzelnackte Pflanzen als Unterlagen verwendet. Zum Einsatz kamen unterschiedliche Veredelungstechniken. Nach der Pfropfung wurden die Pfropflinge in Rebwachs und ein darin enthaltenes Fungizid getaucht und unter Folientunnel in Beetkästen ausgepflanzt. Es erfolgte eine Austriebsbonitur im Frühjahr 2023. Im März 2024 wurden die Pfropflinge ins Freiland verschult. Im 1. Quartal 2024 erfolgte die Nachveredelung von drei Plusbäumen aus Brandenburg (vgl. AP 18). Von den Reisern wurden Knospenproben für genetische Analysen und Rückstellproben entnommen. Die Proben wurden zur molekulargenetischen Untersuchung an den Projektpartner FVA-BW verschickt (AP 16).

AP 19: 2022 wurde, unter Einbezug aller Projektpartner, ein vorläufiges Versuchsdesign für die Anlage der NKP festgelegt. Dieses lag als *Randomised Incomplete Block Design* vor. Das finale Design konnte erst 2024 festgelegt werden, als die Keimungsraten des ausgesäten Saatgutes feststanden. Letztendlich wurde sich für ein *Randomised Complete Block Design* entschieden, in Anlehnung an White et al. (2007). Dabei sollen 130 Familien als Einzelbaumparzellen in 24 Wiederholungen auf einer Fläche angepflanzt werden (vgl. AP 19). Die Pflanzung erfolgt im Verband 2 x 2 m. Die für die Anlage der NKP ausgewählte Fläche befindet sich im Forstamt Oerrel, Revier Gohlau. Die Flächenvorbereitungen (Mulchen, Zaunbau, Pflanzplatzmarkierungen) erfolgten im Dezember 2024 und Januar 2025. Die Pflanzung selbst kann erst nach Projektende im Frühjahr 2025 erfolgen und wird durch Angestellte der NW-FVA organisiert und durchgeführt.

Anstelle eines Klonarchives wurde im März 2024 eine Pfropflings-Samenplantage aus den veredelten Roteichen angelegt (vgl. AP 19). Ausgewählt wurde eine 2 ha große Fläche im Forstamt Oldendorf, Revier Ottenstein (Niedersachsen). Bei der Planung und Anlage erfolgte eine enge Zusammenarbeit mit dem Sachgebiet Erhaltung und Nutzung forstlicher Genressourcen (C-SG1) der NW-FVA, da die Fläche nach Projektende in dessen Zuständigkeit übergehen wird. Die schematische und zufällige Verteilung der Pfropflinge wurde mittels Optimum Neighborhood Algorithm nach Chaloupková et al. (2016) berechnet. Nach Abschluss der notwendigen Vorarbeiten erfolgte die Pflanzung am 18.03.2024. Im Verlauf des Jahres waren mehrere Pflegemaßnahmen notwendig. Dazu gehörten Ausfallbonituren (Mai, August), das Auskesseln der Pflanzen (Juni, Juli), eine Düngung mit Herbst-Kali-Dünger (September) und das reihenweise Mulchen durch den Unternehmer Taskforst Forstdienstleistungen Füllgrabe (November). Ende November erfolgte die Nachpflanzung von Reservepflanzen ausgefallener Pfropflinge und von Nachveredelungen aus Brandenburg.

AP 20: Auf der Website der NW-FVA wurde auf das Projekt RubraSelect aufmerksam gemacht. Regelmäßige News-Beiträge für die Projekthomepage wurden verfasst. Die Projektmethoden und -ergebnisse wurden im Rahmen von Tagungen, Fortbildungsveranstaltungen sowie dem Tag der offenen Tür in Hann. Münden sowohl der breiten Öffentlichkeit als auch dem Fachpublikum vorgestellt (detaillierte Auflistung der Vorträge und Publikationen siehe AP 20). Am 05.05.2023 wurde ein Fernsehbeitrag zur Reiserernte auf ServusTV ausgestrahlt, der ein größeres Presseecho nach sich zog.

Zusatz: Aufnahme und Auswertung eines Herkunftsversuchs in Schleswig-Holstein

Aufgrund der verschobenen Saatguternte und der damit ausgefallenen Arbeiten im Jahr 2022 wurde als Ersatz die Datenaufnahme in einem abgeschlossenen Herkunftsversuch in Schleswig-Holstein bei Kropp geplant (Aktenzeichen: 22.221.003, Anlagejahr 1990). Da in diesem Herkunftsversuch zum Teil dieselben Herkünfte wie in den durch das Thünen-Institut untersuchten Versuchen stehen, wurde diese Arbeit als sinnvolle Ergänzung gesehen. Die Planung dazu erfolgte Ende 2022/Anfang 2023. Die Aufnahme im März/April 2023 gestaltete sich aufgrund der örtlichen Begebenheiten aufwendiger als erwartet. Die Rekonstruktion des Versuches wurde durch im Vorfeld erfolgte Durchforstungsmaßnahmen erschwert. Es wurden Qualitäts-, Form- und Wuchsparameter bei einer gewissen repräsentativen Menge an Bäumen pro Parzelle aufgenommen. Die Visulisierung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm R.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Von einer Einteilung des Projektgebietes in zwei Zuchtzonen wurde abgesehen, da sich die Grenzziehung wissenschaftlich nicht begründen lässt.

In den vier Trägerländern der NW-FVA gibt es 144 nach dem FoVG zugelassene Erntebestände der Roteiche, die sich zu je rund 40 % in Niedersachsen und Hessen, zu rund 14 % in Sachsen-Anhalt und rund 7 % in Schleswig-Holstein befinden. Über die Hälfte der Erntebestände befindet sich im Staatseigentum (36 in NI, 37 in HE, 9 in ST und 6 in SH) mit einer durchschnittlichen (reduzierten) Flächengröße von 1,9 ha. Ausgehend von den am schwächsten wasserversorgten Standorten wurden die 88 Saatguterntebestände im Staatseigentum um 52 weitere Bestände auf trockeneren Standorten für die Plusbaumsuche ausgeweitet. Die Roteichenvorkommen decken, mit einer Spanne von > -300 mm bis 350 mm, eine breite Amplitude entlang der Standortswasserbilanz ab. Insgesamt wurden in diesen 140 Ausgangspopulationen 50 Plusbäume und 84 Plusbaumkandidaten ausgewiesen. 56 % dieser Plusbäume befinden sich auf Standorten mit negativer Standortswasserbilanz.

Insgesamt wurden durch die NW-FVA 102 kg Saatgut von 59 Plusbäumen und 5 Plusbaumkandidaten in fünf Bundesländern geerntet. Der SBS lieferte 137 kg Saatgut, womit eine Gesamtmenge von ca. 240 kg Saatgut eingelagert und im Frühjahr 2024 ausgesät wurde. Das durchschnittliche Tausendkorngewicht lag beim hochwertigen Saatgut bei 4.562 g und beim minderwertigen Saatgut bei 3.234 g. Die ermittelte Keimungsrate in den Quick Pots lag bei durchschnittlich 80 %, im Freiland bei den guten Eicheln bei 55 % und bei den schlechten Eicheln bei 15 %. Die Anzahl der aufgelaufenen Sämlinge hing stark von der Qualität des Saatgutes ab. Insgesamt konnten ca. 22.600 Roteichen-Sämlinge angezogen werden. Die Johannistriebbildung lag bei den nordwestlichen Bundesländer Hessen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein bei 94 % und bei den östlichen Bundesländern Brandenburg, Sachsen und Sachsen-Anhalt bei 66 % (Durchschnitt: 72 %). Hinsichtlich der Pflanzenhöhen traten sowohl zwischen als auch innerhalb der Prüfglieder Schwankungen auf. Sämlinge aus Brandenburg waren im Mittel am höchsten (21,3 cm), Sämlinge aus Schleswig-Holstein am niedrigsten (14,6 cm). Bei der Herbstverfärbung gab es zwischen den Partien und Bundesländern nur geringe Unterschiede. Die Rotverfärbung verlief bei allen Prüfgliedern sehr ähnlich. Sämlinge aus Niedersachsen und Schleswig-Holstein verfärbten sich etwas später braun als Sämlinge aus den anderen Bundesländern.

An der NW-FVA wurden 2.264 Veredelungen von 101 Roteichen-Genotypen durchgeführt. Der Anwuchserfolg betrug ca. 55 %. Dabei konnten 94 Genotypen mit mehr als sechs Rameten angezogen werden. Der Anwuchserfolg hing vorrangig von der Qualität der Reiser und Unterlagen ab. Qualitativ gute Reiser, die durch einen kräftigen Wuchs und große Endknospen gekennzeichnet waren, wuchsen signifikant besser an als qualitativ schlechte Reiser, welche schwachwüchsig und reich an Kurztriebketten waren. Reiser, die auf Container-Unterlagen mit einem intakten, feinwurzelreichen Wurzelsystem gepfropft wurden, zeigten signifikant höhere Überlebensraten als Reiser, die auf wurzelnackte Unterlagen gepfropft wurden, welche im Vorfeld einem starken Wurzelschnitt unterzogen worden waren.

2024 konnte mit 628 Pfropflingen von 100 Genotypen aus den Bundesländern Hessen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt, Schleswig-Holstein, Brandenburg und Sachsen eine Roteichen-Samenplantage angelegt werden. Von den meisten Genotypen sind 5-7 Rameten auf der Fläche vertreten, nur einzelne Genotypen sind weniger oft vorhanden. Das Design gewährleistet eine schematische, zufällige Verteilung der Genotypen, welche für die spätere Zulassung der Samenplantage unerlässlich ist. Durch die hohe Anzahl an Genotypen sowie deren Verteilung ist mit einer hohen genetischen Vielfalt und damit einhergehend mit einer hohen Anpassungsfähigkeit des Saatgutes gegenüber dem Klimawandel zu rechnen (Paul & Lau, 2022). So kann dem Markt zukünftig hochwertiges Saatgut der Roteiche zur Verfügung gestellt werden.

Die Anlage der NKP konnte aufgrund der um ein Jahr verschobenen Saatguternte und Sämlingsanzucht im Projektzeitraum nicht fertig gestellt werden. Es wurden jedoch alle notwendigen Vorarbeiten (Flächenakquise, Mulchen, Zaunbau, Markierung der Pflanzplätze, Etikettierung der Sämlinge) organisiert bzw. durchgeführt, damit die Pflanzung im Frühjahr 2025 durch das Personal der NW-FVA erfolgen kann.

Die Auswertung des Herkunftsversuchs in Schleswig-Holstein (vgl. AP 15) ergab, dass hinsichtlich der Wuchsleistung (Baumhöhe) die deutschen Herkünfte am besten abschneiden, gefolgt von den kanadischen (insbes. Niagara Point Abino) und schließlich den US-amerikanischen Herkünften. Bei der Stammqualität (Geradschaftigkeit und Wipfelschäftigkeit) zeigen insbes. die deutsche Herkunft Standard Kottenforst, aber auch einige US-amerikanische (z.B. Madison Anderson) und kanadische Herkünfte (z.B. Hastings Carlow) gute Werte. Am schlechtesten schneiden die US-amerikanischen Herkünfte Fannin und Sullivan Elizabethton ab. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Göckede (2010), Liesebach & Schneck (2011) und Kormann et. al (2023)

lässt sich festhalten, dass die US-amerikanischen Herkünfte die schlechtesten Wuchseigenschaften aufweisen. Kanadische Herkünfte sind den US-amerikanischen Herkünften hinsichtlich Produktivität und Qualität überlegen. Die deutschen Herkünfte übertreffen im Wesentlichen die anderen Herkünften.

Literatur

Benoit, D. 2009: Clonal Oak Propagation by Grafting. International Oak Journal No. 20, S. 7-12.

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. 2019: Übersicht über zugelassenes Ausgangsmaterial für forstliches Vermehrungsgut in der Bundesrepublik Deutschland, Stand: 01.07.2022, https://www.ble.de/SharedDocs/Downloads/DE/Wald-Holz/Zugelassenes-Ausgangsmaterial.pdf?__blob=publicationFile&v=3 (abgerufen am 01.10.2024).

Chaloupková, K.; Stejskal, J.; El-Kassaby, Y.A.; Lstibůrek, M. 2016: Optimum neighborhood seed orchard design. Tree Genetics & Genomes, Volume 12(105), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 7 S.

Göckede, J. 2010: Wuchsleistung verschiedener Roteichen-Herkünfte in Nordwest-Deutschland. Masterarbeit, Fak. f. Forstwissenschaften u. Waldökologie Univ. Göttingen, 70 S.

Kormann, J.M.; Liesebach, M.; Liepe, K.J. 2023: Provenances from introduced stands of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.) outperform those from the natural distribution. Forest Ecology and Management 531, Article 120803, 8 S.

Krahl-Urban, J.; Pott, H. 1955: Erfahrungen bei Eichen-und Buchenpfropfungen. Zeitschrift für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Jg. 4, S. 58-64.

Liesebach, M.; Schneck, V. 2011: Entwicklung von amerikanischen und europäischen Herkünften der Roteiche in Deutschland. Forstarchiv 82, Heft 4, S. 125-133.

Paul, M.; Lau, M. 2022: Forstliche Samenplantagen. ImDialog 18(2), S. 10-11.

Steiner, W. 2012: Hochwertiges Vermehrungsgut durch züchterische Verbesserung - Ein Vergleich verschiedener Möglichkeiten am Beispiel der Roteiche (*Quercus rubra* L.). Forstarchiv 83, Heft 2, S. 85-92.

White, T.L.; Adams, W.T.; Neale D.B. 2007: Advanced-generation breeding strategies – Breeding population size, structure and management. Forest genetics. Wallingford UK: CABI, S. 479-522.

Teilvorhaben 6: Phänotypisierung von Plusbäumen der Roteiche mit Biomarkern (LFE)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Übergeordnetes Ziel der Untersuchungen war es, die Vitalität und Klimaangepasstheit von Plusbäumen zu bewerten und für die Anlage von Nachkommenschaftsprüfungen zu selektieren. Neben der Auswahl geeigneter Ernte- und Untersuchungsbestände im Land Brandenburg übernimmt das LFE hierzu die bundesweite Phänotypisierung der Plusbäume auf der Grundlage von biochemischen Blattinhaltsstoffen (Biomarker: Chlorophylle, Carotinoide, lösliche Kohlenhydrate, Stärke, Ascorbat, GABA, Proteine, Aminosäuren, phenolische Komponenten u.a.). Die Phänotypisierung der 314 ausgewählten Plusbäume von 107 Saatguterntebeständen in Deutschland soll die biochemische Diversität und Differenzierung zwischen den Populationen und Einzelbäumen aufzeigen. Dabei werden nicht nur eine Vielzahl von einzelnen Blattinhaltsstoffen verglichen, sondern die Biomarker zu komplexen Biomarkermustern aggregiert. Im Zuge der Probennahme wurden die Plusbäume auch nach äußeren phänotypischen Merkmalen (Kronenverlichtung, Totholzanteil in der Krone, Wasserreiserbildung am Stamm, Blattfraß) bonitiert.

Neben den Untersuchungen der Saatguterntebestände unterstützt das LFE den Trockenstressversuch des Projektpartners Sachsenforst in Graupa. Hier sollen die Nachkommenschaften ausgewählter Plusbäume hinsichtlich ihrer biochemischen Stressantwort ebenfalls mit Biomarkern untersucht werden (AP 16).

Darüber hinaus wird auch in Brandenburg eine Versuchsfläche zur Nachkommenschaftsprüfung angelegt (AP 18).

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 13: Die Auswahl der Plusbäume wurde zusammen mit allen anderen Partnern des Teilverbundes B entschieden. In Brandenburg wurden aus neun Kandidatenbeständen die fünf geeignetsten Saatguterntebestände ausgewählt (Breitefenn, Klosterheide, Schönholz, Schwenow, Potsdam) und 26 Plusbäume nach einheitlicher Aufnahmeanweisung aufgenommen und markiert.

AP 15: Für die anvisierte Saatguternte der Plusbäume wurden regelmäßige Aufnahmen zur Fruktifikation durchgeführt. Aufgrund der geringen Fruchtbildung konnten nur Eicheln für den Trockenstressversuch (PP Sachsenforst) eingesammelt werden.

AP 17: Die logistisch aufwendige Beprobung der vorausgewählten 171 Plusbäume erfolgte jeweils im Juli/August der Jahre 2022 und 2023 im gesamten Bundesgebiet. Die Blattproben wurden biochemische analysiert u.a. mit mulitvariaten statistischen Verfahren ausgewertet.

AP 19: Im Forstbetrieb Lübben (Südostbrandenburg) wurde eine Versuchsfläche zur Nachkommenschaftsprüfung angelegt.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Da der Arbeitsschwerpunkt auf dem AP 17 lag, sollen diese Ergebnisse besonders herausgestellt werden. In den Jahren 2022 und 2023 wurden insgesamt 314 vorausgewählte Plusbäume von 107 Saatguterntebeständen der Roteiche in sieben Bundesländern visuell bonitiert (Kronenverlichtung, Totholzanteil und Wasserreiser in Krone und Stamm, Fraßschäden an Blättern) und biochemische Profile auf der Grundlage von Blattanalysen erstellt.

Trotz der überwiegend herausragenden Wuchsleistung der Plusbäume in der Vergangenheit, wiesen die Kronen in den beiden Aufnahmejahren teilweise erhebliche Blattverluste auf, die häufig auf Fraßereignisse durch Insekten zurückgingen. Im Jahr 2023 waren die Blätter nahezu aller Erntebestände (Ausnahme Brandenburg) durch Insektenfraß stark geschädigt. Der hohe Anteil von Wasserreisern am Stamm der Roteichen in den Bundesländern Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Sachsen, Baden-Württemberg zeigte aber auch, dass sich die Bäume in einer bereits länger anhalten Stressbelastung befanden.

Okulare sichtbare Vitalitätseinbußen spiegelten sich auch in Gehalten stressrelevanter Blattinhaltsstoffe wider. So hatten Roteichen mit abnehmender Vitalität z.B. höhere Prolin- und Kohlenhydratgehalte sowie geringere

Blattgehalte an Stärke- und Chlorophyllen. Gleichfalls deutet sich eine Beziehung zwischen den Gehalten bzw. Konstellationen der phenolischen Inhaltsstoffe und der Befallsintensität für Blattfraßereignisse an.

Die untersuchten biochemischen Blattinhaltsstoffe (Chlorophylle, Carotinoide, lösliche Kohlenhydrate, Stärke, Ascorbat, GABA, Proteine, Aminosäuren, phenolische Komponenten u.a.) und die daraus abgeleiteten biochemischen Profile wurden einzelbaumweise für jedes Untersuchungsjahr bewertet.

Neben den Biomarkermustern bot die Berechnung eines Biochemischen Vitalitätsindex (BVI) eine zusätzliche Möglichkeit für die Phänotypisierung der Plusbäume. Voraussetzung hierfür war die Ableitung von baumartenspezifischen Referenzwerten für jeden Biomarker.

Für die Untersuchungen wurden daher die Referenz- und Übergangsbereiche auf der Grundlage von Mittelwerten und Standardabweichungen der untersuchten Parameter von schadsymptomfreien Blättern der wüchsigsten und vitalsten Roteichen berechnet. Die Baumauswahl wurde dabei besonders streng vorgenommen, da die Schwierigkeit bestand, für die Berechnung „innerer“ Blattwerte Bäume nach äußeren Kriterien zu bewerten. Hierfür kamen nur Roteiche in die engere Auswahl, die aufgrund ihrer besonderen Wüchsigkeit und Vitalität zu den besten Bäumen gehörten (einschließlich von Voruntersuchungen in Brandenburg). Auf Grund der vergleichsweise geringen Stichprobengröße (n=81 Bäume), sind die vorgeschlagenen Referenzwerte als erste Empfehlung zu betrachten und bedürfen einer weiteren Verstetigung in den Folgejahren.

Insbesondere der Trockensommer 2022 (n= 202 Einzelbäume) ermöglichte eine Differenzierung nach Standorten/Bundesländern. So ließen sich alle Plusbäume in vier unterschiedliche physiologische Cluster (Biomarkermuster) unterteilen, die mit unterschiedlicher Häufigkeit im Bundesgebiet auftraten. Den größten Beitrag zur regionalen Differenzierung der Roteichen lieferten die phenolischen Inhaltsstoffe (z.B. Flavonoide, o-di-Hydroxyphenole). Plusbäume mit hohen Gehalten an phenolischen Inhaltsstoffen kamen insbesondere in Baden-Württemberg, Niedersachsen und Sachsen vor, fehlten dagegen (nahezu) in Sachsen-Anhalt und Brandenburg. Plusbäume mit einem besonders günstigen biochemischen Profil (z.B. hohe Pigmentgehalte) waren mit hohen Anteilen in Baden-Württemberg, Niedersachsen und auch in Brandenburg vertreten. Roteichen mit stark stressassoziiertem Biomarkermuster (z.B. hoher GABA-Gehalt) wurden vor allem in Brandenburg und Sachsen gefunden. D.h. in Brandenburg kamen kaum Bäume mit den beiden anderen Biomarkermustern vor, die durch besonders hohe oder geringe Gehalte an phenolischen Inhaltsstoffen geprägt waren; während diese aber in Sachsen, Sachsen-Anhalt und Hessen sehr häufig waren. Plusbäume auf besonders trockenen und nährstoffarmen Grenzstandorten, wie z.B. Klosterheide (Brandenburg) zeigten eine eindeutige physiologische Stresssymptomatik.

Interessanterweise konnte aber auch in dem witterungsbedingt günstigen Sommer 2023 eine Differenzierung der Bäume nachgewiesen werden, die nicht nur auf Grundlage der phenolischen Inhaltsstoffe (s.o.), sondern auch hinsichtlich der Indikatoren für oxidativen Stress (Ascorbat, Carotinoide) möglich war.

Auf der Grundlage der jeweiligen Biomarkermuster, der BVI-Werte und der visuellen Baumbonitur war es möglich, die Bäume hinsichtlich ihrer Vitalität zu bewerten. Danach erwiesen sich 54 Plusbäume als hoch vital, während 45 Plusbäume für die geplante Nachkommenschaftsprüfung weniger geeignet erscheinen.

Teilvorhaben 7: Untersuchung der genetischen Diversität und der physiologischen Reaktion der Roteiche auf Trockenheit (SBS)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Der Aufgabenbereich des Teilvorhabens 7 lag darin, Bestände und Plusbäume nach phänotypischen Merkmalen im Land Sachsen auszuwählen und innerhalb des Projektes zur Verfügung zu stellen. Pfropfreiser und Samen von diesen Bäumen dienten zur weiteren Untersuchung sowie zur Anzucht von Versuchspflanzen beim Projektpartner NW-FVA (TV 5). In Sachsen war auch die Anlage einer Nachkommenschaftsprüfung ein wichtiger Bestandteil des Projekts, da sie die Basis für eine Samenplantage zur späteren Erzeugung von qualifiziertem Vermehrungsgut bildet.

Anhand von in enger Abstimmung mit dem Projektpartner FVA-BW (TV 4) ausgewählten molekulargenetischen Markern waren 16 Roteichen-Bestände und ausgewählte Plusbaumnachkommenschaften aus ganz Deutschland genetisch zu charakterisieren.

Ein weiterer Aufgabenbereich umfasst die Untersuchung phänotypischer Reaktionen auf Trockenheit von kultivierten Nachkommen ausgewählter Plusbäume in einem Gewächshausversuch. Es wurden Parameter zur Trockenstresstoleranz erhoben. Ergänzende Untersuchungen zu Primär- und Sekundärstoffwechsel erfolgten in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern LFE (TV 6) und UGOE-FG (TV 1).

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 12: Bereitstellung und Aufarbeitung von Daten für die Projektpartner, z.B. Bestandes-Daten zur Festlegung von Zuchtzonen

AP 13: Suche und Auswahl von geeigneten Ausgangsbeständen für das Projekt in Sachsen aus Saatguterntebeständen. Erfassung, Aufarbeitung und Weiterleitung der Daten an die Projektpartner. (Tabelle 1)

AP 14: Auswahl von 35 Plusbäumen in den ausgewählten Beständen (AP13) in Sachsen. Aufnahme von Daten zu den Plusbäumen und Bereitstellung der Daten für die Projektpartner. Beprobung der Bäume und Weitergabe der Proben an die FVA-BW

AP 15: Organisation, Ausschreibung und Vergabe der Ernte von Saatgut und Reisern an 35 Plusbäumen in Sachsen. Übergabe von Saatgut und Reisern an den zuständigen Projektpartner.

AP 16: Durchführung molekulargenetischer Untersuchungen, inklusive der Probennahme von 100 Blattproben in 16 Beständen im ganzen Projektgebiet. Genetische Untersuchungen erfolgen im eigenen Labor.

AP 17: Zuarbeit für phänologische Untersuchungen der LFE. Organisation, Planung und Durchführung eines Gewächshausversuches auf Trockenstressresistenz. Dafür Organisation der Ernte und Anzucht der Versuchspflanzen. Genetische Untersuchung von Nachkommenschaften.

AP 18: Anzucht der Versuchspflanzen für das AP17

AP 19: Mitarbeit bei der Planung des Designs der Versuchsflächen. Anlage einer Versuchsfläche in Sachsen.

AP 20: Zuarbeit für die Öffentlichkeitsarbeit im Projekt. Bereitstellung von Material z.B. Bilder und Texte für die Webseite. Besuch von Veranstaltungen im Rahmen des Projektes.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

AP 12: Festlegung von Zuchtzonen

Die Koordinaten und Standortsdaten der Bestände in Sachsen, die potenziell als Ausgangspopulationen infrage kamen, wurden als Grundlage für die Konzeption der Zuchtzonen an die Projektkoordination (FVA-BW) weitergegeben.

AP 13: Festlegung von Ausgangspopulationen

Die Auswahl der Ausgangspopulationen erfolgte von Januar bis März 2022. Aus in Sachsen insgesamt 83 begutachteten Beständen (81 zugelassene Erntebestände und zwei weitere Bestände mit sehr guter Qualität) wurden unter Berücksichtigung der Kriterien unterschiedliche Standortswasserbilanz, phänotypische Qualität,

und verschiedene Pflanzjahre 30 Ausgangspopulationen für die Plusbaumauslese festgelegt (Abbildung A15). Dabei handelt es sich ausschließlich um zugelassene Saatguterntebestände (Stand 2021). Es wurden Daten der Ausgangspopulationen aufgenommen und allen Projektpartnern zur Verfügung gestellt.

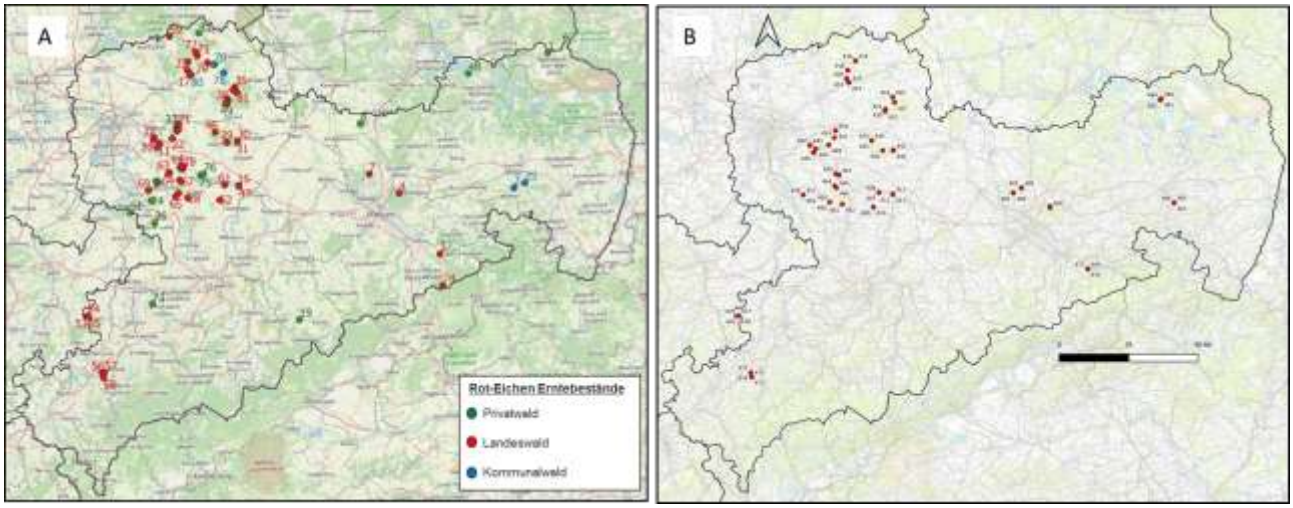


Abbildung A15: Verteilung der insgesamt vorhandenen 83 Roteichen-Erntebestände (A) in Sachsen und Auswahl von 74 geeigneten Plus-bäumen und Plusbaumkandidaten (B)

AP 14: Massenauslese (Plusbaumauslese)

Die Plusbaumauslese in Sachsen wurde planmäßig von Januar bis März 2022 zusammen mit der Festlegung der Ausgangspopulationen durchgeführt. Dabei wurden 74 Plusbäume und Plusbaumkandidaten ausgewählt (Abbildung A15). Von allen ausgewählten Roteichen wurden im Mai/Juni 2022 Blattproben für genetische Untersuchungen genommen und an die FVA-BW übergeben (AP16). Weiterhin wurden, mit Ausnahme weniger Kandidaten, die Plusbäume in die biochemischen Untersuchungen des LFE mit einbezogen (AP17), wofür die Probenahme anteilig in den Sommern 2022 und 2023 stattfand und vom SBS unterstützt wurde. Aus den Kandidaten wurden 2023 35 Plusbäume aus 16 Ausgangspopulationen ausgewählt, die durch Pfropfung an der NW-FVA gesichert wurden (AP15). Diese Bäume waren vorrangig zur Saatgutgewinnung für die geplante Nachkommenschaftsprüfung vorgesehen. Alle erhobenen Daten der Plusbäume wurden dokumentiert und stehen den Projektpartnern zur Verfügung.

AP 15: Ernte von Absaaten und Reisern der Plusbäume

Die Reiserernte der ausgewählten 35 Plusbäume in Sachsen ist planmäßig im Januar 2023 durchgeführt worden und die Reiser wurden vom Projektpartner NW-FVA abgeholt.

Aufgrund geringen Samenbehanges konnte die Ernte von Plusbaum-Nachkommenschaften 2022 nicht wie geplant erfolgen. Für den Austrocknungsversuch wurden dennoch von 40 Plusbäumen aus dem gesamten Untersuchungsgebiet des Verbundprojektes in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern eine erforderliche geringere Saatgutmenge geerntet.

Im TV7 wurde eine Methode erarbeitet, mit der die Vermischung der Plusbaum-Nachkommenschaft mit Saatgut benachbarter Bäume bei der Ernte weitgehend vermieden werden kann. Nachdem bei genetischen Analysen von drei Saatgutpartien der Nachweis erfolgte, dass phänotypisch inhomogenes Saatgut ein sicheres Zeichen dafür ist, dass es von mehreren Bäumen stammt (siehe AP16), wurde immer zuerst eine Referenzprobe direkt vom Plusbaum gewonnen, bevor die Bodensammlung begann. Dazu wurde mit einer Stangenschleuder ein dünnes Wurfseil in die Krone geschossen, die Zweige geschüttelt und die herunterfallenden Eicheln auf einer am Boden ausgebreiteten Plane aufgefangen. Entsprechend der dabei ermittelten, für den jeweiligen Plusbaum charakteristischen Größe, Form und Farbe der Eicheln konnten auch bereits am Boden liegende Eicheln relativ sicher zugeordnet werden.

Die Ernte für die Nachkommenschaftsprüfung fand 2023 statt, wobei auch dann nicht von allen Plusbäumen eine ausreichende Menge von 8 kg Saatgut je Plusbaum geerntet werden konnte. Deshalb wurden auch einige Plusbaum-Kandidaten beerntet. Die Arbeiten wurden an einen externen Dienstleister vergeben und vor Ort von Projektmitarbeitern des SBS begleitet. Von 22 Plusbäumen und 17 Plusbaum-Kandidaten wurden insgesamt 137 kg Saatgut gewonnen und nach Hann. Münden zum Projektpartner NW-FVA zur Anzucht verbracht.

AP 16: Molekulargenetische Untersuchung

Für die Charakterisierung der genetischen Diversität von Roteichen-Beständen in Deutschland wurden in Abstimmung mit den Projektpartnern 16 Ausgangspopulationen im ganzen Projektgebiet ausgewählt (Abbildung A16). Die Beprobungen konnten im Juni 2023 abgeschlossen werden. Durch einen beauftragten Dienstleister wurden, begleitet durch Projektmitarbeiter des SBS, Blattproben von 100 Altbäumen pro Bestand gewonnen.

Des Weiteren wurden von dem im Jahr 2022 geernteten Saatgut drei Partien mit je 48 Eicheln beprobt, die durch Inhomogenität der Eichelform und -farbe aufgefallen waren (siehe AP15). Mithilfe genetischer Analyse wurde die Abstammung der Samen von den Plusbäumen überprüft, um Maßnahmen zur Verbesserung der Saatgutgewinnung für die Nachkommenschaftsprüfung (AP19) abzuleiten.

Nach Anzucht der 40 Plusbaum-Nachkommenschaften für den Trockenstressversuch (AP17) wurden im Jahr 2023 je Nachkommenschaft 25 Individuen genetisch analysiert, um hier ebenfalls die Abstammung vom jeweiligen Plusbaum zu prüfen und die genetische Variation der Nachkommenschaften zu beschreiben.

Insgesamt wurden im TV7 2600 Individuen mit 5 Chloroplasten-Mikrosatelliten-Markern (cpSSR) und 15 Kern-Mikrosatelliten-Markern (nSSR), deren Auswahl in Abstimmung mit dem Projektpartner FVA-BW erfolgte, genetisch untersucht und bewertet. Die Ergebnisse sind im gemeinsamen Abschlussbericht (AP16) dargestellt.

ID	Bundesland	Forstamt	Revier	Alter	Fläche (ha)
HE46	Hessen	Lampertheim	Jägersburg	41	2,7
HE26	Hessen	FA Darmstadt	Bessunger Forst	111	5,3
HE27	Hessen	FA Darmstadt	Bessunger Forst	111	5,3
NI08	Niedersachsen	Neuhaus	Rottmünde	118	3
NI27	Niedersachsen	Wolfenbüttel	Groß Dahlum	70	1,6
NI40	Niedersachsen	Wolfenbüttel	Bahrdorf	60	4,8
SH06	Schleswig - Holstein	Kontrollstelle für forstliches Saatgut	Försterei Drage	67 (59 J. FE)	5,3
ST19	Sachsen- Anhalt	Anhalt	Glücksburg	50	0,6
ST08	Sachsen- Anhalt	Anhalt	Revier Grenzhaus	keine Angabe (44 J. FE)	1,5
SN03	Sachsen	Neustadt	Königsstein	105	2,7
SN17	Sachsen	Taura	Schöneiche	84	14,5
SN74	Sachsen	Neustadt	Ottomühle	33	4,2
BB01	Brandenburg	Belzig	Klosterheide	64	1,96
BB04	Brandenburg	Hammer	Schwenow	60	2,72
BB09	Brandenburg	Chorin	Schönholz	143	1,03
BW01	Baden-Württemberg	Rastatt	Rastatt	55-70	8,8
BW02	Baden-Württemberg	Karlsruhe	Kreuzelberg S6	68-83	9,64

Abbildung A16: Lage und Beschreibung der zur genetischen Charakterisierung ausgewählten Bestände.

AP 17: Phänotypisierung der Plusbäume

Die Ernte von Blättern für Biomarker-Untersuchungen an den sächsischen Plusbäumen und Plusbaum-Kandidaten durch den Projektpartner LFE wurde vom SBS vorbereitet (Bereitstellung von Kartenmaterial, Information der beteiligten Revierleiter und Forstbezirke) und größtenteils begleitet.

Für den Projektpartner Georg-August-Universität Göttingen des TV A wurden von den 40 für den Trockenstressversuch angezogenen Plusbaum-Nachkommenschaften Blattproben von je 25 Nachkommen vor Beginn und weitere 56 Proben von 15 Nachkommenschaften nach Ende des Versuches zur Verfügung gestellt.

Die wesentliche Aufgabe des TV7 im AP17 bestand in der Untersuchung der phänotypischen Reaktionen der Plusbaum-Nachkommenschaften auf Trockenheit in Gefäßversuchen unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus. Um dafür ein Konzept zu erarbeiten und geeignete Methoden und Bedingungen zu ermitteln, wurde im Sommer 2023 zunächst ein Vorversuch durchgeführt.

Die Untersuchung der Nachkommenschaften auf ihre Wasserdefizit-Reaktion im Gewächshaus wurde im Jahr 2024 im Rahmen eines Austrocknungsversuches mit insgesamt 960 Pflanzen durchgeführt. Konzept, Durchführung und Ergebnisse sind im gemeinsamen Abschlussbericht (AP17) beschrieben.

Innerhalb des Versuches erfolgten Messungen und die Entnahme von Blattproben für biochemische Analysen durch den Projektpartner LFE, die im Ergebnis zu Biomarkermustern zusammengefasst wurden.

Zusätzlich wurde das Institut für Bergbaufolgelandschaften (FIB) vom SBS beauftragt, mithilfe pflanzenphysiologischer Untersuchungen das angewandte Methodenset zu erweitern und stresssensitive bzw. stresstolerante Nachkommenschaften zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurden an sieben Messterminen im Zeitraum vom 26.06.24 bis zum 13.08.24 sowohl Chlorophyll-a-Fluoreszenz- als auch Dualex®-Untersuchungen an insgesamt 400 Roteichen-Sämlingen (REI) von 20 unterschiedlichen Plusbaum-Nachkommenschaften (PBNK) sowie 20 Flaum-Eichen-Sämlingen (FEI) durchgeführt.

Das Institut für Forstbotanik und Forstzoologie der Technischen Universität Dresden führte innerhalb einer Bachelor-Arbeit (Göhler 2025) Untersuchungen an zehn Nachkommenschaften auf physiologische und morphologische Blattmerkmale durch. Unter anderem wurde die Stomatadichte, die Assimilation und die Wassernutzungseffizienz bewertet. Es wurden Korrelationen zwischen den untersuchten Merkmalen berechnet, um mögliche Zusammenhänge zwischen Trockentoleranz und der Pflanzenaktivität zu finden. Diese Arbeit ersetzt die Erfassung der strukturellen Parameter an Pflanzenteilen mit dem XYL'EM-Messgerät im Labor des SBS, da die gewonnenen Ergebnisse zum Vergleich von wissenschaftlichen Studien besser geeignet sind. Eine weitere Bachelor-Arbeit (Gorges 2025) befasste sich mit unterschiedlichen Reaktionen von Nachkommen auf begrenzte Wasserverfügbarkeit (volumetrischer Bodenwassergehalt (Theta) von 10 %) im Vergleich zu den beiden Varianten Austrocknung und Kontrolle. Eine dritte Bachelor-Arbeit (Bojilov 2025) erfasste Messwerte der Blatttemperaturen innerhalb des Austrocknungsversuches mithilfe einer Drohne mit Thermalkamera, um die Möglichkeiten der rationelleren oder früheren Erkennung von Stressreaktionen mit Hilfe der Technik auszuloten.

Um die Nachkommenschaften möglichst umfänglich zu charakterisieren, wurde innerhalb des Projektes je ein Datenblatt erstellt, welches alle aufgenommenen Daten (Bestandesdaten und Vitalität des Mutterbaumes, Wachstumsparameter, phänologische Aufnahmen und genetische Analysen) umfasst. Dies dient als Grundlage, die Nachkommenschaften und deren Reaktion auf Wasserdefizit zu bewerten.

Um den Versuch abzuschließen, wurden alle Versuchspflanzen, die nach Ende der Austrocknungsphase nicht schlechter als Boniturstufe 3 bewertet wurden, sowie diejenigen, welche vom Projektpartner LFE physiologisch untersucht worden sind, im Schattenzelt überwintert. Im Frühjahr 2025 fand eine Austriebsbonitur an diesen Pflanzen statt, um das Verhalten nach Trockenheit abschließend bewerten zu können.

AP18: Anzucht der Versuchspflanzen für das AP17.

Die für den Trockenstressversuch geernteten Plusbaum-Nachkommenschaften sollten laut Antrag eigentlich zusammen mit dem Saatgut für die Nachkommenschaftsprüfung bei den Projektpartnern FVA-BW und NW-FVA ausgesät und angezogen werden. Aufgrund der zeitlichen Trennung, die durch das geringe Samenangebot 2022 erforderlich wurde, war dieser Plan nicht sinnvoll umsetzbar. Zur Vermeidung zusätzlichen Transportaufwandes und unnötigen Stresses für die Versuchspflanzen wurde einvernehmlich mit den Projektpartnern abgestimmt, dass das Pflanzenmaterial für den Trockenstressversuch im AP 17 im SBS angezogen wird.

Von den 40 Plusbaum-Nachkommenschaften wurden je 96 Eicheln in Quickpot-Baumschulplatten (Herku-Plast, Vertrieb Hermann Meyer GmbH) gesteckt und im Folienzelt bis Mai 2023 angezogen. Danach wurden die Pflanzen im Freiland, in der Vegetationsperiode zeitweise unter Schattiergewebe, weiter kultiviert. Im August 2023 wurden alle Nachkommenschaften in Rosentöpfe (2,0 L, Soparco, Vertrieb Hermann Meyer GmbH) in Anzuchtsubstrat umgetopft (Gramoflour Pikier+TonL, Gramoflor GmbH & Co. KG). Da im Trockenstressversuch eine Mindestanzahl von 30 Pflanzen je Plusbaum-Nachkommenschaft trotz praxisüblicher Ausfälle zur Verfügung stehen musste, lag das Ziel in der Anzucht von mindestens 50-70 Pflanzen.

Die während der Anzucht durchgeführten Bonituren sind im gemeinsamen Abschlussbericht beschrieben.

AP19: Mitarbeit bei der Planung des Designs der Versuchsflächen. Anlage einer Versuchsfläche in Sachsen.

An den Absprachen über ein von FVA-BW und NW-FVA vorgestelltes Konzept für das Design der Versuchsflächen nahm der SBS teil. Für die Versuchsanlage in Sachsen wurde eine geeignete Fläche in Belgershain (Forstbezirk Leipzig, Revier Leipzig-Süd, Abt. 355 NHB, Oberholz) gefunden. Es handelt sich um eine Ackerfläche von 2 ha mit mäßig guter Nährstoffversorgung, die von drei Seiten von Wald umgeben ist. Die Versuchsfläche wurde im Herbst 2024 umzäunt und im Januar 2025 für die Pflanzung vorbereitet. Die Pflanzung

erfolgte im April 2025 nach Projektabschluss, da die Pflanzen dann erst zur Verfügung standen, entsprechend dem mit den Projektpartnern abgestimmten Versuchsdesign (siehe gemeinsamer Abschlussbericht).

Das experimentelle Design wurde von Dr. Katharina Liepe (Thünen Institut) mit dem Programm CycDesigN 4.0 entwickelt. Es umfasst 130 Prüfglieder, die als Einzelbaumparzellen mit 24 Wiederholungen gepflanzt werden. Die rechteckigen Parzellen sind im Verband 2 x 2 m mit jeweils 10 x 13 Pflanzen angelegt. Die Versuchsanlage setzte eine sehr genaue und aufwendige Sortierung und Etikettierung der einzelnen Pflanzen voraus, um die korrekte, platztreue Pflanzung jedes Prüfgliedes innerhalb der Blöcke zu gewährleisten (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

Abbildung A17: Vorbereitung und Pflanzung der Versuchsfläche aus dem Projekt RubraSelect.

AP20: Zuarbeit für die Öffentlichkeitsarbeit im Projekt. Bereitstellung von Material z.B. Bilder und Texte für die Webseite. Besuch von Veranstaltungen im Rahmen des Projektes.

Intranet SBS:

RubraSelect: „Auslese und Charakterisierung von hochwertigem Vermehrungsgut bei Roteiche (*Quercus rubra* L.) unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz“

Poster:

Brückner, M.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Erbacher, J.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kleinschmit, J.; Löffler, S.; Neophytou, C.; Riedel, D.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Meyer, M.; Wolf H. 2023: **Genetische Analysen von ausgewählten Roteichen-Beständen und Plusbaumnachkommenschaften im Rahmen des Projektes RubraSelect zur Bewertung der genetischen Variation und deren Ursprungsregion,** Forstwissenschaftliche Tagung, 11.-13.09.2023, Dresden

Riedel, D.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Brückner, M.; Erbacher, J.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kleinschmit, J.; Lamprecht, N.; Löffler S.; Neophytou, C.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Meyer, M.; Wolf, H. 2023: **Trockenstressexperiment an Rot-Eichen-Nachkommenschaften** (*Quercus rubra* L.) **im Rahmen des Projektes RubraSelect,** Workshop Gehölzphysiologie in Deutschland 2023 – Forschungsschwerpunkte und Perspektive, 13.-14.06.2023, Gotha

Vortrag

Brückner, M.; Ardao Rivera, E.; Becker, F.; Bilela-Eckert, S.; Braun, A.; Erbacher, J.; Hofmann, M.; Kätzel, R.; Kleinschmit, J.; Löffler, S.; Neophytou, C.; Riedel, D.; Steiner, W.; Töppe, M.; Tröber, U.; Watermeier, M.; Wenzel, J.; Meyer, M 2024: **Phänologische Bonitur von Plusbaum-Nachkommenschaften der Rot-Eiche aus sieben Bundesländern über die Vegetationsperiode 2024 - Ist eine Bewertung des gewonnenen Saatgutes zur temporären Anpassung an den Standort des Mutterbaumes möglich?** 8. Sektionstagung „Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung“ 11.-13.09.2024, Freiburg

Brückner, M.; Neophytou, C.; Jansen, S.; Lee, F.; Bilela-Eckert, S.; Tröber, U. 2024: **Untersuchung der Herkunft und genetischen Vielfalt der Roteiche (*Quercus rubra* L.) als Grundlage für zukünftige Züchtung.**

Roteiche: Baum des Jahres 2025 - auch Baum mit Zukunft? FNR Thementag, 17.12.2024 https://veranstaltungen.fnr.de/wald-seminare/rueckblick/2024

Brückner, M.; Lassig, F.; Tröber, U.; Meyer, M. 2025: **Evaluierung des Austrocknungsversuches von Rot-Eichen-Nachkommenschaften innerhalb des Projektes RubraSelect,** Workshop Gehölzphysiologie 17.-18.06.2025, Gotha

Tröber, U.; Brückner, M.; Meyer, M.; Kätzel, R.; Neophytou, C. 2025: **Výber a charakterizácia kvalitného reprodukčného materiálu duba červeného (*Quercus rubra* L.) v Nemecku s ohľadom na odolnosť voči stresu zo sucha [Auslese und Charakterisierung von hochwertigem Vermehrungsgut bei Roteiche (*Quercus rubra* L.) in Deutschland unter Berücksichtigung der Trockenstresstoleranz],** Lesné semenárstvo, škôlkarstvo a pestovanie lesa 2025 [Forstliches Saatgut- und Baumschulwesen und Waldbau 2025] 18.-19.06.2025, Liptovský Ján, Slowakische Republik

Publikation:

Brückner, M.; Meyer, M.; Tröber, U.; Lassig, F. 2025: ***Phänologische und physiologische Bonitur von Plusbaum-Nachkommenschaften der Rot-Eiche in der Sämlingsphase****.* Liesebach, M.; Tröber, U. (eds): Wald der Zukunft - Beitrag von Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Tagungsband, Thünen Report 119, S. 181-193, DOI:10.3220/253-2025-23

Tröber, U.; Brückner, M.; Meyer, M.; Kätzel, R.; Neophytou, C. 2025: ***Výber a charakterizácia kvalitného reprodukčného materiálu duba červeného (Quercus rubra L.) v Nemecku s ohľadom na odolnosť voči stresu zo sucha*****.** Bednárová, D., Sušková M. (eds): Lesné semenárstvo, škôlkarstvo a pestovanie lesa, Tagungsband, S. 105-113, http://www.skolkari.eu/archiv/zbornik2025.pdf

Bachelorarbeiten:

Bojilov, K. 2025: „Untersuchung der physiologischen Unterschiede zwischen Plusbaum-Absaaten der Rot-Eiche (*Quercus rubra L.*) und Flaum-Eiche (*Quercus pubescens WILLD.*) in einem Trockenstressversuch unter der Verwendung von Thermalphotographie mittels UAS-Befliegung“. TU Dresden

Gorges, F. 2025: „Wasserdefizitreaktion junger Rot-Eichen (*Quercus rubra* L.) verschiedener Nachkommenschaften – Versuchsvariante bei volumetrischem Bodenwassergehalt (Theta) von 10 %“. TU Dresden

Göhler, F. 2024: „Comparison of physiological and morphological trait differences among *Quercus rubra* provenances“. TU Dresden

Sonstiges

Lange Nacht der Wissenschaften Dresden 2022, 2024, 2025: Projektpräsentation für die interessierte Öffentlichkeit

14. Wermsdorfer Regionaltagung für private und kommunale Waldbesitzer am 21. März 2025 in Wermsdorf: Exkursionspunkt mit Projektpräsentation, Exkursionsführer