



Blätter einer Traubeneiche auf der Hochwacht bei Berg am Irchel (ZH). Heimische Eichenarten sind anhand von Blattmerkmalen oft schwierig zu bestimmen.

Christian Rellstab

# Genetische Fingerabdrücke zur Bestimmung von Eichenarten

**Oliver Reutimann, Felix Gugerli, Christian Rellstab\*** | Wenn die Artbestimmung im Wald unsicher ist, können genetische Methoden Licht ins Dunkel bringen. Genetische Fingerabdrücke helfen nicht nur bei der Artzuteilung einzelner Bäume, sondern bieten auch Einblicke in die zwischenartliche Durchmischung und die genetische Vielfalt.

Gemäss schweizerischem Landesforstinventar liegt der Vorratsanteil der heimischen Eichen bei 1,9% der gesamten Waldfläche der Schweiz (Abegg et al. 2014). Dieser Anteil lässt sich weiter aufteilen in Traubeneiche (*Quercus petraea*, 53%), Stieleiche (*Q. robur*, 42%) und Flaumeiche (*Q. pubescens*, 5%). Die grossräumigen geografischen Verbreitungen der Eichenarten überschneiden sich weitgehend, allerdings haben die Arten kleinräumig verschiedene Standortansprü-

che. Trotz des relativ geringen Anteiles an der gesamtschweizerischen Waldfläche sind hierzulande vor allem die Trauben- und die Stieleiche wegen ihres hochwertigen Holzes von forstwirtschaftlicher Bedeutung. Die meist etwas klein- und krummwüchsige Flaumeiche hingegen wurde bis vor ca. 100 Jahren vor allem als Lieferant für Brennholz genutzt.

Aus ökologischer Sicht sind Eichen ebenfalls interessant. Ihnen wird eine wichtige Rolle im Waldökosystem zugeschrieben, da sie vielen Tierarten wie Insekten und Vögeln eine Lebensgrundlage bieten.

Zudem zeigen Trauben- und Flaumeiche eine gewisse Trockenheitsresistenz. Vor allem die Traubeneiche dürfte daher im

## In Kürze

Unsere Untersuchungen an den drei häufigsten Eichenarten der Schweiz demonstrieren, dass sich die Stieleiche wenig mit den beiden anderen Arten (Trauben- und Flaumeiche) mischt, dass es sowohl reine wie auch stark durchmischte Trauben- und Flaumeichenbestände gibt, und dass sich die Schweizer Flaumeichen genetisch kaum von südeuropäischen Artgenossen unterscheiden. Die Ergebnisse unserer Studie zeigen auch, wie vielfältig heimische Eichenbestände sein können. Gleichzeitig bietet sie ein Werkzeug, das z. B. zur Überprüfung der Artzugehörigkeit von forstlichem Vermehrungsgut eingesetzt werden kann.

\*Dr. Felix Gugerli, stellv. Leiter der Forschungsgruppe Ökologische Genetik an der Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL, Dr. Christian Rellstab, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Forschungsgruppe, Oliver Reutimann, wissenschaftlicher Assistent.

Hinblick auf den Klimawandel waldbaulich interessant sein.

Eichen sind auch bekannt für ihre Fähigkeit, sich untereinander mit nah verwandten Arten zu kreuzen (Abb. 1). Diese Eigenschaft macht die Eiche zu einem idealen Studienobjekt, um evolutionäre Mechanismen der Artbildung zu untersuchen.

**Übergangsformen erschweren Bestimmung**

Um die verschiedenen Eigenschaften der drei genannten Eichenarten genauer zu erforschen und Entscheide in Bezug auf die waldbauliche Förderung einzelner Baumarten zu stützen, müssen Eichen zuverlässig bestimmt werden können. Anhaltende Hybridisierung (siehe Glossar, Seite 23) und unklare Artabgrenzung (schwache genetische Differenzierung und Überlappung morphologischer Merkmale) erschweren jedoch die Artbestimmung im Wald, vor allem wenn keine Früchte vorhanden sind und man sich daher auf Blattmerkmale abstützen muss.

Speziell zwischen Trauben- und Flaumeiche gibt es viele Übergangsformen, die sich blattmorphologisch nicht eindeutig einer Art zuordnen lassen. Von der Abstammung her stehen sich die zwei Arten näher als zur Stieleiche, was sich auch in der genetischen

**ZIELE UND METHODE**

Wir haben ein Set von 58 SNP-Markern [siehe Glossar, Seite 23] entwickelt, um die drei Eichenarten möglichst zuverlässig zu bestimmen und das Mass an Durchmischung von einzelnen Bäumen und ganzen Beständen einzuschätzen [Reutimann et al. 2020].

Zudem gingen wir der Frage nach, wie rein Flaumeichen in der Schweiz sind, da es in der Literatur Hinweise gibt, dass Flaumeichen nördlich der Alpen eigentlich eine Mischform zwischen der Traubeneiche und der Flaumeiche sind [Müller 1999]. Als Referenz für die Arzteilung griffen wir auf eine publizierte Studie zurück, in der schweizweit Bestände von Eichenarten mit einer geringen Anzahl genetischer Marker, wie bei einem klassischen genetischen Fingerabdruck, in Kombination mit Blattmorphologie bestimmt wurden [Rellstab et al. 2016].

Reine Bäume aus dieser Studie, ergänzt durch europäische Referenzbäume, dienten als Grundlage für die Entwicklung der neuen Marker und die anschließende Arzteilung von insgesamt 827 Bäumen in über 30 Schweizer Eichenbeständen [Abb. 2, Seite 24].

Bei der Auswahl der beprobten Bestände legten wir das Augenmerk auf potenziell gemischte Bestände und durchmischte Bäume, um den Grad an Hybridisierung und Durchmischung einschätzen zu können. Die Bestände wurden unter anderem beruhend auf Informationen von Gemeinden, Forstkreisen und der oben genannten Studie [Rellstab et al. 2016] ausgewählt.

und in der morphologischen Differenzierung widerspiegelt (Rellstab et al. 2016).

Es gibt Hinweise darauf, dass die drei Arten während der letzten Eiszeit lange

getrennt waren, sich aber in der nacheiszeitlichen Erwärmungs- und Wiederbesiedlungsphase bis heute intensiv genetisch ausgetauscht haben (Leroy et al. 2017). Dies verhinderte eine vollständige (genetische) Trennung der Arten (Abb. 1). Artspezifische natürliche Auslese (Selektion) und Unterschiede in Blütezeiten (reproduktive Isolation) wirkten dabei aber der vollständigen Durchmischung durch Genfluss (siehe Glossar) entgegen.

**Zuordnung anhand «genetischer Marker»**

Je stärker und je länger Arten getrennt waren, desto ausgeprägter ist deren genetische Differenzierung. Genetische Marker (siehe Glossar) können daher helfen, Bäume einer Art zuzuordnen. Stellen im Erbgut (Genom), die sich zwischen den Arten komplett unterscheiden, sind jedoch bei sich kreuzenden Arten wie den Eichen in der Regel kaum zu finden. Deshalb nutzt man eine Kombination von mehreren Markern, um Arten auseinanderzuhalten. So kann für jeden Baum ein sogenannter genetischer Fingerabdruck (siehe Glossar) erstellt werden, der mit Referenzbäumen verglichen werden kann. Die genetischen Fingerabdrücke von Bäumen der gleichen Art sind sich dabei untereinander ähnlicher als diejenigen von Bäumen verschiedener Arten. Zusätzlich können diese Marker verwendet werden, um den genetischen Durchmischungsgrad eines Baums zu untersuchen. Im einfachsten Fall findet man von beiden Elternarten

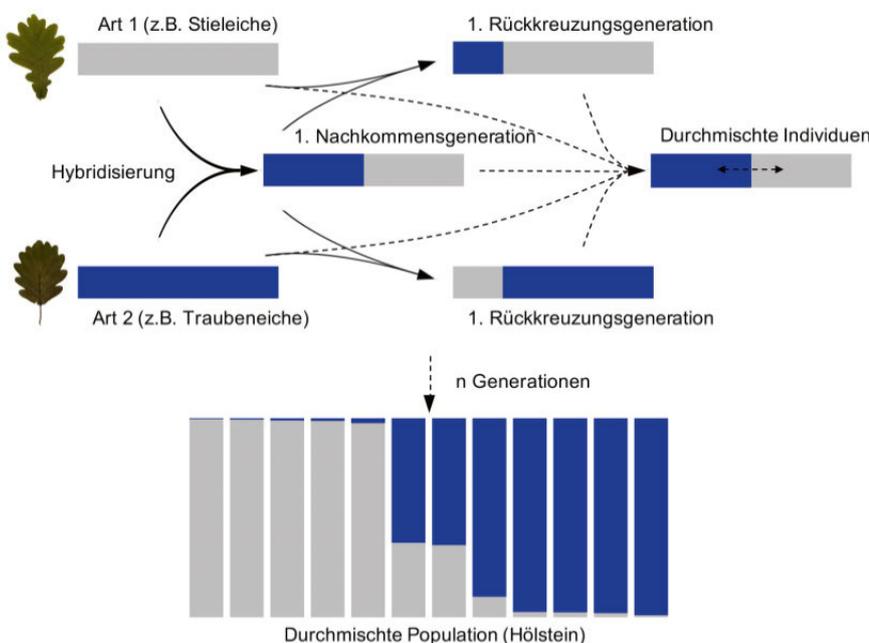
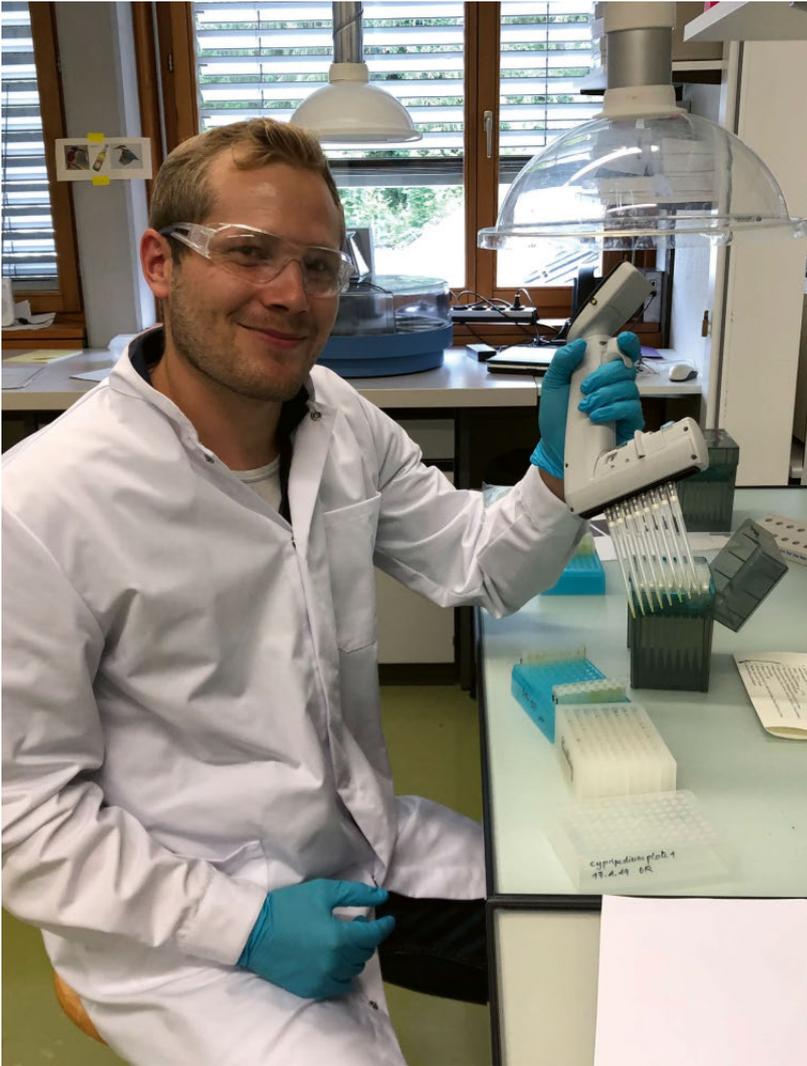


Abbildung 1: Folgen von Hybridisierung und Rückkreuzung zwischen zwei Arten auf ihre aktuell erfassten genetischen Muster der Durchmischung (oberer Teil). Jeder Balken entspricht einem Baum, und die Farben der Balken widerspiegeln die durchschnittlich zu erwartenden genetischen Anteile beider Arten. Natürliche Durchmischungsmuster, wie man sie in Eichenbeständen finden kann, sind dargestellt anhand einiger untersuchter Eichen in Hölstein (BL) (unterer Teil).

WSL



Oliver Reutimann extrahiert DNA aus Eichenblättern.

Christian Reilstab



Sabine Brodbeck

## GLOSSAR

### Genetische Marker

Genetische Marker sind eindeutig identifizierbare, meist variable Stellen auf der DNS (Desoxyribonukleinsäure, Träger der Erbinformation). Es gibt verschiedene Arten von Markern mit unterschiedlichen Eigenschaften bezüglich Grösse [Länge der Gensequenz], Ort im Genom, Vererbungsweise und Mutationsrate. Durch die Charakterisierung von genetischen Markern können Individuen [siehe auch «Genetischer Fingerabdruck»], Populationen (Bestände) und Arten genetisch untersucht und damit z. B. artgeschichtliche und evolutionäre Prozesse rekonstruiert werden.

### Hybridisierung

Die sexuelle Fortpflanzung zwischen zwei Individuen unterschiedlicher Gattung, Art oder Unterart bezeichnet man als Hybridisierung. Im Normalfall enthalten die Genome der aus Hybridisierung hervorgehenden Nachkommen (Hybride) der ersten Generation die gleichen, hälftigen Anteile an genetischem Material beider Elternteile (Abb. 1).

### Genetischer Fingerabdruck

Kombiniert man mehrere variable genetische Marker, so lässt sich ein individuelles genetisches Profil erstellen. Solche Profile bezeichnet man auch als genetische Fingerabdrücke. Sie werden unter anderem bei Vaterschaftstests und in der Kriminalistik verwendet.

### Rückkreuzung

Wenn Hybride oder Nachkommen von Hybriden sich mit reinen Eltern kreuzen, nennt man dies Rückkreuzung. Dadurch können z. B. anpassungsrelevante Genvarianten von der einen in die andere Art übertragen werden und so zur genetischen Anpassung der Elternart beitragen.

### Genetische Durchmischung

Wiederholte Hybridisierung und Rückkreuzung führen zur genetischen Durchmischung zweier genetisch unterschiedlichen Gruppen. Ohne natürliche Auslese [Selektion] variieren die genetischen Anteile der beiden Eltern zufällig und es entsteht

ein fließender Übergang an unterschiedlicher Durchmischung.

### SNP

Als Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) bezeichnet man die Variation eines einzelnen Basenpaars auf der DNS. Diese variablen Stellen im Genom werden als genetische Marker genutzt, da sie sich zwischen Individuen unterscheiden können.

### Genfluss

Als Genfluss bezeichnet man den Austausch von genetischem Material zwischen oder innerhalb von Populationen oder Arten. Bei Bäumen kann dies via Samen [Ausbreitung, Wanderung] oder Pollen [Bestäubung] geschehen. Sind verschiedene Populationen einer Art voneinander isoliert, findet kein Genfluss mehr statt und es können sich daraus langfristig unterschiedliche Arten bilden.

gleich viel genetisches Material. Dann kann es sich um eine Hybridisierung der ersten Generation handeln (Abb. 1).

**Präzise Bestimmung möglich**

Die von uns entwickelten genetischen Marker konnten eindeutig zwischen den als artrein bekannten Bäumen der drei Eichenarten unterscheiden. Referenzbäume (Methode, siehe Kasten Seite 22) wurden in der Analyse korrekt in drei genetische Gruppen eingeteilt, welche die drei Arten widerspiegeln.

Die Schweizer Referenzbäume zeigten dabei eine grosse genetische Ähnlichkeit mit den europäischen Referenzbäumen der jeweiligen Art. Diese Ähnlichkeit deutet darauf hin, dass Eichen in der Schweiz auch in reiner Form vorkommen und sich wenig von anderen europäischen Herkünften differenziert haben. Dies gilt insbesondere auch für die Flaumeichen, auch wenn diese in der Schweiz etwas mehr durchmischt zu sein scheinen als ihre südeuropäischen Artgenossen. Mehrheitlich reine Flaumeichenbestände fanden wir im Wallis und im Tessin sowie auch nördlich der Alpen in Villigen (AG), Egerkingen (SO) und Osterfingen (SH). Trotz hohem Anteil an Kreuzung und Rückkreuzung (siehe Glossar, Seite 23 und Abb. 1, Seite 22) scheint es den Eichenarten zu gelingen, ihre Artintegrität beizubehalten. Einerseits führt andauernder

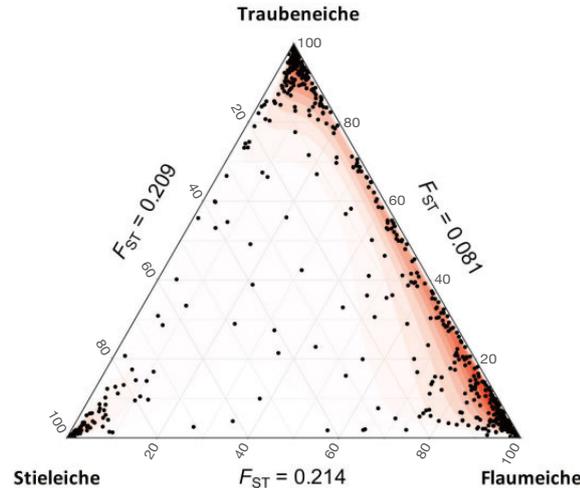


Abbildung 2: Individuelle Artzuordnungswahrscheinlichkeiten von 827 beprobten Eichen. Jeder schwarze Punkt steht für einen untersuchten Baum, und die Achsen zeigen die Wahrscheinlichkeit (in Prozent), einer der drei Arten zugehören.  $F_{ST}$  dient als Mass der genetischen Unterschiede zwischen den Arten und bewegt sich zwischen 0 (genetisch identisch) und 1 (genetisch völlig verschieden). WSL

genetischer Austausch zwischen europäischen Beständen der gleichen Art zu einer schwachen innerartlichen Differenzierung, andererseits gibt es einen natürlichen Selektionsdruck, der auf die einzelnen Arten in ihrem Verbreitungsgebiet wirkt. Ein Zusammenspiel beider Prozesse könnte zur Arterhaltung beitragen.

**Unterschiedliche genetische Durchmischung**

In den von uns untersuchten Beständen fanden wir nebst Individuen mit reinem Erbgut bei allen drei Arten auch einen hohen Grad an genetischer Durchmischung (siehe Glos-

sar), v. a. zwischen Trauben- und Flaumeiche. Deren Durchmischung war jedoch je nach Bestand unterschiedlich ausgeprägt.

Unter anderem wollten wir in drei Beständen der Region Domat/Ems herausfinden, ob es Flaumeichen in diesem Gebiet gibt, und falls ja, ob sie in reiner Form vorkommen. Die Ergebnisse zeigten, dass es reine Flaumeichen gibt, aber gleichzeitig fanden wir eine hohe genetische Durchmischung mit der in diesem Gebiet weit verbreiteten Traubeneiche (Abb. 3). Auch die Stieleiche war bei wenigen Bäumen mit einem geringen genetischen Anteil vertreten.

Genetische Durchmischung mit der Traubeneiche durch Hybridisierung und Rückkreuzung könnte den durchmischten Flaumeichen einen Vorteil verschaffen, da die Traubeneichen wahrscheinlich besser an das lokal herrschende Klima angepasst sind.

Ein anderes Beispiel für hohe genetische Durchmischung ist der Eichenbestand auf der Lägern (AG/ZH) (Abb. 4). Hier beprobten wir Eichen entlang des Grates von West nach Ost und fanden einen Gradienten an Durchmischung mit reinen Flaumeichen im Westen, reinen Traubeneichen im Osten und dazwischen auch durchmischten Individuen.

Dieser Gradient könnte hauptsächlich auf die Beschaffenheit des Bodens auf der Lägern zurückzuführen sein. Die Flaumeiche behauptet sich besser auf flachgründigen, kalkhaltigen Böden mit wenig Wasserspeichervermögen, wie man sie vor allem auf dem Grat und vom Zentrum aus bis zum westlichen Ende der Lägern antrifft. Südlich des Grates sowie Richtung Osten findet man vermehrt tiefgründige, lehmhaltige Böden, die von Stiel- und Traubeneiche bevorzugt werden.

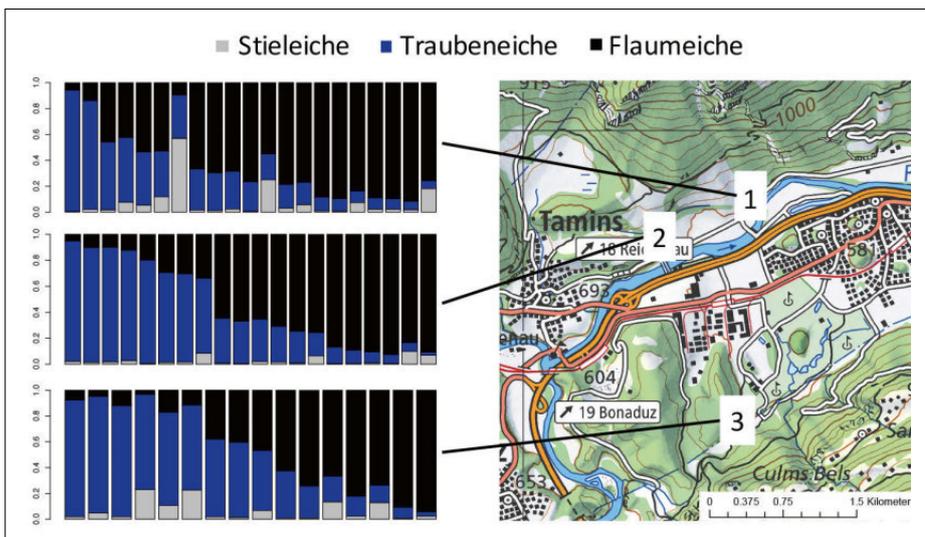
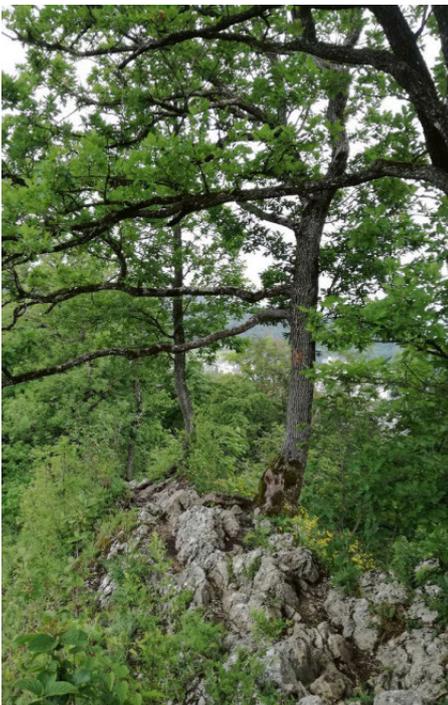


Abbildung 3: Artzuordnung in drei Eichenbeständen der Region Domat/Ems (GR, Karte: swisstopo.ch). Die drei Farben in den Balkendiagrammen zeigen an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Baum einer der drei Arten zugeordnet wurde. Eichen mit einer Artzugehörigkeit von über 90% betrachten wir als rein und den Rest als durchmischt. In diesen drei Beständen gibt es starke Hinweise auf Flaumeichenanteile, aber auch auf einen hohen Grad an Durchmischung von allen drei untersuchten Eichenarten. WSL/swisstopo

Auf einer Untersuchungsfläche der Universität Basel in Hölstein (BL) bestimmten wir die Artzugehörigkeit einiger mutmasslich reinen Stiel- und Traubeneichen. Dabei fanden wir nebst reinen Stiel- und Traubeneichen auch durchmischte Bäume mit bedeutenden Anteilen beider Arten (Abb. 1, Seite 22). An der Burgstelle Besserstein in Villigen (AG) entdeckten wir einige Flaumeichen, die genetisches Material von Stieleichen enthielten.

#### Genetische Marker: auch für die Praxis ökonomischer und genauer als Blattanalysen

Da wir uns bei der Probenauswahl auf Durchmischung zwischen Flaum- und Traubeneiche konzentrierten, waren Bestände mit Hinweisen auf durchmischte Trauben- oder Flaumeichen zusammen mit der Stieleiche in unseren Untersuchungen eher selten. Auch lässt sich anhand unserer Daten nicht sagen, ob es sich bei durchmischten Bäumen wirklich um Kreuzungen der letzten paar Generationen handelt. Andere Möglichkeiten, die zu ähnlichen Mustern führen und nicht ganz ausgeschlossen werden können, sind historischer Genfluss (vor der Eiszeit) oder alte gemeinsame genetische Variation, die vor der Abspaltung der verschiedenen Arten entstanden war und bis heute erhalten geblieben ist.



Eine Flaumeiche auf dem Lägerngrat (AG/ZH). Typischerweise anzutreffen auf flachgründigen Böden.

Oliver Reutimann



Abbildung 4: Die Lägern (AG/ZH) (Karte: swisstopo.ch) als Beispiel für gemeinsames Vorkommen und Durchmischung der drei untersuchten Eichenarten auf relativ kleinem Raum. Jedes Kreisdiagramm stellt eine Eiche dar, und die Farben widerspiegeln die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Baum einer der drei Arten zugeordnet wurde. Eichen mit einer Artzugehörigkeit von über 90% betrachten wir als rein und den Rest als durchmischt.

WSL/swisstopo

Unsere Untersuchungen zeigen jedoch, dass relativ wenige SNP-Marker ausreichen, um Art und Durchmischungsgrad von Eichen zuverlässig zu bestimmen. Das Erstellen von genetischen Fingerabdrücken von Eichen kann daher aufwendige blattmorphologische Analysen ersetzen und ist auch viel genauer, und zwar aus folgendem Gründen: Die Morphologie von Blättern wird sowohl von genetischen als auch von Umweltfaktoren bestimmt. Zudem erlaubt die Blattanalyse keine sicheren Rückschlüsse auf die Kreuzungsverhältnisse, d.h., man kann anhand einer Blattanalyse den Genanteil der an einer Kreuzung beteiligten Arten nicht bestimmen.

Ein solches, relativ kostengünstiges Marker-Set (ein paar Franken pro Baum) ist damit nicht nur interessant für wissenschaftliche Zwecke, sondern kann auch in der Forstpraxis Anwendung finden, z. B. um Samenerntebestände auszuwählen oder forstliches Vermehrungsgut zu zertifizieren.

Um die innerartliche genetische Vielfalt oder die Herkunft von Beständen zu bestimmen, ist das Marker-Set allerdings ungeeignet, da es auf die Unterscheidung der drei Arten optimiert wurde. Dieses Projekt ist ein Beispiel dafür, wie einfache, aber moderne genetische Analysen in Wissenschaft und Praxis Anwendung finden können. ■

#### LITERATUR

Abegg, M., Brändli, U.-B., Cioldi, F., Fischer, C., Herold-Bonardi, A., Huber, M., Keller, M., Meile, R., Rösler, E., Speich, S., Traub, B., und Vidondo, B. 2014. Schweizerisches Landesforstinventar - Ergebnistabelle Nr. 204039: Vorrat. Birmensdorf, Eidg. Forschungsanstalt WSL. <https://doi.org/10.21258/1054851>

Leroy, T., Roux, C., Villate, L., Bodénès, C., Romiguier, J., Paiva, J. A. P., Dossat, C., Aury, J., und Kremer, A. 2017. Extensive recent secondary contacts between four European white oak species. *New Phytologist*, 214: 865–878.

Müller, B. 1999. Variation und Hybridisierung von *Quercus pubescens*. Dissertation ETH Zürich. 138 S.

Relstab, C., Bühler, A., Graf, R., Folly, C., und Gugerli, F. 2016. Using joint multivariate analyses of leaf morphology and molecular-genetic markers for taxon identification in three hybridizing European white oak species [*Quercus* spp.]. *Annals of Forest Science*, 73: 669–679.

Reutimann, O., Gugerli, F., und Relstab, C. 2020. A species-discriminatory SNP set reveals maintenance of species integrity in hybridizing European white oaks [*Quercus* spp.] despite high levels of admixture. *Annals of Botany*, 125: 663–676.