

# Abschlussbericht zum Forschungsprojekt

Ex- situ- Erhaltungskulturen in Botanischen Gärten und ihre Bedeutung zum  
Arterhalt am Naturstandort –  
eine Untersuchung am Beispiel *Silene otites* und *S. chlorantha*.



**Aktenzeichen:** DBU 25799- 33/2  
Heidehofstiftung Bg  
**Projektleiterin:** Dr. Birgit Gemeinholzer  
**Projektbearbeiter:** Daniel Lauterbach  
**Projektbeginn:** 01.06.2008  
**Laufzeit:** 3 Jahre + 10 Monate

Giessen, März 2012

## Inhaltsverzeichnis

Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens	3
Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden	3
Untersuchungsgegenstand	3
Material und Methoden	4
Erhebung der Populationsparameter	4
Kultivierung im Botanischen Garten	5
Molekulargenetische Arbeiten und Datenanalyse	5
Vorversuche Sequenzierung	6
Kreuzungsversuche bei <i>Silene chlorantha</i>	6
Ergebnisse und Diskussion	7
Populationsuntersuchungen <i>Silene chlorantha</i>	7
Populationsuntersuchungen <i>Silene otites</i>	9
Vorversuche Sequenzierung	10
Kreuzungsversuche bei <i>Silene chlorantha</i>	10
Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation	11
Veranstaltung: Umwelt baut Brücken	11
Kooperation mit dem Carl-Friedrich-Gauß Gymnasium	11
Führungen an der Langen Nacht der Wissenschaften	11
Vorstellungen der Ergebnisse auf nationalen und internationalen Konferenzen	12
Publikationen aus dem Projekt	12
Wiederausbringungsmaßnahmen	13
Fazit	15
<u>Anhang</u> :	5 Publikationen aus diesem Projekt
	Projektbericht Carl-Friedrich-Gauß Gymnasium

## Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens

Die biologische Vielfalt ist weltweit zunehmend durch Veränderung und Zerstörung der Lebensräume, Fragmentierung der Landschaften und Isolation einzelner Populationen gefährdet und bedroht. Neben Schutzmaßnahmen an bestehenden Restpopulationen *in-situ* können ergänzend *ex-situ* Kultivierungsmaßnahmen dazu dienen, den Arterhalt zu gewährleisten. Durch Wiederausbringung von *ex-situ* Pflanzen oder Samenmaterial am Naturstandort können zum einen gefährdete Populationen gestützt werden und ferner kann durch Neuansiedlungen an geeigneten Natur- und Ersatzstandorten eine Vernetzung relictärer Populationen erfolgen. In zahlreichen Botanischen Gärten (BG) werden aus diesem Grunde seltene und gefährdete Arten *ex-situ* kultiviert. Weltweit liegen jedoch nur wenige Untersuchungen vor, ob *ex-situ* Populationen unter den Kultivierungsbedingungen bewahrt werden können oder sich verändern und welche Auswirkungen eine Wiederausbringung der *ex-situ* Kulturen zurück an den Naturstandort mit sich bringen. In Berlin gab es von 1988-1992 ein Hilfsprogramm für akut vom Aussterben bedrohte Blütenpflanzenarten u.a. für das Grünliche Leimkraut (*Silene chlorantha*) sowie das Ohrlöffel-Leimkraut (*Silene otites*) was eine Etablierung von Erhaltungskulturen am Botanischen Garten Berlin (BGBM) zur Folge hatte (Hömberg 1992). Es wurde damals eine Wiederausbringung am Naturstandort zur Verjüngung und Stützung der am innerstädtischen Naturstandort stark bedrohten Populationen durchgeführt und das Management der Restpopulationen wurde für einige Jahre intensiviert. Die damals durchgeführten Kulturmaßnahmen sind gut dokumentiert. Im Rahmen dieses DBU-Projektes wurde mit molekularen und ökologischen Methoden untersucht, (1) ob sich die genetische Ausstattung der *ex-situ* Kulturen beider Arten im Vergleich zu den *in-situ* Populationen in einem definierten Zeitraum verändert haben; (2) ob eine Veränderung der Fitness und/oder genetischen Diversität aufgrund unterschiedlicher ökologischer Bedingungen und unterschiedlicher Selektionseinflüsse in den Erhaltungskulturen des Botanischen Gartens festgestellt werden konnte und (3) wie mit bestehenden, langjährigen, gut dokumentierten *ex-situ* Kulturen von gefährdeten Arten, die einen etwa ähnlichen Lebenszyklus bzw. eine ähnliche Fragmentierung wie die der Modellpflanzen aufweisen, umgegangen werden soll. Hierzu wurden nicht nur die *ex-situ* mit den entsprechenden *in-situ* Populationen sondern auch Populationen auf fragmentierten Standorten in Brandenburg in die Untersuchung mit einbezogen, um die Populationsstruktur und genetische Konstitution der Arten zu erfassen und beurteilen zu können.

## Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

### *Untersuchungsgegenstand*

*Silene chlorantha* (Willd.) Erh. In Brandenburg und Berlin waren zu Beginn des Projektes 16 Populationen der Art bekannt (Tendenz rückläufig). Die Art der basiphilen Sandtrockenrasen hat ihr Hauptverbreitungsgebiet in Westasien und Osteuropa und erreicht in Brandenburg

und Berlin ihre westliche Verbreitungsgrenze. Sie hat den Rote Liste Status 2 für Deutschland. Der Standort Berlin/Baumberge umfasste Mitte der achtziger Jahre nur noch ca. 20 Exemplare und war somit fast erloschen. Vor der Unterschutzstellung von Teilen des Geländes im Jahre 1989 wurden dort Samen von *S. chlorantha* gesammelt und seitdem mit einer Individuenstärke von 20-25 Pflanzen am Botanischen Garten Berlin (BGBM) *ex-situ* kultiviert. Diese isolierte *ex-situ* Population wird ca. alle 2 Jahre aus sich selbst verjüngt. Von 1990 bis 1992 wurden 279 im Garten nachgezogene Jungpflanzen wieder am Naturstandort ausgepflanzt, die sich zu einem hohen Prozentsatz am Standort etablieren konnten (Hömbert 1992). Die Population hat sich auch aufgrund von Schutzmaßnahmen und Biotoppflege gut erholt und umfasst heute etwa 10 000 Individuen. Für *S. chlorantha* standen leider keine weiteren gut dokumentierten Kulturen aus Botanischen Gärten für die Untersuchung zur Verfügung.

*Silene otites* (L.) Wibel. Zu Projektbeginn waren zwischen 50 und 100 Populationen dieser Art in Brandenburg und 3 Populationen in Berlin bekannt. Die Art der basiphilen Sandtrockenrasen besitzt in Deutschland ihren Verbreitungsschwerpunkt in den Trockengebieten und in der Küstenregion. Sie ist Deutschland- und europaweit gefährdet. Es werden seit 1980 Pflanzen der Berlin/Gatower Population mit einer Individuenstärke von 20-25 Pflanzen im BGBM erhalten. Diese isolierte *ex-situ* Population wird ca. alle 2 Jahre aus sich selbst verjüngt. In den 90er Jahren wurden in Berlin/Gatow und Berlin/Lieper Bucht nachgezogene Individuen der Population Berlin/Gatow ausgebracht. In Berlin/Gatow brachte die Wiederausbringung keinen deutlichen Effekt auf das Populationswachstum und in Berlin/Lieper Bucht war sie ohne Erfolg. Für die Art *S. otites* wurden neben den Populationen im Untersuchungsgebiet weitere *ex-situ* Kulturen aus anderen Botanischen Gärten sowie deren respektive Freilandpopulationen molekulargenetisch untersucht. Nach Anfrage an verschiedene Botanische Gärten, konnten 2009 in den BG Marburg und Mainz weitere *ex-situ* Kulturen von *S. otites* in Absprache mit den dortigen Mitarbeitern beprobt werden. Wie für die Berliner *ex-situ* Kultur waren auch dort die Naturpopulationen, aus denen die *ex-situ* Kulturen etabliert wurden, noch existent. Folgende 3 Paare aus *in-situ* Population und verwandter *ex-situ* Kultur (Etablierungsdatum) wurden beprobt und analysiert:

Berlin Gatow – Bot. Garten Berlin (1988)  
Mainzer Sand – Bot. Garten Mainz (1982)  
Erfurt Tiefthal – Bot. Garten Marburg (1973)

## Material und Methoden

### *Erhebung der Populationsparameter*

Nach eingehender Literaturrecherche und Beantragung entsprechender Genehmigungen bei den Unteren Naturschutzbehörden wurden im Sommer 2008 von 12 Populationen der Art *Silene chlorantha* und 11 Populationen der Art *S. otites* (einschließlich der *ex-situ* Populationen in Berlin und Brandenburg folgende Daten erfasst:

1. **populationsspezifische Parameter:** anthropogene Nutzung, geografische Lage, Populationsgröße, Populationsdichte, Geschlechterverhältnis (*S. otites*). In jeder Population wurde innerhalb von 10 Quadraten (0,5m x 0,5m) die demographische Struktur in Abhängigkeit von umgebender Vegetation in einem Transekt wie folgt

erfasst: Gesamtdeckung, Deckung der Krautschicht, Deckung der Kryptogamenschicht, Deckung der Streuschicht, Vegetationshöhe, Anzahl der Jungpflanzen, Anzahl nicht blühender adulter Pflanzen, Anzahl blühender adulter Pflanzen.

- 2. *individuenspezifische Parameter:*** Es wurden an 30 zufällig ausgewählten Pflanzen (*S. otites* nur weibliche Pflanzen) je Population folgende Daten erhoben: Pflanzenhöhe, Rosettendurchmesser, Anzahl der Triebe, Anzahl der Blüten, Anzahl der Samen pro Blüte. Von allen Populationen wurde Blattmaterial von je 12 Pflanzen (*S. otites* weibliche und männliche) für anschließende genetische Untersuchungen entnommen. Bei weiteren 13 Populationen von *S. otites* und 5 Populationen von *S. chlorantha* im Land Brandenburg wurde Blattmaterial für weitere Untersuchungen entnommen und parallel dazu weitere Fundortangaben untersucht, um ggf. Ursachen für das Aussterben einzelner Populationen beschreiben zu können oder potentielle Wiederausbringungsflächen auszuwählen. An historischen Fundorten, wo die Arten heute nicht mehr vorkommen, wurden Daten zu möglichen Ursachen des Aussterbens erfasst.

### *Kultivierung im Botanischen Garten*

Für die Untersuchung verschiedener Parameter zur Fitness der Individuen einer Populationen und die Hybridisierungsversuche wurden im April 2008 10 Samen je Mutterpflanze aus 10 Populationen (Samen 2007 in Kooperation mit der Uni Potsdam gesammelt) ausgesät und 35 Pflanzen pro Population davon für die weitere Kultivierung in Töpfen herangezogen. Es wurden mehr als 700 Pflanzen beider Arten herangezogen und im Außenbeet überwintert.

### *Molekulargenetische Arbeiten und Datenanalyse*

An den im Freiland untersuchten Populationen sowie den *ex-situ* Populationen wurden molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt. Hierfür wurde Blattmaterial von je 12 einzelnen Pflanzen pro Population verwendet. Es wurde die AFLP-Methode (nach Vos et al. 1995 optimiert) mit drei verschiedenen Primerkombinationen je Art angewandt und wie folgt analysiert: Es wurde eine Distanzanalyse mit Hilfe von Neighbor-Joining mit dem Programm PAUP\* 4.0 (Swofford 2002) und eine Analyse hierarchischer Populationsstrukturen (AMOVA) zur Untersuchung der genetischen Varianz zwischen und innerhalb der Populationen mit dem Programm Arlequin (Excoffier et al. 2005) berechnet. Die genetische Diversität jeder einzelnen Population sowie die paarweisen genetischen Fst-Werte (Fixationsindizes) zwischen den Populationen wurden mit der Software AFLP-Surv (Vekemans 2002) berechnet. Die Hauptkoordinaten Analyse wurde mit dem Programm FAMD (Schlüter & Harris 2006) erstellt. Alternativ dazu wurde die genetische Struktur der Populationen mit dem Programm STRUCTUE (Pritchard et al. 2000) analysiert. Alle weiteren statistischen Berechnungen, sowie der Manteltest wurden mit dem Programm R (R Development Core Team, 2007) durchgeführt.

### *Vorversuche Sequenzierung*

Für ausgewählte Individuen der Art *S. otites* wurde ein Vorversuch zur Generierung von Sequenzdaten verschiedener genetischer Marker durchgeführt. Mit Hilfe der AFLP-Analyse werden unspezifische Merkmale in sehr hoher Anzahl generiert. Mit der Sequenzierung erhält man in der Regel auf Populationsebene nur sehr wenige jedoch hochspezifische Merkmale, die z.B. zur Erstellung eines Haplotypennetzwerkes verwendet werden können. Folgende Marker, die sich bei Studien an anderen Arten als variabel auf Populationsebene erwiesen haben, wurden getestet, mit dem Programm BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>) aligniert und mit PAUP 4.10 (Swofford 2002) evaluiert:

- ITS (Kernmarker)
- trnL-F (Plastidmarker)
- trnH-psbA (Plastidmarker)
- atpA (Mitochondrienmarker)
- cob (Mitochondrienmarker)

### *Kreuzungsversuche bei *Silene chlorantha**

Um zu untersuchen, ob die genetische Diversität von genetisch verarmten und geographisch isolierten Populationen durch einmalige Einkreuzungen anderer Populationen erhöht werden kann, wurden gezielte Kreuzungsexperimente im Botanischen Garten durchgeführt. Dazu wurden einzelne Individuen von 5 verschiedenen Populationen auf Basis der gewonnenen populationsgenetischen Daten (Lauterbach et al. 2011) gezielt bestäubt. Diese Pflanzen standen aus den Aussaaten von 2008 zu Verfügung. Die ausgewählten Pflanzen wurden vor Fremdbestäubung sowie Selbstbestäubung isoliert, indem die Blütenstände mit einem mit Fließ umwickelten Drahtgestell isoliert wurden. Vor dem Aufblühen wurden den Blüten die Antheren (Staubblätter) entfernt, um nur „weibliche“ Blüten innerhalb eines isolierten Blütenstandes zu erhalten. Selbstbestäubung wurde zugelassen, wenn in der jeweiligen „Isolation“ die Antheren nicht entfernt wurden. Diese Pflanzen dienten gleichzeitig als Pollenspender für die gezielte Bestäubung der „weiblichen“ Blüten. Da die Pflanzen oftmals mehrere Blüentriebe entwickelten, war es möglich diese einzeln zu isolieren und an einer Pflanze verschiedene Kreuzungskombinationen durchzuführen. Drei Faktoren wurden hierbei berücksichtigt: die genetische Diversität der Elternpopulationen (Genetik), die Populationsgröße der Elternpopulationen am Naturstandort (Populationsgröße) und die geographische Distanz zwischen den Elternpopulation in km (Distanz). Bei der F1 Generation wurde anschließend der Einfluss dieser Faktoren auf die Pflanzenfitness sowie die genetische Diversität untersucht. Das Saatgut der Kreuzungen wurde kurz bevor sich die Kapseln öffneten geerntet und im Oktober 2009 je nach Kreuzung getrennt ausgesät. Die Sämlinge wurden im Winter, frostfrei und unter natürlichen Lichtbedingungen angezogen. Im April 2010 wurden dann 396 Jungpflanzen in einzelne Töpfe umpflanzt und anschließend in den Freianlagen des Gartens in einem „randomized block design“ aufgestellt um Zufallseffekte auf alle Behandlungen gleich zu verteilen. Im April 2010 wurde Blattmaterial entnommen um genetische Analysen (AFLP) dieser F1 Generation durchzuführen. Bei den Pflanzen der F1 Generation wurden im Oktober 2010 erste Messungen zur Fitness vorgenommen. Aufgrund der langsamen Entwicklung der Pflanzen im ersten Jahr konnten jedoch nur der Durchmesser der Blattrosette, die Länge des

längsten Blattes sowie die Pflanzenhöhe als abhängige Fitnessvariablen vermessen werden. Pro Behandlungstyp wurden möglichst 30 Pflanzen vermessen. Nur etwa 1/3 aller Pflanzen bildete im ersten Jahr einen Blüentrieb aus. Die Evaluation der reproduktiven Fitness (Anzahl der Blüentriebe, Kapseln und Samen) wurde im Herbst/Winter 2011 durchgeführt, die Daten werden derzeit analysiert.

## Ergebnisse und Diskussion

### *Populationsuntersuchungen Silene chlorantha*

Im Land Brandenburg sind viele der historischen Vorkommen erloschen. Im Projektverlauf konnten durch gezieltes Nachsuchen weitere Populationen der seltenen, gefährdeten *Silene*-Art aufgrund historischer Angaben wiedergefunden werden. Derzeit existieren in Berlin und Brandenburg (der Gesamtbestand für ganz Deutschland) noch 22 Vorkommen von *Silene chlorantha* (Lauterbach in prep). Viele dieser Vorkommen sind jedoch sehr klein (12 Standorte weisen weniger als 100 Individuen auf) und sind stark voneinander isoliert, so dass genetische Drift und Inzucht über kurz oder lang zu erwarten sind. Für den Hauptprojektteil dieser Untersuchung wurden 10 Populationen aus Brandenburg sowie die Berliner *in-situ*- und *ex-situ* Kultur von *Silene chlorantha* genetisch untersucht. Nach einem Primerscreening mit 4 Individuen von 4 Populationen und 13 verschiedenen Primerkombinationen wurden drei Primerkombinationen für die weiteren Analysen ausgewählt. Sie lieferten 111 polymorphe Loci für die Auswertung. Die genetische Diversität der Populationen ( $H_e$ ) variiert zwischen minimal 0,17 und maximal 0,23 (Lauterbach et al. 2011). Der minimale  $H_e$ -Wert stammt von der Population Podelzig, sie kann als genetisch verarmte Population im Vergleich zu den anderen Populationen gewertet werden. Die zweitgrößte Population Eisenhüttenstadt weist die höchste genetische Diversität (0,23) auf. Es wurde nur eine schwache Korrelation ( $R^2 = 0.28$ ,  $p = 0.097$ ) zwischen der genetischen Diversität und der Populationsgröße der untersuchten Populationen nachgewiesen. Für diese Untersuchung wurde die Population Baumberge nicht mit einbezogen. Mit 10 000 Individuen ist die Population extrem groß und man würde auch eine hohe genetische Diversität erwarten. Der tatsächliche Wert der genetischen Diversität dort ist jedoch vergleichsweise niedrig. Der rasante Individuenzuwachs dieser Population nach der Wiederausbringung 1992 führte über einen Zeitraum von ca. 17 Jahren noch nicht zu einer Erhöhung der genetischen Diversität. Die natürliche genetische Diversität einer Population erhöht sich in der Regel ohne Einkreuzung anderer Genpools nur sehr langsam durch spontane Mutationen. Die Individuen zum Zeitpunkt der Wiederausbringung hatten evtl. nur noch einen Teil der ursprünglichen genetischen Ausstattung („Flaschenhalseffekt“ und „Gründereffekt“), was die etwas höhere genetische Diversität der *ex-situ* gegenüber der *in-situ* Population erklären könnte. Generell kann das Verhältnis von Populationsgröße zu genetischer Diversität Aussagen über die historische Populationsentwicklung geben. Beispielsweise: wenn eine kleine Population eine hohe genetische Diversität aufweist, ist zu vermuten, dass sie entweder mit anderen Populationen im Austausch steht oder sie vor noch nicht langer Zeit wesentlich individuenstärker war. Diese Prozesse sind aber von Art zu Art sehr unterschiedlich zu bewerten. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eine sehr deutliche Populationsstruktur innerhalb der untersuchten Populationen von *Silene chlorantha*. Die aufgrund der isolierten geografischen Lage vermutete genetische Isolierung der Populationen wird durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Der  $F_{st}$ -Wert von 0,36 zeigt eine sehr hohe

Populationsdifferenzierung. Es konnte keine Korrelation zwischen genetischer und geographischer Distanz gefunden werden ( $r = 0.106$ ,  $p = 0.261$ , 999 permutations).

An den natürlichen Standorten der Populationen hatten Pflanzen in größeren Populationen mit einer höheren Individuendichte mehr Samen pro Pflanze. Pflanzen in größeren Populationen wiesen darüber hinaus auch mehr Samen pro Kapsel auf. Die genetische Diversität korrelierte leicht negativ mit der Anzahl der Samen pro Pflanze und der Anzahl der Kapseln pro Pflanze. Die Ergebnisse zeigen, dass größere und dichtere Populationen einen höheren Samenoutput haben. Interpretieren lässt sich dies mit einer höheren Attraktivität für bestäubende Insekten und einer höheren Bestäubungsrate.

Unter gleichen Kulturbedingungen im Botanischen Garten Berlin konnte keine Korrelation zwischen Fitness und ursprünglicher Populationsgröße sowie genetischer Diversität nachgewiesen werden (Lauterbach et al. 2011). Somit lassen sich unter gleichen Bedingungen derzeit keine Fitnessverluste in Form von niedrigerem Samenoutput bei verringerter genetischer Diversität nachweisen. Sowohl die Anzahl der gebildeten Samen (~3000 pro Pflanze) als auch die Keimungsrate (MW 82%) waren bei *S. chlorantha* relativ hoch. Entscheidend für die Fitness einer Population ist jedoch nicht nur der Samenertrag, sondern auch die Überlebensrate der Jungpflanzen. Da an den natürlichen Standorten meist nur wenige Jungpflanzen vorzufinden waren, wurde der Einfluss von verschiedenen Umgebungsvariablen auf die Anzahl der Jungpflanzen untersucht. Die Anzahl der Jungpflanzen im Freiland korrelierte positiv mit der genetischen Diversität der Populationen und negativ mit der Deckung der Kryptogamen (Lauterbach et al. 2011). Jungpflanzen aus Populationen mit einer hohen genetischen Diversität hatten höhere Überlebensraten. Ferner unterdrückt eine höhere Deckung von Moosen und Flechten die Keimung bzw. Etablierung von Jungpflanzen am jeweiligen Standort.

Die neu aufgefundenen Vorkommen von *Silene chlorantha* waren ursprünglich noch nicht in der Untersuchung von Lauterbach et al. (2011) berücksichtigt. Daher wurden im Rahmen einer zusätzlichen Versuchsreihe erneut Individuen möglichst vieler Populationen analysiert. Ziel war es hierbei, weitere Informationen über die genetische Zusammensetzung der Wildvorkommen zu erhalten und somit den Grad der Differenzierung und Isolation abschätzen zu können. Die Daten geben vorerst nur einen Überblick über die genetische Diversität und Differenzierung der neu gefundenen Populationen und können aufgrund der eingesetzten molekulargenetischen Methode nicht mit bereits generierten Daten verglichen werden. Für praktische Artenschutzmaßnahmen wie Wiederausbringungen und Habitatvernetzungen liefern die zusätzlich gewonnenen Erkenntnisse jedoch trotzdem wichtige Informationen. Es wurden 5 bereits analysierte Populationen (hellgrau) und 10 neue Populationen (schwarz) in die Analyse einbezogen (Tab. 1).

Diese Analyse zeigte eine deutliche genetische Differenzierung der Vorkommen. Die nur ca. 1 km voneinander entfernten Lebuser Populationen weisen eine hohe genetische Ähnlichkeit auf, hier wäre eine Bestandsstützung der einen sehr kleinen Population durch die nahegelegene größere Population möglich. Auffallend war die genetische Isolationen der Populationen in Lebus zu den nur wenige Kilometer entfernten Populationen Podelzig und Mallnow, die sich bereits bei der ersten Analyse zeigte (Lauterbach et al. 2011). Die zwei Populationen aus Polen haben eine ähnliche genetische Zusammensetzung wie die Populationen aus Nordbrandenburg. Die nahegelegene Population Podelzig ist auch



**Tabelle 1.** Minimal adäquate Modelle für die Fitnessvariablen (I-III) in Korrelation zu Genetischer Diversität ( $H_e$ ), Populationsgröße und Populationsdichte, im A Freiland und B unter gleichen Kulturbedingungen. Die Tabelle zeigt die Parameterschätzung (Estimate), sowie die Ergebnisse der Likelihood- Quotienten- Tests für die signifikanten Terme. GLM mit Quasi- Poisson Fehlerverteilung.

	I Total Samen pro Pflanze			II Samen pro Kapsel			III Kapseln pro Pflanze		
A Freiland	Estimat	F-test	p	Estimate	F-test	p	Estimate	F-test	p
$H_e$	-13.806	$F_{1,293}=9.66$	<0.01	-1.497	-	-	-11.51	$F_{2,323}=3.79$	<0.05
log (Pop. Größe)	0.179	$F_{1,293}=13.08$	<0.001	0.111	$F_{1,295}=55.19$	<0.001	0.098	$F_{2,323}=3.17$	<0.05
log (Pop. Dichte)	-0.144	$F_{1,293}=4.93$	<0.05	-0.036	-	-	-0.099	-	-
B Kultur	Estimat	F-test	p	Estimate	F-test	p	Estimate	F-test	p
$H_e$	4.147	-	-	2.346	-	-	1.015	-	-
log (Pop. Größe)	-0.0188	-	-	0.003	-	-	-0.010	-	-

genetisch der Population in Czarnow ähnlich. Zwischen den Individuen der beiden Teilpopulationen Gartz (2 km Entfernung) zeigt sich bereits eine genetische Differenzierung. Diese Ergebnisse bestätigen eine Isolation kleiner Populationen z.B. durch Bestäuberlimitierung bereits ab einer Entfernung von >1 km (Kwak et al. 1998) und erfordern Maßnahmen des Biotopverbundes. Die *in-situ* Population von *Silene chlorantha* in Berlin/ Baumberge hat eine etwas geringere genetische Diversität (0,181) als die dazugehörige *ex-situ* Population (0,186). Die Ergebnisse der AMOVA zeigen, dass es nur eine sehr schwache genetische Differenzierung zwischen der Berliner *ex-situ* und *in-situ* Population gibt (Fst = 0.106, P < 0.001), sich diese Populationen demnach noch sehr ähnlich sind. Die Ergebnisse zeigen, dass man im Falle von *Silene chlorantha* die genetische Vielfalt einer Population über einen Zeitraum von ca. 17 Jahren *ex-situ* erhalten kann und die Art bei günstigen Habitatbedingungen in der Lage ist wieder individuenstarke Populationen nach Wiederausbringung aufzubauen. Die Untersuchung zeigt aber auch, dass gerade bei seltenen Arten die Populationen genetisch stark differenziert sein können. Daher ist der Erhalt der gesamten genetischen Bandbreite einer Art *ex-situ* nur schwer möglich.

#### Populationsuntersuchungen *Silene otites*

In Brandenburg sind viele der bekannten Vorkommen seit 1950 erloschen. Die Population Berlin/Gatow umfasste im Jahr 2008 37 adulte Individuen in zwei Teilpopulationen. Durch angrenzende Sukzession werden die Pflanzen stark beschattet und es findet kaum noch Reproduktion statt. Die Population in Berlin/Lieper Bucht umfasste im Jahr 2008 15 adulte und 10 juvenile Individuen, von den 46 Pflanzen die 1992 auf einer Nachbarfläche ausgebracht wurden konnte keine Etablierung bestätigt werden. Die Population Berlin/Spandau umfasst ca. 3400 Individuen und ist durch Pflegemaßnahmen stabil mit positivem Trend. Es wurden 10 brandenburgische Populationen von *S. otites* genetisch untersucht. Nach einem Primerscreening an 4 Individuen von 4 Populationen mit 18 unterschiedlichen Primerkombinationen wurden drei davon für die Analyse ausgewählt. Aufbauend auf die ersten Ergebnisse wurden weitere Populationen aus einem größeren geographischen Gebiet sowie zwei weitere 3 *ex-situ* Kulturen aus Botanischen Gärten Deutschlands in die Untersuchung einbezogen (Lauterbach et al. 2012a,b). Die Werte für die genetische Diversität lagen im Bereich von 0,127-0,240 und unterscheiden sich zwischen den untersuchten Populationen. Die Ergebnisse der Distanz-Analyse (NJ) zeigen eine

deutliche Differenzierung der untersuchten Standorte. Die AMOVA bestätigt mit einem Fst-Wert von 0,36 eine deutliche Populationsstruktur mit starker Differenzierung zwischen den berlin-brandenburgischen Populationen (Lauterbach et al. 2012b). Die Datensätze der 3 *in-situ/ex-situ* Paare der verschiedenen Botanischen Gärten wurden getrennt analysiert, um eine bessere Auflösung der Daten zu erhalten und jedes Datenset unabhängig voneinander auswerten zu können. Die genetische Diversität war in allen drei Fällen bei den noch existierenden Naturstandorten höher als in der *ex-situ* Kultur. Folglich sind die *ex-situ* Kulturen von *S. otites* nach etwa 30 Jahren Kultivierung genetisch verarmt (Lauterbach et al. 2012a). Die Ergebnisse der AMOVA zeigen eine deutliche Differenzierung zwischen der *ex-situ* Kultur und der dazugehörigen *in-situ* Population bei allen 3 Paaren. Dies bedeutet, dass die *ex-situ* Kulturen von *S. otites* nicht mehr die Diversität und Ähnlichkeit der natürlichen Ausgangspopulationen widerspiegeln.

#### *Vorversuche Sequenzierung*

Die Vorversuche zur Sequenzierung verschiedener mitochondrieller und plastidärer Marker erbrachten keine ausreichende Variabilität der Marker für die untersuchten Populationen auf kleiner geographischer Skala (Deutschland).

#### *Kreuzungsversuche bei Silene chlorantha*

Die Kreuzung unterschiedlicher Populationen *in-situ* zur Erhöhung der genetischen Diversität resultierten in der F1 Generation mit der AFLP-Analyse von 4 Primerkombinationen in 110 polymorphen Loci. Die Werte für die genetische Diversität der F1 Generation lagen im Bereich von 0,141-0,236. Die Individuen der Kreuzungen mit einem Partner aus einer genetisch diversen Population hatten die höchsten Werte. Die Selbstbestäubung (Inzucht) innerhalb genetisch verarmter Populationen und die Auskreuzung zwischen 2 verschiedenen aber ebenfalls genetisch verarmten Populationen führte zu keiner Erhöhung der genetischen Diversität der F1 Generation. Eine Selbstbestäubung innerhalb diverser Populationen ergab eine ähnliche Diversität wie für die Nachkommen der Elternpopulationen. Nur wenn eine genetisch verarmte Population mit einer genetisch diversen Population gekreuzt wurde, ergab sich eine deutliche Erhöhung der Diversität. Daraus lässt sich ableiten, dass besonders Populationen mit hoher genetischer Diversität besonders wertvoll für den Erhalt der intraspezifischen Diversität sind. Genetische Diversität, Populationsgröße und geographische Distanz der Elternpopulationen hatten einen signifikanten Einfluss auf die Fitness der F1 Generation. Die Einflüsse der jeweiligen Level der Einflussvariablen wurden mittels „post hoc test“ untersucht. Nachkommen der Selbstbestäubung genetisch verarmter Populationen wiesen signifikant kleinere Blattrosetten auf (potentiell Inzuchtdepression!). Pflanzen die aus einer Kreuzung zwischen zwei großen Populationen hervorgingen hatten signifikant größere Blattrosetten als Pflanzen einer Kombination. Die geographische Distanz der Elternpopulationen zueinander hatte einen signifikanten Einfluss auf die Nachkommen, indem die Nachkommen einer Kreuzung zwischen weit entfernten Populationen größere Blattrosettendurchmesser hatten, als die Nachkommen geographisch benachbarter Populationen. Aus naturschutzfachlicher Sicht ist also der Erhalt großer, z.T. weiter voneinander entfernter Populationen als potentielles genetisches Reservoir wichtig.

## Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Das Projekt wurde in diversen Veranstaltungen der Öffentlichkeit zugänglich gemacht und die gewonnenen Erkenntnisse wurden zum Erhalt gefährdeter Pflanzenarten eingesetzt. Die Projektarbeit fand in enger Kooperation mit dem Landesamt für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (LUGV) Brandenburg (A. Herrmann), der AG Erhaltungskulturen des Verbands der Botanischen Gärten (M. Burkart), den Unteren Naturschutzbehörden der Landkreise, dem Senat für Stadtverwaltung Berlin (Fr. van Seventer, M. Wagner) und der Universität Potsdam (M. Ristow) statt. Auf Basis der vorliegenden Ergebnisse fand im Juni 2009 eine Gesprächsrunde mit dem Fachpersonal der Botanischen Gärten und Naturschutzbehörden der Region über mögliche Konzepte und Risiken der Wiederausbringung und Einkreuzung statt.

Des Weiteren wurden folgende Veranstaltungen bzw. Projekte im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit durchgeführt, bzw. erfolgte eine Beteiligung:

*Veranstaltung: Umwelt baut Brücken „Jugendliche im europäischen Dialog“ 24.03.2010*

Recherchethema: Wiederausbringung von *Ex-situ* Pflanzenmaterial zum Erhalt der biologischen Vielfalt

Projektlehrerinnen:

- Ursula Mai, Kath. Schule Bernhardinum, Trebuser Straße 45, 15517 Fürstenwalde, Tel.: 030-398-48098, E-Mail: ursulamai@web.de
- Lidija Corni, Gimnazija „Matija Mesić, Naselje Slavonija I br.8, Kro 35000 Slavonski Brod, Tel.: 0038535-465-887, E-Mail: miroslav.corni@sb.t-com.hr

*Kooperation mit dem Carl-Friedrich-Gauß Gymnasium (C.F.G.) Frankfurt/Oder seit 2009*

Am 12.06.2009 wurde ein einführender Vortrag über Populationsgenetik von Pflanzen sowie die Bedeutung von *ex-situ* Kulturen am C.-F.-G. Gymnasium gehalten. Darauf aufbauend wurde eine Projektarbeit zum Thema Konkurrenz durch die SchülerInnen bearbeitet. Die SchülerInnen wurden durch Daniel Lauterbach und zeitweise durch eine studentische Hilfskraft betreut. Die Ergebnisse der Zusammenarbeit konnten überaus erfolgreich auf verschiedenen Veranstaltungen durch die SchülerInnen präsentiert werden (siehe Bericht C.-F.-G. Gymnasium im Anhang).

*Führungen an der Langen Nacht der Wissenschaften*

Am 05.06.2010 und 28.05.2011 wurden jeweils 2 Führungen á 60 min zum Thema „*Ex-situ* Erhaltungskulturen“ durchgeführt mit dem Ziel, vom Aussterben bedrohte, heimische Pflanzenarten, die im Botanischen Garten kultiviert werden, interessierten Besuchern näher zu bringen. Untersuchungen zur Gefährdungsursache und der Populationsgenetik wurden erklärt. Die Arbeitsweisen und Ergebnisse dieser naturschutzorientierten Forschung wurden vorgestellt.

### *Vorstellungen der Ergebnisse auf nationalen und internationalen Konferenzen*

Die bisherigen Ergebnisse wurden im Rahmen von Vorträgen auf folgenden Konferenzen bzw. Symposien vorgestellt:

- 2nd European Congress of Conservation Biology, Prag 04.09.2009 (Vortrag)
- GfÖ-Tagung „Dimensions of ecology“, Bayreuth 16.09.2009 (Vortrag)
- Jubiläumssymposium 150 Jahre Botanischer Verein von Berlin & Brandenburg, Potsdam 26.09.2009 (Vortrag)
- WEL Workshop „Sammlung, Aufbereitung und Langzeitlagerung von Wildpflanzen-Saatgut“, Berlin BGBM 25.03.2010 (Vortrag)
- 40th Anniversary Conference GfÖ, Gießen 30.08.-03.09.2010 (Vortrag)
- Treffpunkt Biologische Vielfalt, BfN Vilm 10. 16.-20.08.2010 (Vortrag)
- 19th International Symposium „Biodiversity and Evolutionary Biology“ of the DBG, Wien 16.19.09.2010 (Vortrag)
- Jahrestagung der Gesellschaft zur Erforschung der Flora Deutschlands e. V., Hannover 29.-31.10.2010 (Vortrag)
- Integrating Ecology and Evolution in Diversity Research, Jyväskylä, Finland 31.05. – 02.06.2010, (Workshop-Teilnahme)
- Biosystematics-Tagung, Berlin 21.-27.02.2011 (Poster)
- Verbandstagung Botanischer Gärten, Thrandt 22.-25.09.2011 (Vortrag)
- 13. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Systematik (GfBS), Bonn 23.-25.02.2012 (Poster)

### *Publikationen aus dem Projekt*

- Lauterbach, D. (in prep) Zur Situation von *Silene chlorantha* (Willd.) Ehrh. in Deutschland. Verh. Bot. Ver. Berlin Brandenburg
- Lauterbach, D. (2012) Population genetic structure and plant fitness of natural and ex situ populations in *Silene chlorantha* (Willd.) Ehrh. and *Silene otites* (L.) Wibel. Dissertation, FU Berlin.
- Lauterbach D., Burkart M., Gemeinholzer B. (2012a) Rapid genetic differentiation between ex situ and their in situ source populations: an example of the endangered *Silene otites* (Caryophyllaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 168:64-75
- Lauterbach D., Ristow M., Gemeinholzer B. (2012b) Population genetics and fitness in fragmented populations of the dioecious and endangered *Silene otites* (Caryophyllaceae). Plant Systematics and Evolution 298:155-164
- Lauterbach D., Ristow M., Gemeinholzer B. (2011) Genetic population structure, fitness variation and the importance of population history in remnant populations of the endangered plant *Silene chlorantha* (Willd.) Ehrh. (Caryophyllaceae). Plant Biology 13:667–777
- Lauterbach D., Gemeinholzer B. (2011) Populationsgenetische Veränderungen von *ex-situ* Erhaltungskulturen in Botanischen Gärten im Vergleich zu den Wildvorkommen am Beispiel der Pflanzenarten *Silene otites* (L.) Wibel und *S. chlorantha* (Willd.) Ehrh. BfN-Skripten 289:139-144
- Lauterbach D., Gemeinholzer B. (2010) Naturschutz -Genetik gefährdeter Pflanzenarten: Das *Silene* Projekt am BGBM Berlin. Verh. Bot. Ver. Berlin Brandenburg 143: 87-90

## Wiederausbringungsmaßnahmen

### *Silene chlorantha* auf Renaturierungsflächen im Tagebau Jänschwalde

Von einer akut gefährdeten Population an einem Straßenrand zwischen Siegadel und Goyatz (Gemeinde Schwielochsee) wurden durch D. Lauterbach, M. Ristow, H. Illig, C. Kläge am 12.08.2009 Samen der letzten 4 vorhandenen fruchtenden Pflanzen gesammelt und in die Erhaltungskultur des Botanischen Gartens Berlin übergeben. Davon konnten 56 Jungpflanzen erfolgreich nachgezogen werden, die für eine Wiederausbringung bereit standen. Da das Gebiet der Ursprungspopulation derzeit keine nachhaltig gesicherten und geeigneten Flächen für eine erfolgreiche Wiederausbringung bietet (Randstreifen durch Baumaßnahmen gefährdet), wurde in Absprache mit den zuständigen Umweltbehörden eine Ausbringung auf einer Renaturierungsfläche des ehemaligen Tagebaues Jänschwalde, nördlich von Cottbus in Betracht gezogen. Diese Flächen sind Vorrangflächen für den Naturschutz und werden derzeit mit ausschließlich gebietsheimischem Pflanzenmaterial naturnah wiederbegrünt. Die Ursprungspopulation liegt geographisch im gleichen Naturraum und es gibt historische Angaben über Vorkommen von *S. chlorantha* in der weiteren Umgebung von Cottbus. Die Pflanzen wurden am 28.09.2010 mit Wurzelballen in Zusammenarbeit mit Christina Grätz (Nagola GmbH) auf einer geeigneten Fläche ausgepflanzt. Nach Rücksprache mit Frau Grätz im Mai 2011 begannen die ersten Pflanzen zu blühen. Bei der Kontrolle der wiederausgebrachten Pflanzen im Herbst 2011 konnten 50 überlebenden Pflanzen nachgewiesen werden. Die Pflanzen blühten und fruchteten reichlich, so dass von einer erfolgreichen Reproduktion der Population ausgegangen werden kann. Von dem Bestand wurde außerdem Saatgut für eine weitere Vermehrung entnommen.

### *Silene chlorantha* in den Baumbergen Berlin/Heiligensee

Im Rahmen der Fitnessuntersuchungen im Gartenexperiment 2009 gab es überzählige Pflanzen der Herkunft Berlin/Baumberge die für eine Wiederausbringung zur Verfügung standen. Die Population befindet sich derzeit in einem sehr guten Erhaltungszustand (10 000 Individuen), daher wurde an einer etwas abseits des Hauptvorkommens befindlichen Stelle eine Neuetablierung einer Teilpopulation durchgeführt, um den Verbund zwischen den Teilpopulationen zu fördern. Die 42 Pflanzen von *Silene chlorantha* wurden von der Firma „In-vitro-tec – Gesellschaft zur Pflanzenvermehrung für den Umweltschutz mbH“ am 21.10.2010 am Botanischen Garten Berlin abgeholt, in die Baumberge gebracht und dort im Rahmen einer größeren Ausbringung zusammen mit anderen gefährdeten Arten als Einzelpflanzen mit Wurzelballen ausgepflanzt. Die Maßnahme fand in Kooperation mit der Koordinierungsstelle Florenschutz Berlin, der Obersten Naturschutzbehörde Berlin und Herrn Lauterbach statt. Herr Lauterbach (BGBM) und Herr Meißner (Koordinierungsstelle Florenschutz) besichtigten die potentiellen Ausbringungsflächen und ihre Umgebung und legten einvernehmlich die Fläche fest, an der *Silene chlorantha* ausgebracht wurde (Meißner 2010b). Momentan wird von einer ~60%igen Überlebensrate der ausgebrachten Individuen ausgegangen. Bei langfristiger Etablierung des Bestandes kann dieser einen wichtigen Beitrag zum Verbund der Teilpopulationen liefern.

### *Silene otites* auf dem Windmühlenberg Berlin/Gatow

Die Koordination und Leitung der Ausbringungsmaßnahme lag bei der Koordinierungsstelle Florenschutz. Einbezogen in die Umsetzung der Maßnahme waren Herr Lauterbach (BGBM), die Oberste Naturschutzbehörde Berlin und der Landesbeauftragte für Naturschutz und Landschaftspflege. Die Ausbringung führten am Strandbad Wannsee Daniel Lauterbach und Bernd Machatzi sowie am Windmühlenberg Daniel Lauterbach, Bernd Machatzi und Justus Meißner durch. Herr Lauterbach (BGBM) stellte die 57 Pflanzen von *Silene otites* zur Verfügung. Am Windmühlenberg waren Vertreter der Unteren Naturschutzbehörde des Bezirks Spandau während der Ausbringung vor Ort. Der Ausbringungsort ist in die laufende Landschaftspflege durch die Untere Naturschutzbehörde eingebunden. Herr Lauterbach (BGBM), Herr Machatzi (Büro des Landesbeauftragten für Naturschutz und Landschaftspflege) und Herr Meißner (Koordinierungsstelle Florenschutz) besichtigten die in der Maßnahmebeschreibung dargestellten potentiellen Ausbringungsflächen und ihre Umgebung. Sie legten einvernehmlich die Fläche fest, an der *Silene otites* ausgebracht wurde (Meißner 2010a). Von den 57 Pflanzen die auf dem Windmühlenberg/Berlin-Gatow ausgebracht wurden, überlebten 36 Pflanzen. Es kann von einer positiven Bestandsstützung durch Maßnahme ausgegangen werden und somit konnte das Aussterben der Population vorerst verhindert werden. Für den Erhalt der Population sind jedoch dringend Biotoppflegemaßnahmen erforderlich.

### *Silene otites* am Strandbad Wannsee Berlin/Wannsee

Es wurden 240 Samen von 2009 und 200 Samen von 2007 für die Ausbringung am 26.10.2010 verwendet (es erfolgte keine Jungpflanzenkultivierung). Die 440 Samen von *Silene otites* wurden von Daniel Lauterbach (BGBM) zum Strandbad Wannsee gebracht und dort gemeinsam mit Bernd Machatzi (Büro des Landesbeauftragten für Naturschutz und Landschaftspflege) ausgebracht. Die Erfolgskontrolle im Herbst 2011 erbrachte 1 Jungpflanze. Das Ausbringen von Saatgut erwies sich als ungeeignet. Ein möglicher Grund für die geringe Erfolgsrate waren sicherlich die ungünstigen Witterungsbedingungen mit der ausgedehnten Frühjahrstrockenheit 2011, die Absterben der Keimlinge geführt haben könnte.

## **Fazit**

Abschließend lässt sich sagen, dass die gesetzten Ziele erreicht wurden. Wir konnten Empfehlungen für *ex-situ* Erhaltungsmaßnahmen für Botanische Gärten geben aber auch Naturschutzbehörden bei der aktiven Erhaltung von Populationen im Freiland unterstützen, sowie Weiterbildungsmaßnahmen begleiten. Im Rahmen des Projekts konnten die gewonnenen Ergebnisse einem breiten wissenschaftlichen und nichtwissenschaftlichen Publikum präsentiert werden. Aus wissenschaftlicher Sicht liefern die gewonnenen Ergebnisse neue und wichtige Erkenntnisse zur Optimierung der *ex-situ* Kultivierung in Botanischen Gärten und erweitern den Wissenstand über fragmentierte Pflanzenpopulationen gefährdeter Arten. Insbesondere die Projektarbeit in Kooperation mit den Schulen, ermöglicht u.a. durch die Finanzierung der Heidehofstiftung, leistet ein nachhaltigen, wertvollen Beitrag zum regionalem Artenschutz und der Sensibilisierung für naturschutzfachliche Themen bei Heranwachsenden. Verzögerungen im Zeitplan traten aufgrund schwieriger Witterungsbedingungen während der Projektlaufzeit auf, konnten jedoch durch die kostenneutrale Verlängerung der Projektlaufzeit wettgemacht werden. Im Rahmen des Projektes konnten bisher fünf wissenschaftliche Artikel publiziert werden und der Projektbearbeiter Daniel Lauterbach hat seine Dissertation an der Freien Universität Berlin eingereicht.

Die Projektarbeit mit den SchülerInnen des Carl-Friedrich-Gauß Gymnasium (C.F.G.) Frankfurt/Oder sowie die Kreuzungsversuche zur Erhöhung der genetischen Diversität in Erhaltungskultur werden auch über die Projektlaufzeit hinweg fortgesetzt werden. Ferner wird in einem weiterführenden Projekt, gefördert durch die DFG, der Einfluß veränderter Kultivierungsbedingungen auf die genetische Konstitution von *ex-situ* Populationen untersucht werden; hier werden die bisher gewonnenen Erkenntnisse einfließen können.

Die Wiederausbringungsmaßnahmen waren bis zum Projektende relativ erfolgreich, allerdings ist eine langfristige Evaluation zum Erfolg der Wiederausbringungsmaßnahmen im Rahmen befristet angelegte Projekte leider nicht möglich. Wir haben festgestellt, dass der Kenntnisstand zum konkreten Vorgehen der Ausbringung von Wildpflanzen am Naturstandort relativ gering ist. Erkenntnisse aus dem Garten- und Landschaftsbau lassen sich hierfür nur bedingt anwenden, da die Boden- und Klimabedingungen oftmals völlig unterschiedlich sind und die Pflanzen in der Regel andere Standortansprüche haben. Weiterführende Projekte in dieser Richtung wären für die Naturschutzbehörden von großem Interesse.