

# DNA-Nachweis: Die „tausendjährige“ Linde von Heede (*Tilia platyphyllos* SCOP.) ist ein einziges Individuum

HEIKE LIESEBACH und ELKE EWALD

## Zusammenfassung

Die „tausendjährige Linde“ in Heede/Emsland (Niedersachsen) ist wahrscheinlich deutschlandweit die Linde mit dem größten Stammumfang. Zur Beantwortung der Frage, ob sie aus einem Samen hervorgegangen ist oder ob es sich um verschiedene zusammengepflanzte Individuen handelt, wurden mehrere Proben mit DNA-Markern untersucht. Die Ergebnisse weisen auf ein einziges Individuum hin.

## Summary

The monumental lime tree in Heede/Emsland (Lower Saxony, Germany) is probably the tallest from its circumference. Several samples were analysed with DNA markers to answer the question, if the tree has originated from one seed or consists of multiple individuals. The results indicate one single individual.

Eine riesige Sommer-Linde (*Tilia platyphyllos* SCOP.) in Heede/Emsland (Niedersachsen) wird im Volksmund „Tausendjährige Linde“ genannt. Sie wurde am 25. April 2014 auf einer gemeinsamen Veranstaltung der DDG (Deutsche Dendrologische Gesellschaft) und der GDA (Gesellschaft Deutsches Arboretum) als Rekordbaum - Champion Tree gekürt, da sie, soweit bekannt, deutschlandweit die Linde mit dem größten Stammumfang (etwa 18 Meter) ist (Abb. 1 und 2). Die Höhe beträgt ca. 25 m und der Kronendurchmesser ca. 29 m (Quelle: Datenbank Champion Trees <http://www.ddg-web.de/>). Der knorrige Hauptstamm ist kurz und teilt sich fast von der Basis aus in 6 kräftige Stämme.

Das Alter der Linde wird auf ungefähr 600 Jahre geschätzt. Über Linden solchen Alters und die vermutete Geschichte dieser Linde schrieb H. ABELS aus Heede in einem Heimatkalender des Kreises Meppen von 1925: „... die Wahrscheinlichkeit spricht dafür, daß ihre Anpflanzung erst seit dem 15. Jahrhundert üblich geworden und bei den Adelssitzen und zum Teile auch in Ortschaften eine Art Sport mit ihnen getrieben wurde, nachdem man ein Mittel entdeckt hatte, sie in verhältnismäßig kurzer Zeit zu züchten. Dies scheint darin bestanden zu haben, daß man auf einen Haufen geeigneter Erde eine Anzahl junger Linden kreisförmig anpflanzte, die sich dann gleichmäßig entwickelten und untereinander sich mit ihren Wurzeln berührten und verwuchsen, wobei durch geeignete Einschnitte dafür gesorgt wurde, daß sich ein gemeinsamer Bast bildete. Je mehr die Verwurzelung fortschritt, desto mehr konnte die Erde entfernt werden und aus dem Wurzelgemisch wurde in einer Reihe von Jahrzehnten eine zusammenhängende Holzmasse, die den „Stamm“ bildete und ihrerseits wieder neue Wurzeln zu ebener Erde trieb.“ (ABELS 1925).

Ist diese Vermutung, die auch auf einer am Baum aufgestellten Tafel zu lesen ist, richtig? Mit morphologischen Merkmalen kann die Frage, ob die Heeder Linde als ein Individuum aus einem Samen entstanden ist, oder ob mehrere Bäume zusammen gepflanzt wurden und anschließend miteinander verwachsen sind, nicht beantwortet werden. In allen Teilen handelt es sich einheitlich um Sommer-Linde (*Tilia platyphyllos*). Hier kann nur eine genetische Untersuchung, mög-



Abb. 1: Die Linde von Heede. Foto: MIRKO LIESEBACH

lichtst mit DNA-Markern, Aufschluss geben. Aus diesem Grund haben DDG-Mitglieder, die Ende Dezember 2013 in Vorbereitung der Veranstaltung zur Kür des „Champion Tree“ 2014 vor Ort weilten, den Baum beprobt. Dabei wurden von jedem der 6 großen Stämme vom Weg ausgehend entgegen dem Uhrzeigersinn je 2 Zweige von ca. 30 cm Länge entnommen und später in das Thünen-Institut für Forstgenetik nach Waldsiedersdorf (Brandenburg) gebracht.

Für die Beantwortung der Frage, ob es sich bei der Linde von Heede um ein Individuum handelt oder um mehrere, genetisch verschiedene Individuen, müssen solche genetischen Marker angewendet werden, die eine Unterscheidung zwischen Individuen innerhalb einer Art erlauben. Die kürzlich für diese Baumart entwickelten sog. Mikrosatellitenmarker (PHUEKVILAI & WOLFF 2013) würden sich dafür gut eignen. Das Verfahren ist jedoch sehr teuer und konnte wegen der wenigen Proben einer Baumart, die sich nicht im aktuellen Untersuchungsspektrum des Thünen-Instituts für Forstgenetik befindet, nicht etabliert

werden. Deshalb wurde auf unspezifische Marker zurückgegriffen. Dafür ist es notwendig, eine Anzahl verschiedener Bäume der Sommer-Linde aus anderen Quellen als Referenzmaterial zur Verfügung zu haben. Dies soll sicherstellen, dass die verwendeten Marker auch wirklich geeignet sind, individuelle Unterschiede zu zeigen. DNA-Proben von solchem Referenzmaterial waren im Labor des Instituts bereits aus einer früheren Untersuchung vorhanden und konnten hier eingesetzt werden.

Die gewonnenen Zweige der Linde von Heede wurden frisch angeschnitten, in Wasser gestellt und im Gewächshaus angetrieben. Die nach einiger Zeit erscheinenden jungen Blättchen wurden als Probenmaterial eingefroren. Danach wurde die DNA nach einem Standardverfahren (modifiziert nach DUMOLIN et al. 1995) extrahiert. Da aus einem Zweig der beiden Zweige der Probe Nr. 6 kaum Blättchen trieben, wurde hier eine Kambiumprobe zur Wiederholung der DNA-Extraktion verwendet.

Nun wurden mehrere unspezifische Marker



Abb. 2: Die Linde von Heede, gestaltet von ELVI SCHMIDT

geprüft. Das zunächst getestete M13-Primerpaar nach DEGEN et al. (1995), das für ähnliche Fragestellungen bereits bei mehreren anderen Baumarten angewendet wurde (FLADUNG & ZIEGENHAGEN 1998), erbrachte jedoch kaum sichtbare Unterschiede zwischen den Sommerlinden-Referenzproben. Danach wurden sog. RAPD-Marker wie schon in der früheren Untersuchung von LIESEBACH und SINKÓ (2008) eingesetzt. Unter den damals verwendeten 16 Primern wurden 8 Primer für die Untersuchung der Linde von Heede ausgewählt, die potentiell geeignet sind, zwischen verschiedenen Individuen der Sommerlinde zu unterscheiden.

Die Abbildung 3 zeigt den genetischen Fingerprint als Beispiel, bei dem die Unterschiede zwischen den 4 Referenzproben der Sommerlinde am deutlichsten sichtbar sind. Damit ist gesichert, dass der Primer OPK20 individuelle Unterschiede innerhalb der Art zeigen kann. Die 12 Proben der Linde von Heede sind dagegen weitgehend identisch. Leichte Abweichungen zwischen den einzelnen Proben in der Intensität der Banden sind dabei unerheblich. Einige Unterschiede sind allerdings bei der Probe 6a zu erkennen, die aus Kambium gewonnen wurde. Die Probe 6b, ebenfalls vom Stamm 6, verhält sich jedoch wie die Proben der Stämme 1 bis 5. Kann die Probe 6a von einem anderen Genotyp stammen?

Hier zeigen sich nun die Nachteile der Anwendung unspezifischer DNA-Marker. Wahrscheinlich war der Zweig 6a mehr als die anderen 11 Zweige von Pilzen oder Bakterien befallen, was auch den verzögerten und schwachen Austrieb und die beginnenden Absterbeprozesse erklären könnte. Bei der DNA-Extraktion aus einer Gewebeprobe kann die DNA der Linde nicht von der DNA der begleitenden Mikroorganismen (Pilze und Bakterien) getrennt werden. Wenn artspezifische Marker für die Linde ver-

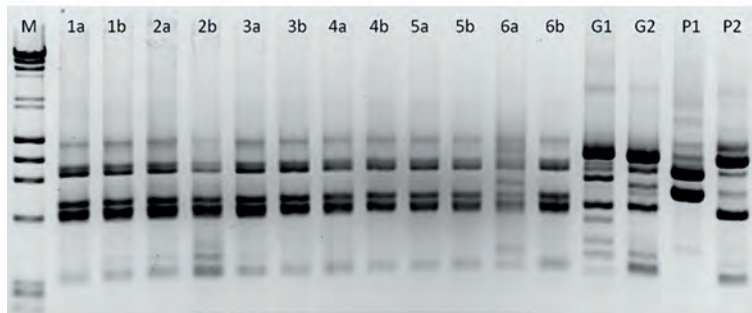


Abb. 3: Genetischer Fingerprint mit RAPD-Markern (Beispiel Primer OPK20) bei *Tilia platyphyllos*, Probenbezeichnung von links nach rechts: M = Molekulargewichtsstandard, 1a – 6b = Linde von Heede, Referenzproben G1 und G2 (Forstbotanischer Garten Göttingen), P1 und P2 (Bestand Pritzhagen im Revier Waldsiefersdorf)

wendet werden, spielen solche Beimischungen fremder DNA keine Rolle. Bei unspezifischen Primern jedoch können DNA-Abschnitte von Mikroorganismen ebenfalls zum Bandenmuster beitragen, insbesondere wenn solche Beimischungen einen größeren Anteil der Gesamt-DNA ausmachen.

Wenn sich die Linde von Heede aus Genotypen von verschiedenen Sämlingen zusammensetzen würde, so wie das ABELS 1925 vermutet hat, sollten auch verschiedene Bandenmuster zu finden sein. Die beiden Zweige, die jeweils von einem der 6 Stämme geschnitten wurden, müssten dann aber übereinstimmende Muster zeigen. Hier weist jedoch nur eine der beiden Proben vom Stamm 6 Abweichungen auf, die sich anders erklären lassen, während alle übrigen 11 Proben übereinstimmen. Das Ergebnis der genetischen Untersuchung spricht also dafür, dass die Linde von Heede ein einziges Individuum und aus nur einem Sämling hervorgegangen ist.

#### Literatur

- ABELS, H. (1925): Die Schärpenburg und ihre Riesenslinde bei Heede. Heimatkalender herausgegeben vom Kreise Meppen. [http://www.familie-hilling.de/emslanbuch/1925/1925\\_70.html](http://www.familie-hilling.de/emslanbuch/1925/1925_70.html)
- DEGEN, B.; ZIEGENHAGEN, B.; GILLET, E.; SCHOLZ, F. (1995): Computer-Aided Search for Codominant Markers in Complex Haploid DNA Bandings Patterns-A Case Study in *Abies alba* MILL. *Silv. Genet.* 44: 274–282.
- DUMOLIN, S.; DEMESURE, B.; PETIT, R.J. (1995): Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1253–1256.
- FLADUNG, M.; ZIEGENHAGEN, B. (1998): M13 DNA fingerprinting can be used in studies on phenotypic reversions of forest tree mutants. *Trees* 12: 310–314.
- LIESEBACH, H.; SINKÓ, Z. (2008): A contribution to the systematics of the genus *Tilia* with respect to some hybrids by RAPD analysis. *Dendrobiology* 59: 13–22.
- HUEKVILAI, P.; WOLFF, K. (2013): Characterization of Microsatellite Loci in *Tilia platyphyllos* (Malvaceae) and Cross-Amplification in Related Species. *Applications in Plant Sciences* 1: 1200386.

#### Autoren:

Dr. HEIKE LIESEBACH  
Thünen-Institut für Forstgenetik  
Sieker Landstraße 2  
22927 Großhansdorf  
E-Mail: [heike.liesebach@ti.bund.de](mailto:heike.liesebach@ti.bund.de)

ELKE EWALD  
Thünen-Institut für Forstgenetik  
Eberswalder Chaussee 3A  
15377 Waldsiedersdorf