Laut Schätzungen der International Union for Conservation of Nature and Natural Resources sind von den ca. 21.000 weltweit vorkommenden Baumarten ein Drittel akut bedroht. Um dieser akuten Bedrohung entgegenzutreten, ist in der Vergangenheit eine Vielzahl an Strategien, welche unter anderem den nationalen und internationalen Handel beschränken, entwickelt worden. Ein weltweit rechtlich bindendes Instrument ist die Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). Je nach Schutzbedürftigkeit werden die gefährdeten Hölzer in einem der drei Anhänge des Artenschutzübereinkommens gelistet. Um die hieraus resultierenden strengen Regularien zu erfüllen bzw. zu umgehen, werden sogenannte Substitutionshölzer gehandelt. Diese Hölzer zeichnen sich dadurch aus, dass sie in ihrer Textur und teilweise in ihren Eigenschaften stark den CITES-Hölzern ähneln. Diese Ähnlichkeit bietet aber auch die Möglichkeit, CITES-geschützte Hölzer als deren Substitutionshölzer auszuweisen, wodurch die Vollstreckungsbehörden getäuscht werden und die entsprechende Holzart noch stärker gefährdet wird. Aus diesem Grund ist die eindeutige Identifizierung der vorliegenden Holzart unabdingbar. Um eine Holzart zu identifizieren, kommen in den meisten Fällen Bestimmungsmethoden auf makroskopischer und mikroskopischer Ebene zum Einsatz. Ein Nachteil dieser Methoden besteht darin, dass einige CITES-Hölzer anhand dieser Techniken nur schwer bis gar nicht von deren Substitutionshölzern zu unterscheiden sind. Um dieser Problematik entgegenzutreten, sollte in dieser Arbeit ein genetischer Schnelltest entwickelt werden, der durch die Verwendung von spezifischen Oligonukleotiden bereits nach der Gelelektrophorese darüber Auskunft gibt, ob es sich um die angegebene Holzart handelt. Für die Erarbeitung solcher spezifischen Primer wurde die rDNA Internal Transcribed Spacer Region (ITS-Region) gewählt, da dieser genomische Marker bereits erfolgreich zur Identifizierung von Pflanzen, Pilzen und Tieren eingesetzt wurde. Die für die Entwicklung eines solchen Schnelltests erforderlichen Untersuchungen lassen sich in vier Aufgabengebieten zusammenfassen. (1) Entwicklung eines DNA-Extraktionssystems für schwierige Ausgangsmaterialien, wie altes oder bereits verarbeitetes Splint- und Kernholz. (2) Aufbau einer rDNA ITS-Sequenzdatenbank für CITES- und Substitutionshölzer. (3) Bereitstellung spezifischer Oligonukleotide zur Identifizierung der Holzart. (4) Validierung des entwickelten Schnelltests.

Für die Extraktion von DNA aus Ästen, Blättern und frischem Splintholz, erwies sich die Verwendung des DNeasy[®] Plant Mini Kits (Qiagen, Hilden) als vorteilhaft. Um aber auch aus Kernholz oder altem Splintholz DNA in einer Qualität und Quantität zu extrahieren, die eine Amplifikation der ITS-Region sicherstellt, wurden 14 DNA-Extraktionsmethoden untersucht

bzw. weiterentwickelt. Die Resultate zeigen, dass eine Modifikation des DNeasy[®] *mericon*[™] Food Kits (Qiagen, Hilden) ein DNA-Extraktionsprotokoll darstellt, welches eine DNA-Isolierung auch aus Kern- und Splintholz gewährleistet. Für den Aufbau der internen rDNA ITS-Sequenzdatenbank kam neben frischem Ast- und Blattmaterial, das von Botanischen Gärten zur Verfügung gestellt wurde, auch bereits extrahierte DNA zum Einsatz. Der Zugriff auf diese DNA wurde von verschiedenen Forschungseinrichtungen gewährt. Insgesamt sind durch die Verwendung dieser Ausgangsmaterialien 211 ITS-Bereiche erarbeitet worden. Diese 211 Sequenzen verteilen sich auf 9 Familien, 23 Gattungen sowie 53 Arten und repräsentieren sowohl CITES-Hölzer als auch deren Substitutionsarten. Auf Basis der Informationen der Sequenzdatenbank und der GenBank des National Center for Biotechnology Information wurden die interspezifischen Unterschiede der ITS-Sequenzen genutzt, um art- und gattungsspezifische Primer zu entwickeln. Diese Primer ermöglichen eine Identifizierung der Holzart ohne eine DNA-Sequenzierung. Für folgende Arten stehen artspezifische Primerpaare zur Verfügung: *Caesalpinia echinata* (CITES II), *C. ferrea*, *Cedrela fissilis* (CITES III), *C. odorata* (CITES III), *Dalbergia latifolia*, *D. nigra* (CITES I), *D. retusa* (CITES II), *D. sissoo*, *D. spruceana*, *Entandrophragma angolense*, *E. cylindricum*, *Guaiacum officinale* (CITES II), *G. sanctum* (CITES II), *Hymenaea courbaril*, *Intsia bijuga*, *I. palembanica*, *Machaerium scleroxylon*, *Swietenia macrophylla* (CITES II), *S. humilis* (CITES II) und *S. mahagoni* (CITES II). Auf der Seite der gattungsspezifischen Primer erfolgte für folgende Gattungen die Entwicklung von Primerpaaren: *Afzelia*, *Bowdichia*, *Bulnesia*, *Carapa*, *Endospermum*, *Guaiacum* (CITES II), *Handroanthus*, *Khaya*, *Myrocarpus* und *Neolamarckia*. Die Tatsache, dass für einige der untersuchten Arten kein spezifisches Primerpaar vorhanden ist, liegt darin begründet, dass aufgrund der eigenen Sequenzen und denen der internationalen Datenbanken auf zu wenig Sequenzinformationen zurückgegriffen werden konnte, um spezifische Sequenzabschnitte zu definieren. Für den mit spezifischen Primern arbeitenden Schnelltest erfolgten insgesamt drei Validierungen (zwei Blindtests mit insgesamt 61 Proben und eine Validierung der *mericon*[™]-Extraktion), die alle den Nachweis erbrachten, dass mit dieser Methode die Möglichkeit besteht, Hölzer eindeutig zu identifizieren.

Die Untersuchungen dieser Arbeit haben deutlich gezeigt, dass es sich bei der ITS-Region um einen Marker handelt, der ausreichend interspezifische Unterschiede aufweist, um eine Identifizierung auf Artebene zu gewährleisten. Zudem bietet das modifizierte DNeasy[®] *mericon*[™] Food Kit ein Protokoll, anhand dessen die DNA-Isolierung aus den im Handel vorkommenden Ausgangsmaterialien durchführbar ist. Die Anwendung der spezifischen

Primer sichert weiterhin eine schnelle und kostengünstige Identifizierung der für den CITES-Vollzug relevanten Holzarten. So wird nicht nur der CITES-Vollzug entscheidend unterstützt, sondern es steht ein weiteres Werkzeug zur Verfügung, um der akuten Bedrohung durch den illegalen Holzhandel entgegenzutreten.