

**Überprüfung des taxonomischen Status
sowie klonaler Strukturen
einer Auswahl potentieller Schwarzpappeln (*Populus nigra*)
im Bereich Müggendorf-Wittenberge (Brandenburg)**



vorgelegt von Dipl.-Biologin Eva Mosner

AG Naturschutzbiologie
Fachbereich Biologie
Der Philipps-Universität Marburg

Zielstellung:

Ziel der Untersuchung war es für einzeln ausgewählte, potentielle Schwarzpappeln den genetischen Status, d.h. die Artzugehörigkeit sowie die genetische Identität (Individuum vs. Klon) festzustellen, um diese bei entsprechender Eignung (Schwarzpappelidentität sowie genetische Individualität) für die Stecklingsvermehrung im Sinne des Forstvermehrungsgesetzes nutzen zu können.

Einleitung:

Die eurasische Schwarzpappel zählt heute zu den gefährdeten Baumarten in Europa (Winfield *et al.* 1998). In der Roten Liste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands ist sie in der Gefährdungskategorie 3 (gefährdet) geführt, in der Roten Liste Brandenburg sogar in der Kategorie 2 (stark gefährdet). Für die Gefährdung sind im Wesentlichen zwei Faktoren verantwortlich: 1. Die Zerstörung der Auwälder und 2. der Anbau von Hybridpappel-Klonen (Heinze 1997).

Bezogen auf die Zerstörung des Lebensraums besteht neben der Dezimierung der Populationen vor allem in der Fragmentierung der Bestände ein nachhaltiges Problem, da hierdurch die Anzahl von Paarungspartnern für diese diözische Art sinkt und somit der Genfluss innerhalb und zwischen den Populationen stark beeinträchtigt wird (Heinze 1998b). Die Folge ist ein Verlust an genetischer Diversität bei der einheimischen Schwarzpappel. Die daraus resultierende Gefährdung wird durch mögliche Introgression von Hybridpappeln noch zusätzlich verschärft.

Hybridpappeln werden seit Mitte des 18. Jahrhunderts wegen ihres schnellen Wachstums in Deutschland angepflanzt (Barsig 2004). Es handelt sich dabei vorwiegend um Kreuzungen aus einheimischen und amerikanischen Schwarzpappeln, die auch als Kanadapappel (*Populus x canadensis*) bezeichnet wird. Bei den einheimischen Schwarzpappeln kann Introgression, also das erfolgreiche Einkreuzen von Hybridpappeln, in den Folgegenerationen eine verminderte Vitalität bewirken (sog. „hybrid breakdown“) (Heinze 1998b). Darüber hinaus wird dieser Zustand noch verschärft, da beim Anbau von Schwarzpappel-Varietäten, wie z.B. der Pyramiden-Pappel (*P. nigra var.italica*) oftmals nur einzelne Klone Verwendung finden. Dies kann zu verstärkten Inzuchteffekten führen, die ebenfalls die genetische Vielfalt stark einschränken (Heinze 1998a).

Aus diesen Gründen ist eine Erhaltung der genetischen Ressourcen von *P. nigra* von äußerster Wichtigkeit, da andernfalls ein Verlust der reinen Art zu befürchten ist. Da mittels morphologischer Merkmale eine Artbestimmung nicht eindeutig durchzuführen ist, ist es unumgänglich für selbige eine Typisierung auf Basis molekularbiologischer Marker vorzunehmen.

Methoden:

Im Frühjahr 2007 wurden an insgesamt 36 potentiellen Schwarzpappeln Blattproben für die genetischen Analysen im Bereich zwischen Cumlosen und Wittenberge auf brandenburgischer Seite entnommen (siehe Abb. 1). Da die Zielstellung dieser Untersuchung das Feststellen der Artzugehörigkeit bzw. die genetische Eignung aus Sicht von Diversitätsmerkmalen war und des weiteren die Nutzung der Bäume als Mutterklone im Vordergrund stand, wurden Bäume nach augenscheinlich Schwarzpappel-typischen, morphologischen Merkmalen in einem zusammenhängenden Gebiet ausgewählt.

Zur Feststellung der Art sowie der Identität der Bäume wurden die genetischen Analysen auf Basis von sieben nuklearen Mikrosatelliten durchgeführt: WPMS05, WPMS09 (van der Schoot *et al.* 2000), WPMS14, WPMS18 und WPMS20 (Smulders *et al.* 2001), sowie PMGC14 und PMGC2163 (Poplar Molecular Genetics Cooperative SSR Database). Dabei dienen WPMS05 und WPMS14 ausschließlich der Untersuchung der klonalen Struktur, wohingegen die übrigen Marker darüber hinaus zur Bestimmung des taxonomischen Status geeignet sind. Die Eignung der Marker für die vorliegende Untersuchung wurde durch Expertisen aus einem in der AG Naturschutzbiologie angesiedelten Projekt geliefert (Modellierung des Genflusses bei der Pappel in einer realen Landschaft im Verbundprojekt: "Biologische Sicherheit nutzbarer transgener Gehölze" gefördert durch das BMBF). Dabei wurde eine Identitätswahrscheinlichkeit von $1.01 \cdot 10^{-7}$ beschrieben (Rathmacher *et al.* 2007). Diese gibt an, wie wahrscheinlich es ist, dass zwei zufällig ausgewählte Individuen ohne jegliche Verwandtschaftsverhältnisse dennoch den gleichen Genotyp besitzen. Bei einer Wahrscheinlichkeit von 1 zu 10.000.000 lassen sich somit Individuen und Klone mit sehr hoher Sicherheit identifizieren.

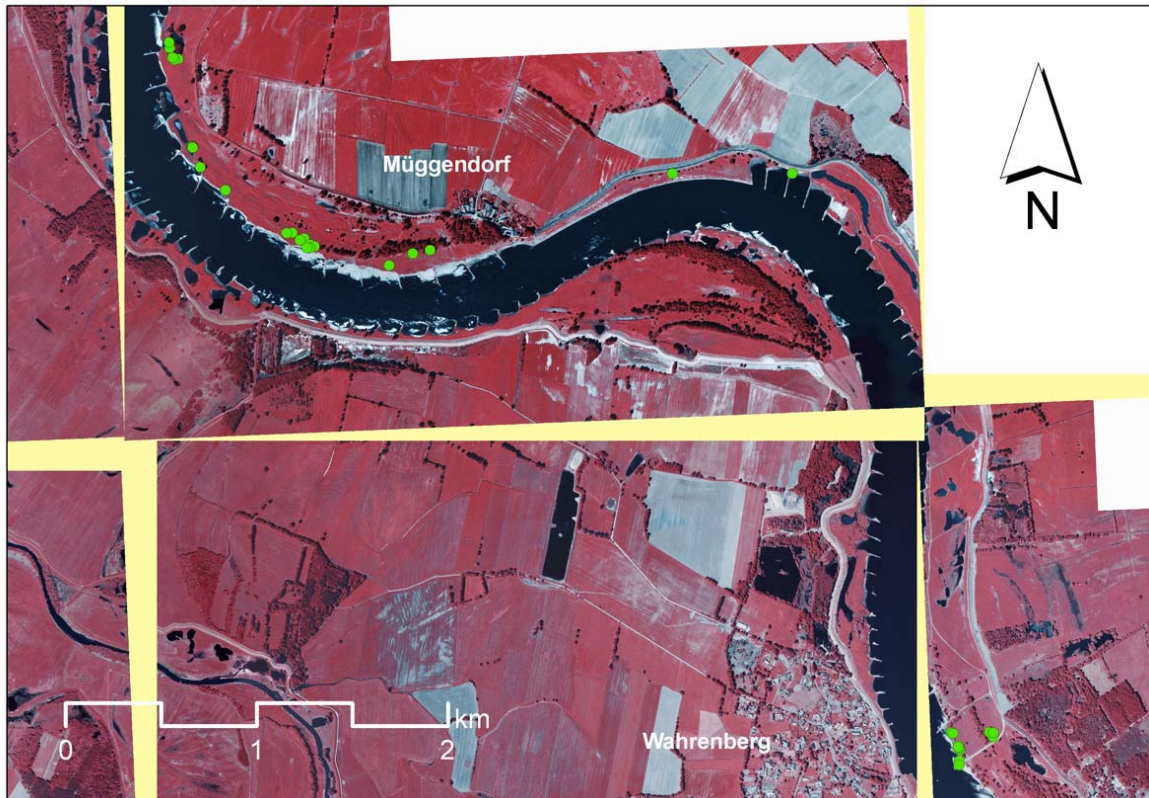


Abb. 1: Übersicht der beprobten, potentiellen Schwarzpappeln. Jeder grüne Punkt markiert einen Baum.

Auswertung:

Alle Auswertungen wurden mit dem Programm GeneA1Ex (Peakall & Smouse 2006) ausgeführt. Diese beinhalteten die Identifizierung der Klone sowie die Berechnung der populationsbiologischen Kennwerte. Die Identifizierung von Hybridpappeln wurde auf Basis der bekannten Allellängen unternommen.

Ergebnisse:

1. Taxonomischer Status

Insgesamt konnte für vier der 36 Pappeln der Hybridstatus festgestellt werden (siehe Tab. 1 und Abb. 2). Somit sind diese Bäume von der Werbung von Pflanzenstecklingen für die weitere Ausbringung ausgeschlossen.

Tab. 1: Ermittelte Allellängen für alle Proben, aufgeteilt nach Mikrosatelliten-Markern. Die Zahlen in Klammern beschreiben die Allellängen für die diagnostischen Allele zum Nachweis von Hybriden. Proben-Nr. 11, 12, 36 und 38 weisen entsprechende Allele auf. Die bunte Schriftfarbe markiert genetisch identische Klone (Proben 25-28 → Klon 1, Proben 29 & 41 → Klon 2)

Nr.	WPMS 05		WPMS 09 (234)		WPMS 14		WPMS 18 (220)		WPMS 20 (218,224)		PMGC 14 (193,199)		PMGC 2163 (185, 187)	
1	280	280	257	297	249	254	229	247	206		203	206	240	256
2	280	281	257	297	249	254	247		242	249	203	206	240	256
3	280	281	257	297	249	254	247		242		206		240	256
4	281	285	257		232	260	235	247	242	249	203		242	256
5	273	285	257	266	249	254	229		242		203		240	252
7	281	285	257		260	268	229		230		215		240	242
8	281	285	257		260	268	226	229	230	255	215		240	242
9	281	285	257		260	268	229		230	255	215		240	242
10	272		257		260	268	229		230	255	215		240	242
11	285	289	260	297	252	260	235	247	224	242	206	210	233	250
12	272		257	291	249		229	235	224	243	206	215	240	242
13	272		245	297	249	254	229		206		206		222	242
14	289		257	260	249		229		206		203	206	222	252
15	289		257	260	249		229	247	242	255	203	206	222	252
18	281		255	257	232	268	229	241	243		203	206	242	
19	272	285	257	264	252	268	235	247	236	249	206	209	250	256
20	285	294	255	297	232	268	241	244	242		203	206	240	242
21	285		257	264	260	280	244	247	206		215		226	242
23	285	294	257	297	249	268	235	247	242		203	206	222	
25	285	289	257	297	249		235	247	242		206	209	242	250
26	285	289	257	297	249		235	247	242		206	209	242	250
27	285	289	257	297	249		235	247	242		206	209	242	250
28	285	289	257	297	249		235	247	242		206	209	242	250
29	273	289	257	260	249	260	235		242	255	206	212	230	240
30	281	289	257		249	260	229		209		212	215	240	243
31	281	295	257	297	260	268	226	229	242	255	206	216	240	256
32	287	294	255	257	249	268	229		230		203	206	240	256
33	281	294	257		254	268	247		242	249	206	206	242	256
34	277	281	257	269	249	254	229	247	255		206	210	240	250
35	289		257	260	249		247		242	255	215	218	222	
36	287	294	257	264	249	254	247		224	243	206	224	233	258
37	281		256	260	254	260	241	247	236	242	215	218	242	256
38	289	294	257	297	254	268	229		224	242	203	206	222	
39	281	294	255	257	249	254	229		242	249	203	209	230	242
40	281		255	257	232	249	229	235	206	209	209	215	240	250
41	273	289	257	260	249	260	235		242	255	206	212	230	240

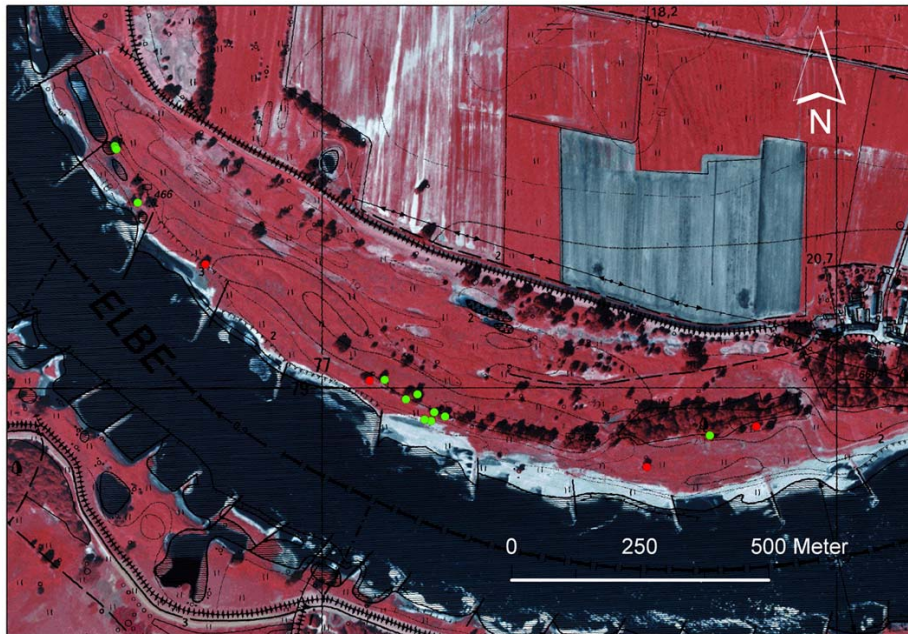


Abb. 2: Detailsansicht der Position der gefundenen Hybridpappeln. Rote Punkte markieren Hybridpappeln (*P. x canadensis*), grüne Punkte reine Schwarzpappeln (*P. nigra*).

2. Klonale Strukturen

Es konnten für die 36 Pappeln zwei Klongruppen mit jeweils zwei bzw. vier genetisch identischen Individuen ausgemacht werden (siehe Tab. 1 und Abb. 3). Bei den Klonen handelte es sich um reine Schwarzpappeln (*P. nigra*). Deswegen ist für die weitere Stecklingswerbung jeweils ein Baum aus der jeweiligen Klongruppe nach Eignung aus forstlichen Standpunkten auszuwählen.

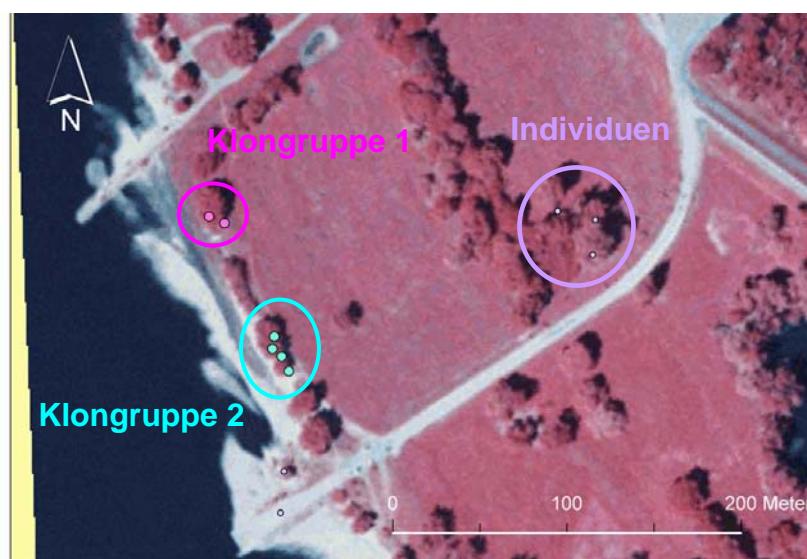


Abb. 3: Räumliche Lage der Klone sowie dreier genetisch unterschiedlicher Individuen von *P. nigra*

Darüber hinaus sind in Tabelle 2 populationsbiologische Kennwerte für die untersuchten Bäume aufgeführt. Hier zeigt sich, dass trotz der relativ geringen Stichprobengröße eine große Anzahl an Allelen vertreten ist, wenn auch in sehr unterschiedlichen Häufigkeiten (Vergleich N_a mit N_e). Bezogen auf die Heterozygotiegrade lassen sich nur bedingt Aussagen ableiten, da Art und Umfang der Probennahme wenig Rückschlüsse auf die populationsgenetische Struktur zulassen. Trotzdem kann auch hierfür festgehalten werden, dass eine vergleichsweise große Zahl an Heterozygoten vertreten ist.

Tab. 2: Populationsgenetische Kennwerte der untersuchten Bäume. (N =Stichprobengröße, N_a = Anzahl Allele pro Locus, N_e = effektive Anzahl Allele pro Locus, H_o = beobachteter Heterozygotiegrad, H_e = erwarteter Heterozygotiegrad nach Hardy-Weinberg)

	WPMS 05	WPMS 09	WPMS 14	WPMS 18	WPMS 20	PMGC 14	PMGC 2163
N	36	36	36	36	36	36	36
N_a	10	10	7	6	9	9	11
N_e	6.0	2.9	3.9	3.4	4.8	4.3	6.0
H_o	0.694	0.806	0.778	0.528	0.528	0.722	0.889
H_e	0.833	0.657	0.743	0.706	0.791	0.765	0.833

Bewertung und Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich festhalten, dass sich von den 36 beprobten Bäumen 28 dazu eignen ($36 - 4 \text{ Hybride} - (6-2 \text{ Klone}) = 28$ Individuen), als Mutterklone zur Werbung von Stecklingsmaterial verwandt zu werden. Für 32 der beprobten Bäume konnte eindeutig der *P. nigra* -Status ermittelt werden. Darüber hinaus waren innerhalb der 32 reinen Schwarzpappeln 2 Klongruppen zu identifizieren. Für diese Bäume lag die klonale Struktur nahe, da sie, offensichtlich angepflanzt, alle in Reihe standen.

Die verbleibenden 32 Individuen (30 + je 1 Individuum aus den beiden Klongruppen) eignen sich prinzipiell alle für die Stecklingswerbung aus genetischer Sicht. Sollte, bezogen auf die Gesamtzahl der Bäume, aus forstlicher Sicht nur eine Auswahl der Bäume zur Werbung in Betracht gezogen werden, so ist sich dabei an den individuellen, genetischen Mustern zu orientieren, d.h. es sollten diejenigen Individuen ausgewählt werden, die die größte Zahl an heterozygoten Loci aufweisen (siehe Tab. 1).

Referenzen

- Barsig, M., (2004) Vergleichende Untersuchungen zur ökologischen Wertigkeit von Hybrid- und Schwarzpappeln (Literaturrecherche). Im Auftrag der Bundesanstalt für Gewässerkunde Ref. U3. Internet-Veröffentlichung: www.TU-Berlin.de/ZEK/kubus
- Heinze, B. (1997) A PCR marker for a *Populus deltoides* allele and its use in studying introgression with native European *Populus nigra*. *Belgian Journal of Botany* 129:123-130.
- Heinze B. (1998a) Molekulargenetische Unterscheidung und Identifizierung von Schwarzpappeln und Hybridpappelklonen. Forstliche Versuchsanstalt Wien/ Waldforschungszentrum. FBVA Berichte, 105
- Heinze B. (1998b) Erhaltung der Schwarzpappel in Österreich - forstwirtschaftliche , genetische und ökologische Aspekte. FBVA Berichte, 106
- Peakall, R., and P. E. Smouse. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288-295.
- Rathmacher, G., Niggemann, M., Wypukol, H., Gebhardz, K., Ziegenhagen, B. & Bialozyt, R. (2007) High molecular standards necessary for individual/clone identification in gene flow and species interaction studies, *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, Band 37, S. 223
- Smulders, M. J. M., J. van der Schoot, P. Arens, and B. Vosman (2001) Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). *Molecular Ecology Notes* 1:188-190.
- van der Schoot, J., M. Pospiskova, B. Vosman, and M. J. M. Smulders (2000) Development and characterization of microsatellite markers in black poplar (*Populus nigra* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 101:317-322.
- Winfield, M. O., G. M. Arnold, F. Cooper, M. Le Ray, J. White, A. Karp, and K. J. Edwards (1998) A study of genetic diversity in *Populus nigra* subsp. *betulifolia* in the upper severn area of the UK using AFLP markers. *Molecular Ecology* 7:3-10.