

BERICHT

Institut für Forstgenetik des vTI

in Zusammenarbeit mit der Firma

Plant Genetic Diagnostics

und den

Landesforsten Mecklenburg-Vorpommern

***„Genetische Analyse Europäischer Schwarzpappelbestände
(Populus nigra L.) im Naturpark Elbetal, Meckl.-Vorpommern“***

von

A.M. Höltken , M. Fladung & B. Degen



Johann Heinrich
von Thünen-Institut

Bundesforschungsinstitut
für Ländliche Räume, Wald
und Fischerei

Institut für Forstgenetik
(<http://www.vti.bund.de>)

Sieker Landstraße. 2, 22927 Großhansdorf, Germany
Tel.: +49-4102-696101 FAX: +49-4102-696200
E-Mail: fg@vti.bund.de

Großhansdorf, Dezember 2008

Zusammenfassung:

Im Zuge der Einführung von Hybriden (*Populus x canadensis*) zwischen der europäischen (*Populus nigra* L.) und der amerikanischen Schwarzpappel (*P. deltoides*) im 17. Jahrhundert muss die genetische Integrität dieser Art durch Hybridisierung und Introgression in Frage gestellt werden. Deshalb erteilten die Landesforsten Mecklenburg-Vorpommern den Auftrag zur molekulargenetischen Untersuchung von Schwarzpappelverjüngungen entlang der Elbe im Naturpark Elbetal. Es handelt sich um jeweils 10 Verjüngungsproben aus 12 verschiedenen Beständen. Anhand eines nuklearen (WIN3, STS-Marker) und eines plastidären Genmarkers (*trnD/trnT*-Region) wurde eine Einschätzung der Artreinheit der dortigen Schwarzpappel-Vorkommen vorgenommen.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass keine der eingesandten Proben genetische Eigenschaften der amerikanischen Schwarzpappel (*P. deltoides*) aufweisen. Es handelt sich weder um vegetative oder generative Abkömmlinge (Samen) der mütterlichen Linien der artreinen amerikanischen Schwarzpappel und ihren Hybriden (*P. x canadensis*), noch konnten Rückkreuzungen über Polleneintrag zwischen der europäischen Schwarzpappel (als ♀ Elter) und der amerikanischen *P. deltoides* (als Pollenspender) nachgewiesen werden. Es ist also mit hoher Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass es sich bei den hier stichprobenhaft untersuchten Beständen um reine europäische Schwarzpappel-Vorkommen (*P. nigra*) handelt.

Einleitung

Als Ursache für die starke Gefährdung unserer einheimischen Schwarzpappel-Bestände ist eine Kombination aus ökologisch-genetischen Faktoren verantwortlich. Flussbegradigungen als auch die Nutzung ehemaliger Auenwaldlandschaften für landwirtschaftliche Zwecke haben natürliche Lebensräume der Schwarzpappel sehr stark dezimiert, so dass heute nur noch sehr kleine und fragmentierte Reliktpopulationen dieser Baumart zu finden sind. Aber nicht nur die Zerstörung der Lebensräume, auch die genetische Integrität der Art ist gefährdet. Denn bereits im 17. Jahrhundert wurden Hybriden (*Populus x canadensis*) zwischen der europäischen und der amerikanischen Schwarzpappel (*Populus deltoides* Bartr. Ex Marsh.) angebaut und genutzt (v. WÜHLISCH 2006). In diesem Zusammenhang sind verschiedene genetische Risikoszenarien vorstellbar (ZIEGENHAGEN et al. 2007):

- a) Vegetative Vermehrung könnte zu einer unkontrollierten Ausbreitung dieser F1-Hybriden, auch in heimische Schwarzpappelpopulationen, geführt haben.
- b) Aufgrund der Fertilität der *Populus x canadensis* F1-Hybriden ist die Produktion von F2-Hybriden und deren Ausbreitung über Samen denkbar.
- c) Reziproke Rückkreuzungen zwischen *P. x canadensis* und *P. nigra* können nicht ausgeschlossen werden.

Im Auftrag der Landesforsten Mecklenburg-Vorpommern (Betriebsteil Forstplanung, Versuchswesen, Forstliche Informationssysteme) sollte hier im Zuge des Schutzes und der Erhaltung heimischer Schwarzpappelvorkommen deren Artreinheit im Naturpark Elbetal untersucht werden.

Methoden

Material: Knospenmaterial aus Verjüngungen der Schwarzpappel wurden durch Mitarbeiter der Landesforsten Mecklenburg-Vorpommern erworben und an das Institut für Forstgenetik des vTI gesandt. Insgesamt wurden 12 Schwarzpappelvorkommen mit jeweils 10 Individuen

beprobte (Gesamtprobenzahl: 120 Proben). Das Material wurde unverzüglich nach der Ankunft in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -20°C eingelagert.

DNA-Extraktion: Die DNA aus Knospen wurde ausschließlich nach dem Protokoll von DUMOLIN *et al.* (1995) extrahiert (Lysispuffer: ATMA B (Alkyltrimethylammoniumbromid); Dichlormethan zur Fällung von Verunreinigungen).

Genmarker: Die Kombination zweier diagnostischer Marker mit unterschiedlichen Vererbungseigenschaften wurde für die Einschätzung genetischer Introgression von der amerikanischen in die europäische Schwarzpappel herangezogen. Ein maternal vererbter Chloroplastenmarker (nicht kodierende Region zwischen den Genen *trnD-trnT*) wurde eingesetzt, um alle Hybriden zu determinieren, die von der mütterlichen Linie *P. deltoides* / *P. x canadensis* abstammen (Primersequenzen nach DEMESURE *et al.* 1995). Ein nuklearer DNA-Marker wurde verwendet, um potentielle Rückkreuzungen (*P. nigra* als ♀ Elter und *P. deltoides* oder *P. x canadensis* als Pollenspender) nachzuweisen (HEINZE 1998, ZIEGENHAGEN *et al.* 2007).

Ergebnisse und Diskussion

WIN3-Marker: Dieser Kern-DNA-Marker gilt als diagnostisch für die Unterscheidung reiner Arten der europäischen bzw. amerikanischen Schwarzpappel. Die reine *P. nigra* ist homozygot für ein Allel mit einer Fragmentgröße von 165 Basenpaaren (bp), *P. deltoides* ist homozygot für ein Fragment mit 265 bp. F1-Hybriden (*P. x canadensis*) wären demzufolge heterozygot (165/265 bp). Bei allen eingesandten Proben aus den 12 Schwarzpappelverjüngungen konnten ausschließlich Homozygote mit Allel 165 nachgewiesen werden. Da nicht ein einziges Allel mit 265 bp in den Stichproben gefunden werden konnte, gibt dieser Marker einen ersten deutlichen Hinweis darauf, dass es sich hier mit großer Wahrscheinlichkeit um artreine Schwarzpappelverjüngungen, die nicht aus Rückkreuzungen mit *P. x canadensis* Vorkommen stammen.

***trnD-trnT*-Marker (Chloroplastengenom):** Das Chloroplasten-Genom wird ausschließlich maternal vererbt, so dass dieser Marker die vegetative und generative Ausbreitung von *P. x canadensis* (mit *P. deltoides* als Mutter) bzw. reinen *P. deltoides* Beständen nachweist. Da auch dieser Marker bei allen Proben die Merkmale der reinen europäischen Schwarzpappel (*P. nigra*) aufweist, kann davon ausgegangen werden dass keine Samenausbreitung aber auch keine vegetative Vermehrung über Wurzelbrut aus Hybridvorkommen stattgefunden hat.

Schlussfolgerungen

Auch wenn bei Einzelindividuen der vermeintlichen europäischen Schwarzpappel nur bedingt Aussagen über genomische Introgression aus Hybridvorkommen (*P. x canadensis*) gezogen werden können, so ergibt die Kombination aus einem diagnostischen Kern- sowie cpDNA-Marker innerhalb von Populationen recht zuverlässige Möglichkeiten der Einschätzung. In den Verjüngungsstichproben aus den zwölf Schwarzpappelvorkommen konnte nicht eine einzige genetische Variante der amerikanischen Schwarzpappel determiniert werden. Deshalb ist davon auszugehen, dass eine Kontamination der Europäischen Schwarzpappel (*P. nigra*) über Pollen- und Sameneintrag oder auch über vegetative Ausbreitung aus Hybridpappelbeständen in den hier untersuchten Vorkommen mit größter Wahrscheinlichkeit auszuschließen ist.

Literatur

DEMESURE B., SODZI N. UND R.J. PETIT (1995): *A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants*. Molecular Ecology 4, 129-131.

DUMOLIN S., DEMESURE B. UND R.J. PETIT (1995): *Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR-method*. Theoretical and Applied Genetics 91: 1253-1256.

HEINZE B. (1998): *Molekulargenetische Unterscheidung und Identifizierung von Schwarzpappeln und Hybridpappelklonen*. FBVA-Berichte, Band 105, Wien.

V. WÜHLISCH G. (2006): *Erhaltung der genetischen Vielfalt der Schwarzpappel*. Berichte der Bayerischen Landesanstalt für Wald- und Forstwirtschaft, LWF Wissen 52, S. 46-59.

ZIEGENHAGEN B., GNEUSS S., RATHMACHER G., LEYER I., BIALOZYT R., HEINZE B. UND S. LIEPELT (2008): *A fast and simple genetic survey reveals the spread of poplar hybrids at a natural Elbe river site*. Conservation Genetics