### **GUTACHTEN**

## betreffend Probenmaterial von Schwarzpappel-Sämlingen vom Unteren Inn in Oberösterreich

für Dr. Josef Eisner, Technisches Büro für Biologie, Grünmarkt 1, 4400 Steyr,

sowie Ing. Mag. Dr. Johann Reschenhofer, BH Braunau

# Molekulargenetische Prüfung der biologischen Art, der Identität und der Verwandtschaft

Dipl.-Ing. Dr. Berthold Heinze Renate Slunsky Bundesforschungszentrum für Wald (BFW) Institut für Waldgenetik

Wien, im Dezember 2014



#### I. Beauftragung, Aufgabenstellung

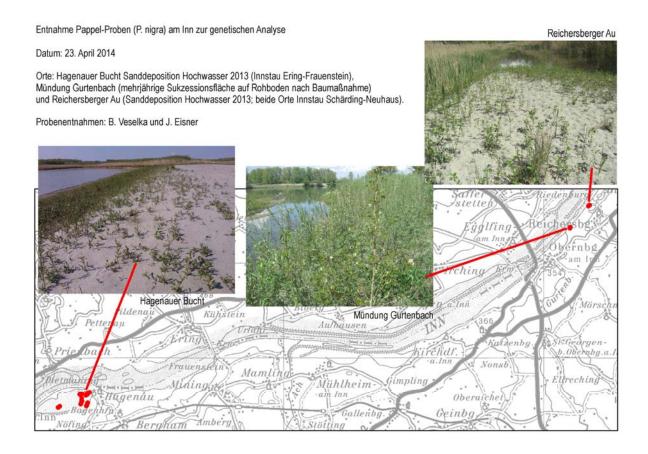
Eine erste Anfrage über die Möglichkeit, Schwarzpappel-Sämlinge untersuchen zu lassen, erfolgte durch Herrn Dr. Reschenhofer im April 2014. Anfang Mai 2014 wurden dann die Proben versandt und der Auftrag zur biochemisch-genetischen Untersuchung am BFW erteilt.

Die Aufgabe war zu prüfen, ob es sich um (art-)reine Schwarzpappeln handelt, und wie die genetische Diversität zu beurteilen ist. Im Wesentlichen handelt es sich um so genannten Anflug, also einjährige, frisch gekeimte Sämlinge auf den neu entstandenen Sedimentbänken nach dem Hochwasser 2013 am Inn.

Auf Grund der bereits in Vorjahren durchgeführten Untersuchungen mit Schwarzpappel-Material aus Oberösterreich (Heinze 2010, Heinze und Slunsky 2012a und 2012b) konnte somit auch ein über das unmittelbare Untersuchungsmaterial hinausgehender Befund erarbeitet werden.

Die Proben stammen von drei Standorten, deren Lage im von Dr. Eisner und Dr. Reschenhofer übermittelten Lageplan wiedergegeben ist (Abbildung 1).

#### Abbildung 1: Lageplan der Sämlinge am Unteren Inn



Es handelte sich um Proben von 36 solchen Sämlingen, die jeweils nur mit einer Nummer bezeichnet waren. Gesondert wurden noch Proben von drei Altbäumen übermittelt, die innaufwärts stehen und somit potentiell eine Quelle der Sämlinge sein könnten. Eine zusätzliche Aufgabenstellung war deshalb auch zu überprüfen, ob unter diesen drei Bäumen welche als Eltern der Sämlinge in Frage kommen.

#### II. Methodik der Labor-Untersuchungen und der Berechnungen

Für diese Untersuchungen wurde die Mikrosatelliten-Methode gewählt, die in den erwähnten früheren Untersuchungen mit Material dieser Baumart aus Oberösterreich erfolgreich war (Heinze 2010; Heinze und Slunsky 2012a, 2012b). Diese Methode liefert einerseits Fingerabdrücke" der einzelnen Individuen. auf "genetische Grund Verwandtschaftsbeziehungen erschlossen werden können (z.B. "Vaterschaft" Elternschaft, also Abstammung von Sämlingen von vorgegebenen Mutterbäumen). Andererseits haben die zitierten Untersuchungen auch gezeigt, dass manche der Varianten in den Mikrosatelliten bezeichnend für die Einkreuzung von "Kanadapappeln" sind, also kultivierten Sorten, die meist als F1-Generation genetische Anteile der nordamerikanischen Populus deltoides als auch der einheimischen Populus nigra tragen.

Sieben solche Mikrosatelliten-Marker sind im Labor des BFW für Pappel-Untersuchungen fest etabliert. In einem laufenden EU-Projekt werden unter anderem Daten über Pappel-Untersuchungen mit diesen Markern mit mehreren Labors in Europa verglichen; sie stellen daher eine solide methodische Grundlage dar (Heinze et al. 2014 unveröffentlicht).

Die einzelnen Analysenschritte sind dabei:

- 1. Extraktion (Reinigung der DNA aus dem biologischen Material (Blatt- oder Knospenmaterial)
- 2. Biochemische Vervielfältigung (Amplifikation) der zu testenden Marker (DNA-Abschnitte)
- 3. Auftrennung der vervielfältigten DNA-Stücke mittels Kapillarelektrophorese, um die genauen Längen der Marker als Unterscheidungsmerkmal zu gewinnen
- 4. Vergleich dieser Rohdaten (Längen) am Computer; Erstellen der genetischen Fingerabrücke für jede Pflanze
- 5. Analysen (meist als Berechnungen) und Vergleiche zur Artreinheit, genetischen Vielfalt (Diversität) und Verwandtschaft

Wie im Vergleich mehrerer europäischer Labors ersichtlich (Heinze et al. 2014 unveröffentlicht), sind viele dieser Schritte einerseits Standard ("state of the art") geworden, andererseits können kleine Unterschiede in den verwendeten Chemikalien und Analysengeräten zwar unterschiedliche Rohdaten liefern, andererseits ergeben nachfolgende genetische Auswertungen im Regelfall identische Schlussfolgerungen in Bezug auf die gegebenen Fragestellungen.

Die detaillierten Abläufe sind in Analysenbüchern festgehalten (Kopien sind auf Anfrage erhältlich). Im Wesentlichen wurden für die Analyse der Mikrosatelliten gleiche Chemikalien, Analyseprotokolle und Analysengeräte wie bei den früheren Untersuchungen (Heinze und Slunsky 2012 a, 2012b) verwendet.

Die Daten wurden in erster Linie auf die gefundenen genetischen Varianten ("Allele") hin untersucht, d.h. es wurden nacheinander mögliche Identität (Klone), genetische Verwandtschaft untereinander (inkl. "Vaterschaftstest") und Vorkommen von Allelen, die auf Einkreuzung der "Kanadapappeln" hinweisen, getestet. Für die Berechnungen wurde meist

die Software "GenAlEx 6.501" (Peakall and Smouse 2012) verwendet, die als "Add-In" für Microsoft Excel konzipiert ist.

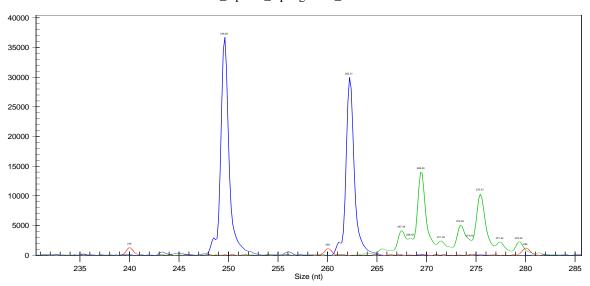
#### III. Vergleichsdaten

Die Daten aus den zitierten Untersuchungen (Heinze 2010, Heinze und Slunsky 2012a, 2012b) wurden als Vergleichsgrundlage herangezogen. Dabei ist zu beachten, dass sich für die Rohdaten oft leichte Abweichungen bei den Längen der DNA-Marker ergeben (da auf Grund der Wanderungszeit – in Hundertstel-Sekunden – in der Elektrophorese, die etwas schwanken kann, auf die Länge der DNA-Stücke – in Basenpaaren, also ganzen Zahlen - rückgeschlossen wird). Im Vergleich der Daten wird aber schnell klar, wo es zu solchen "Rundungsabweichungen" kommt, und welche Varianten somit als identisch anzusehen sind.

#### IV. Ergebnisse

Die Rohdaten, also die Elektropherogramme (Darstellung der Signalintensität am Ausgang der Kapillare, die die Wanderungszeit und Menge der untersuchten DNA-Stücke wiedergibt) wurden zu einer Allel-Längen-Tabelle zusammengefasst (beide Datensätze können auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden). Ein Beispiel eines Elektropherogramms (graphische Rohdaten-Darstellung) ist in Abbildung 2 wiedergegeben (in diesem Beispiel wurden hier konkret 250 – 262 als Allelgrößen für WPMS20, und 270 – 276 für WPMS09 ausgelesen).

Abbildung 2: Beispiel eines Elektropherogramms [Sämling Nr. 1, Marker WPMS20 (blau) und WPMS09 (grün)].



SPa 1\_wp20bl\_wp09gr.A01\_140606101J

#### 1. Genetische Identität

Es konnten im gesamten Material keine identischen genetischen Fingerabdrücke festgestellt werden. Damit ist sehr wahrscheinlich, dass es keine vegetative Vermehrung an den Standorten gibt (bzw. dass genetisch identische Individuen nicht beprobt wurden). Das deutet

darauf hin, dass es sich tatsächlich um aus Samen entstandene, also genetisch unterschiedliche Pflanzen handelt, wie ja schon aus dem Anschein in der Natur zu erwarten war.

#### 2. Ausmaß der genetischen Vielfalt (Diversität)

Die Vielfalt im untersuchten Material lässt sich auf vielfältige Weise zusammenfassen und darstellen; letztendlich geht es um einen Vergleich der Markervarianten (Allele). Da für jedes Individuum zwei Werte für jeden der sieben Marker vorliegen, sind also 39\*2\*7=546 Einzelwerte in anschaulicher Weise zu vergleichen, was natürlich nicht so einfach ist.

In den Sämlingen wurden zwischen vier und 13 verschiedene Varianten, je nach Marker, gefunden. Die oberen Werte (neun und 13) besagen also, dass mindestens 4,5 bzw. 6,5 Eltern zu diesen Sämlingen beigetragen haben (da manche dieser angenommenen Eltern sehr wahrscheinlich identische Allele tragen, können es auch dementsprechend mehr sein).

Dabei deuten die meisten Marker auf ein ausgeglichenes Verhältnis von Eltern hin – das zeigt sich im Vergleich der Wahrscheinlichkeiten, dass ein Sämling zwei unterschiedliche Allele trägt, mit theoretischen Erwartungen. Falls ein Elternbaum dominierend zu den Sämlingen beigetragen hätte, wären größere Abweichungen zu erwarten gewesen.

Im Vergleich dazu waren im Probenmaterial von 2012 (40 Bäume aus den Innauen) zwischen fünf und 14 Allele (Varianten) vorhanden. Die Sämlinge auf diesen drei Standorten alleine weisen also annähernd dieselbe Diversität auf wie die Bäume, die damals in drei verschiedenen Bezirken (Braunau, Ried und Schärding) und auf einer viel längeren Fluss-Strecke gesammelt wurden.

#### 3. Verwandtschaften

Falls einzelne Sämlinge von bekannten (mituntersuchten) Elternbäumen abstammen, sollten sie bei jedem Marker mindestens eine Variante gemeinsam mit diesem haben. Dieser Vergleich (Tabelle 1) zeigt genau zwei solche Fälle – Baum Nr. 1 mit Sämling Nr. 4 und mit Sämling Nr. 11. Wie bei jeder Eltern-Nachkommen Beziehung teilen diese Individuen 50% des untersuchten Erbmaterials. Die beiden Sämlinge teilen auch untereinander mindestens eine identische Variante bei jedem Marker. Das kann, muss aber nicht auf eine direkte Abstammung hinweisen, besonders dann, wenn die betroffenen Varianten in der untersuchten Probe besonders häufig sind. Das ist für einige, aber nicht alle Varianten der Fall. Allerdings würde sich hier die Katze in den Schwanz beißen, denn wenn viele Sämlinge von diesem Baum (Nr. 1) abstammen würden, wären auch die Häufigkeiten seiner Varianten in den Sämlingen höher. Jedenfalls sind für die anderen 34 Sämlinge keine ausreichenden Übereinstimmungen mit einem der möglichen drei Elternbäume gegeben. Selbst wenn man einzelne (unvermeidbare) Analysenfehler oder problematische Fälle von DNA-Längenzuordnung in Betracht zieht, kann man trotzdem annehmen, dass die Mehrzahl der Sämlinge nicht von den drei Bäumen abstammt.

Tabelle 1: Individuen-Paare, die bei jedem Marker mindestens eine Variante (Allel) teilen

mple	Pop 4 seedling	ORNL 214 189	PMGC 14		wpms 20			wpms 09		wpms 17		wpms 15		wpms 14	
			191	224	230	238	250	266	276	149	149	213	231	265	267
	11 seedling	189	189	221	230	238	262	270	276	149	149	228	231	248	265
	5 seedling	189	189	218	230	238	244	270	272		161	213	231	265	270
	18 seedling	179	189	221	230	238	250	266	270	140	161	228	231	242	265
	5 seedling	189	189	218	230	238	244	270	272	140	161	213	231	265	270
	23 seedling	189	189	218	221	238	256	270	276	140	161	231	231	248	265
	15 seedling	189	191	218	221	238	268	261	270	140	161	213	231	248	261
	23 seedling	189	189	218	221	238	256	270	276	140	161	231	231	248	265
	18 seedling	179	189	221	230	238	250	266	270	140	161	228	231	242	265
	23 seedling	189	189	218	221	238	256	270	276	140	161	231	231	248	265
	20 seedling	189	189	221	221	244	250	270	276	140	161	228	231	276	285
	26 seedling	189	189	218	221	238	250	276	280	140	161	231	231	267	276
	3 seedling	189	189	218	224	238	262	270	270	152	152	228	231	265	265
	31 seedling	189	191	221	224	256	262	261	270	152	152	213	228	248	265
	16 seedling	177	191	224	224	262	268	270	270	152	152	0	0	248	270
	31 seedling	189	191	221	224	256	262	261	270	152	152	213	228	248	265
	6 seedling	189	189	218	218	238	250		270		149	213	231	248	265
	34 seedling	189	189	218	224	238	244	270	272	149	149	228	231	242	265
	9 seedling	189	189	218	221	244	256	261	272	149	149	213	228	265	265
	34 seedling	189	189	218	224	238	244	270	272	149	149	228	231	242	265
	22 seedling	189	189	218	224	244	256	270	282	149	149	231	231	265	285
	34 seedling	189	189	218	224	238	244	270	272	149	149	228	231	242	265
	4 seedling	189	191	224	230	238	250		276		149	213	231	265	267
3	'_B_1 tree	189	189	221	224	238	256	266	276	149	149	228	231	265	267
	11 seedling	189	189	221	230	238	262	270	276		149	228	231	248	265
37	_B_1 tree	189	189	221	224	238	256	266	276	149	149	228	231	265	267

Es wäre aber auch denkbar (und unter gewissen Umständen sogar wahrscheinlich), dass manche Sämlinge von identischen, aber nicht mituntersuchten Bäumen abstammen. In so einem Fall müssten ebenfalls viele Varianten zwischen solchen "Geschwistern" übereinstimmen, und zwar ca. 50%, wenn sowohl Mutter als auch Vater (Pollenquelle) identisch sind, oder eben nur mehr 25%, wenn sie von derselben Mutter, aber verschiedenen Vätern abstammen. Es gibt in den Sämlingen weitere 11 Fälle, in denen Sämlinge bei jedem Marker in mindestens einer Variante übereinstimmen (Tabelle 1), also das durchschnittlich bei "Vollgeschwistern" erwartete Ergebnis aufweisen. Dabei sind auch die Sämlinge Nr. 5 und 34 in zwei, Nr. 23 und 34 sogar jeweils in drei solchen "Paaren" zu finden. Zusammen gefasst deutet das darauf hin, dass neben Baum Nr. 1 auch andere, nicht erfasste Bäume zu mehreren Sämlingen beigetragen haben, dass aber im Wesentlichen deren Abstammung ziemlich divers ist.

Man kann einen Verwandtschaftskoeffizienten berechnen, der diese "Prozent Übereinstimmung" auf der Grundlage der unterschiedlichen Häufigkeiten der Allele im Material genauer berechnet (Queller und Goodnight 1989). Dieser Koeffizient erreicht für relativ viele der paarweisen Vergleiche (39\*38/2=741) Werte in der Gegend von 0,25 (entsprechend 25%) oder höher – in einem geschätzten Drittel der Vergleiche. Das bereits vorhin erwähnte mögliche Geschwisterpaar Nr. 4 und 11 erreicht einen Wert von 0,332.

Im Vergleich der Allel-Daten der Pappeln aus Braunau von 2012 und 2014 fällt auf, dass die Häufigkeiten der verschiedenen Varianten im Wesentlichen sehr ähnlich sind. Man kann also davon ausgehen, dass die Sämlinge genau aus der lokalen Population an Schwarzpappeln stammen, von denen einige (39 Bäume) schon 2012 untersucht wurden.

#### 4. Mögliche Einkreuzung von "Kanadapappeln"

In den früheren Untersuchungen waren bei einigen der untersuchten Marker Varianten (Allele) aufgetaucht, die vermehrt oder ausschließlich auf Abstammung von "Kanadapappeln" hinweisen. Da diese kultivierten Pappeln meist (F1-) Kreuzungen einer nordamerikanischen Pappelart (*P. deltoides*) mit der einheimischen Schwarzpappel (*P. nigra*) darstellen, bilden diese Marker zwar einen Anhaltspunkt, aber keinen endgültigen "Beweis" für eine mögliche Abstammung der Sämlinge von Kanadapappeln (die Sämlinge können ja auch, den Mendelschen sowie den Gesetzen des Zufalls folgend, hauptsächlich die *P. nigra*artigen Allele von den "Kanadapappeln" erhalten).

Solche Anhaltspunkte fanden sich vermehrt in einem Sämling, Nr. 29, der bei drei Markern "verdächtige" Varianten aufzeigte. Andere Sämlinge wiesen nur einzelne solche Varianten auf, wie Nr. 13, 16, 18, und 33. Auffällig ist auch, dass gerade der Sämling Nr. 29 sehr niedrige Werte für den Verwandtschaftskoeffizienten aufweist, also nach aller Wahrscheinlichkeit nicht näher mit anderen Sämlingen verwandt ist (meist sind die Werte negativ, was auf einen unterdurchschnittlichen Verwandtschaftsgrad – verglichen mit allen anderen Vergleichen im Untersuchungsmaterial – hinweist). Nr. 13 zeigt auch eher niedrige Werte, Nr. 16 hat einige höhere (0,3 bis 0,4) neben vielen niedrigen, Nr. 18 wieder hat ziemlich viele niedrige Werte. Nr. 33 hat ebenfalls vermehrt unterdurchschnittliche Werte, ist aber mit Nr. 13 fast auf dem Niveau von Vollgeschwistern (0,400) verwandt. Der als mögliche "Kanadapappel" präsentierte Baum Nr. 3 kann auf Grund von zwei Marker-Varianten durchaus eine solche darstellen. Allerdings ist er nicht an der Nachkommenschaft beteiligt und kommt als Elternteil der analysierten Sämlinge nicht in Betracht.

#### V. Beurteilung von Diversität und Verwandtschaft

Die Proben aus den zum Zeitpunkt der Sammlung einjährigen "Kohorten" von Jungpflanzen zeigen, wie von Sämlingen erwartet, keine Hinweise auf Klone (wie sie etwa aus Wurzelbrut entstehen könnten). Sie sind genetisch relativ vielfältig, obwohl man bei der Seltenheit von Schwarzpappeln im Gebiet und bei der begrenzten Fläche der Ansamung eine eingeschränkte genetische Vielfalt erwarten könnte. Das ist besonders deshalb zu erwarten, da es wegen der sehr spezifischen Feuchtigkeitsbedürfnisse der Keimlinge an jeder potentiellen Stelle meist nur ein ganz bestimmtes Zeitfenster gibt, in dem anlandende Samen keimen können. Genetisch diverse Schwarzpappeln blühen aber zeitversetzt, und einzelne Bäume entlassen die Samen in einem meist nur kurzen Zeitraum von wenigen Tagen. Da unterschiedliche Bäume dann ihre Samen oft an unterschiedlichen Tagen freisetzen, wechselt die genetische Zusammensetzung der Samen über einen gewissen Zeitraum hinweg. Normalerweise kann man unter den gegebenen Bedingungen also auch erwarten, dass ein solcher "Sämlingsflecken" auf wenige Elternbäume zurückgeht.

Es wurde festgestellt, dass eine gewisse Mindestanzahl an Eltern anzunehmen ist, die auf den ersten Blick gar nicht besonders groß erscheint (im Bereich von unter zehn). Es sind auch Anhaltspunkte gegeben, dass manche Sämlinge enger verwandte "Geschwistergruppen" bilden. Beides lässt sich sehr leicht interpretieren, da bei mindestens ca. acht Eltern von 36 Sämlingen eben im Durchschnitt vier Sämlinge auf diese Weise miteinander verwandt wären. Dadurch ist eine gute Durchmischung gegeben, und die Sämlinge erreichen annähernd das Niveau an Diversität wie die in den vergangenen Jahren analysierten Altbäume vom Inn. Auch ihre lokale Abstammung scheint gesichert nachweisbar zu sein.

Dennoch finden sich im Untersuchungsmaterial einige Hinweise auf die fallweise Beteiligung von gepflanzten Hybridpappeln an der Nachkommenschaft. Für einen der Sämlinge dürfte das ziemlich sicher zutreffen, für andere gibt es Verdachtsmomente. Dabei sind in den Sämlingen - wenn die "verdächtigen" Fälle dazu gezählt werden - etwas höhere Anteile an solchen "nicht artreinen" Pflanzen zu finden, als das unter den Altbäumen in den früheren Untersuchungen der Fall war (Heinze 2010, Heinze und Slunsky 2012a, 2012b). Der Anteil von etwa 10% wurde auch schon in früheren Untersuchungen in Europa erreicht (Heinze und Lickl 2002). Möglicherweise ist er in sehr frühen Lebensstadien etwas höher, wie es in dieser Untersuchung (einjährige Sämlinge) der Fall ist. Es ist denkbar, dass in weiteren Lebensjahren Selektionsprozesse einsetzen, die Individuen eliminieren, die über nicht optimal aufeinander abgestimmte Gen-Varianten (bzw. Sätze von solchen Gen-Varianten, die gut zusammenpassen) verfügen. Das hat sich auch aus einer Studie ergeben, in der die verwandten Silber- und Zitterpappeln (P. alba und P. tremula) sowie deren Hybride, P. x canescens, (Lindtke et al. 2012) untersucht wurden. In dieser Studie hatte es den Anschein, als ob nach der F1-Generation vermehrt nur solche Individuen langfristig überleben, die entweder möglichst komplette Gen-Sätze von beiden Elternarten erhalten, oder bei sehr vielen Genen wieder beide Varianten aus der gleichen Art. Anscheinend wirkt sich zu viel Durcheinander und Nebeneinander (von Genen sogar nahe verwandter Arten) im Genom negativ aus, weil die einzelnen Gene einer Art gut aufeinander abgestimmt sind. Nur in F1-Hybriden (oder Pflanzen aus späteren Generationen, die den F1 in der genetischen Ausstattung noch stark gleichen) liegen noch komplette (oder in einigen Individuen späterer Generationen noch annähernd komplette) einfache Gen-Sätze aus den ursprünglichen Elternarten vor, die sich noch ausreichend ergänzen (unter Umständen sogar positiv).

#### VI. Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Die Art Populus nigra, also die einheimische Schwarzpappel, hat wahrscheinlich nur wegen ihrer sehr gut ausgeprägten Möglichkeit zur schnellen "Kolonisierung" von passenden Stellen im Habitat die letzten Jahrhunderte, in denen Hybridpappeln vermehrt gepflanzt wurden, rein überlebt. Während an einer Stelle die Altbäume wegen des nicht besonders hohen Alters, das sie erreichen können (an Donau und Inn etwa 200 Jahre als Höchstalter?), relativ schnell wieder verschwinden, tauchen immer wieder an gestörten Standorten, wie im natürlichen Kreislauf nach Hochwässern, in den letzten Jahrzehnten jedoch vermehrt etwa nach Baumaßnahmen, Sämlingskohorten auf, für die dann ein Wettkampf ums Überleben einsetzt (Heinze 1998). Nur relativ wenige der Kohorten bringen es zumindest in einigen Exemplaren bis zum blühfähigen Alter. Dabei ist nun anscheinend entscheidend, dass es noch genügend Individuen sind, sodass einerseits nicht nur männliche oder nur weibliche Bäume übrigbleiben. Andererseits, und das zeigt im Besonderen diese Studie, sollten sie genug Diversität besitzen, um über einen relativ langen Zeitraum im Jahr zu blühen und die Sämlinge zu entlassen. Das ist bei größerer genetischer Diversität gegeben, weil dann auch die Gene, die das steuern, vielfältiger sind. Nur dann finden die Sämlinge zufällig geeignete Zeitfenster und Standorte, an denen sie keimen können.

Es kann angenommen werden, dass nach den relativ großen Veränderungen, die das Hochwasser am Inn 2013 gebracht hat, die Diversität der hier untersuchten Sämlinge an der Untergrenze eines solchen, gerade noch funktionierenden Gefüges ist. Würden weniger Schwarzpappeln in der Landschaft überleben, oder noch weniger Großereignisse mit Neuanlandungen vorkommen (zeitlich und räumlich betrachtet), bzw. ersatzweise Keimlingsflächen etwa nach Baumaßnahmen entstehen, dann könnte es nach Einschätzung dieses Gutachtens bereits dazu kommen, dass zu wenige Bestäubungspartner für eine

überwiegend artreine Bestäubung und zu kurze Sämlingsreife-Zeitspannen auftreten. Dadurch würden einerseits mehr "eingekreuzte" Individuen entstehen (die einem vermehrten Selektionsdruck unterworfen wären), andererseits könnten die Sämlinge nicht mehr genügend potentielle Standorte besiedeln, weil die (Feuchtigkeits-)Bedingungen zum Reifezeitpunkt gerade nicht passen.

Die noch vorhandenen Schwarzpappeln am Inn sollten daher beobachtet werden, etwa als periodische Bestandsaufnahme von Alter, Blühfähigkeit sowie Geschlecht und räumlicher Verteilung. Bei einem Rückgang könnten dann rechtzeitig Jungpflanzen eingebracht werden. Das Material dieser Jungpflanzen sollte genetisch möglichst divers sein, um eine große Vielfalt an Bestäubungsmöglichkeiten (in zeitlicher und genetischer Sicht) zu schaffen. Es sollten auch immer wieder neue (lokale und regionale, s. Heinze und Slunsky 2012a) Quellen für die Vermehrung von solchen Jungpflanzen herangezogen werden. Sämlinge aus Standorten wie dem untersuchten sind dazu relativ gut geeignet, wenn man in irgendeiner Weise einen zu hohen Anteil an Hybridpappel-beeinflussten Individuen ausschließen kann. Dieser Anteil sollte idealerweise Null sein, realistischerweise in ganz jungem Material (einjährig wie hier) nicht höher als 10% liegen, und mit zunehmenden Alter des Vermehrungsgutes ständig sinken. Nach molekulargenetischen Untersuchungen wie der hier vorliegenden kann dieser Prozentsatz minimiert werden.

Allerdings sollte die jahrelange Vermehrung von einmal gesammelten Pflanzen auf vegetative Weise (durch Steckholz) vermieden werden, da sich dies langfristig nachteilig auf die Erhaltung der Diversität auswirkt.

#### VII. Literatur

Heinze, B. (1998): Erhaltung der Schwarzpappel in Österreich - forstwirtschaftliche, genetische und ökologische Aspekte. FBVA-Berichte (Schriftenreihe der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Wien) 106, 33 S.

Heinze B, Fussi B and Trees4Future Consortium (2014 unveröffentlicht). Report on review of available and tested methods for identification and on new marker development – *Populus*.

Heinze B. and Lickl E. (2002): Rare, but steady, introgression in Austrian black poplar as a long-term risk? In: Genetic diversity in river populations of European Black Poplar - Implications for riparian eco-system management (van Dam, B. and Bordács, S., eds.). Proceedings of an International Symposium held in Szekszárd, Hungary from 16-20 May, 2001. Csiszár Nyomda, Budapest; p. 169-175.

Heinze B. und Slunksy R. (2012a): Gutachten betreffend Probenmaterial von Schwarzpappeln aus den Bezirken Braunau, Ried und Schärding (Unterer Inn) in Oberösterreich, für Fr. Dr. Anita Matzinger, Amt der Oö. Landesregierung, Linz sowie Hr. Ing. Mag. Dr. Johann Reschenhofer, BH Braunau: Molekulargenetische Prüfung der biologischen Art, der Identität und der Verwandtschaft. BFW Wien, Oktober 2012.

Heinze B. und Slunksy R. (2012b): Gutachten betreffend Probenmaterial von Schwarzpappeln aus dem Eferdinger Becken in Oberösterreich für Ing. Mag. Dr. Albin Lugmair, A-4072 Alkoven: Molekulargenetische Prüfung der biologischen Art, der Identität und der Verwandtschaft. BFW Wien, Oktober 2012.

Heinze B. (2010): Gutachten betreffend Probenmaterial von Schwarzpappeln aus dem Großraum Linz und vom Unteren Inn, für Mag. Ferdinand Lenglachner, Salzburg: Molekulargenetische Prüfung auf "Artreinheit" (*Populus nigra*), Identität, Verwandtschaft und Diversität. BFW Wien, Dezember 2010.

Lindtke, D., Buerkle, C. A., Barbara, T., Heinze, B., Castiglione, S., Bartha, D., and Lexer, C. (2012): Recombinant hybrids retain heterozygosity at many loci: new insights into the genomics of reproductive isolation in *Populus*. Molecular Ecology 21[20], 5042-5058.

Queller D.C. and Goodnight K.F. (1989): Estimating relatedness using genetic markers. Evolution 43, 258-275.

Peakall R. and Smouse P.E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28, 2537-2539.