

# Blick ins Genetik-Labor: Schwarzpappel oder nicht?

Die Schwarzpappel ist eine für intakte Auenlandschaften charakteristische Baumart. Die Fläche der Auewälder ist jedoch stark rückläufig, so dass die Schwarzpappel immer seltener wird. Dazu kommt, dass die mögliche Einkreuzung von angepflanzten Hybridpappeln unsere einheimische Schwarzpappel bedroht. Um die gewünschte Artreinheit von Schwarzpappeln festzustellen, untersuchten Forschende der WSL in Zusammenarbeit mit dem Projekt SEBA der ETH Zürich mit einer genetischen Methode mehr als tausend Pappel-Proben.

Daniela Csencsics, Sonia Angelone und Rolf Holderegger

In der Schweiz wird viel zum Schutz der verbliebenen Auen und zur Revitalisierung kanalisierter Flussabschnitte unternommen. Das Thur-Rhone-Projekt ([www.rhone-thur.eawag.ch](http://www.rhone-thur.eawag.ch)) oder der Auenschutzpark (Dietiker und Jansen 2003) im Kanton Aargau sind aktuelle Beispiele für Versuche, wieder mehr lebendige, authentische Auenlandschaften zu ermöglichen. Deshalb soll die einheimische Schwarzpappel (Abb. 1) als eigentlicher Charakterbaum der Auen gezielt gefördert werden. Doch hier stehen die Verantwortlichen in der Praxis vor einem Problem: Es ist bekannt, dass unsere einheimische Schwarzpappel aufgrund ihres Aussehens nicht immer eindeutig von angepflanzten Hybridpappeln unterschieden werden kann. Für die Bereitstellung von geeignetem Pflanzmaterial bei Flussrevitalisierungen und für den Schutz der noch verbliebenen Schwarzpappeln ist es jedoch unabdingbar, dass die Artzugehörigkeit zweifelsfrei feststeht.

An der WSL wird eine Methode verwendet, mit der man mit wenigen Milligramm Holz innerhalb weniger Tage eindeutig feststellen kann, ob es sich um eine reine Schwarzpappel handelt oder nicht. Wie funktioniert das?

## Molekulargenetische Artbestimmung

### Erbsubstanz gewinnen und vervielfältigen

Nach dem Sammeln von Holzproben durch das SEBA-Feldteam isolieren wir im Labor die Erbsubstanz (DNA), das Ausgangsmaterial für den Identitätstest der zu untersuchenden Bäume. Das Erbgut von Schwarzpappel und Hybridpappel ist zwar sehr ähnlich, aber nicht identisch. Diejenigen Berei-

che, welche verschieden sind, können wir zur Artabgrenzung verwenden. Da wir nur diese speziellen Abschnitte der Erbsubstanz für die Artbestimmung benötigen, lassen wir diese ausgewählten Bereiche durch eine biochemische Reaktion (Polymerase-Kettenreaktion, abgekürzt PCR; siehe Kasten) millionenfach kopieren. Wir betrachten also nicht mehr das ganze Erbgut, sondern nur kleine, bekannte Teilstücke.

### Nächster Schritt: Schneiden

Als nächstes geben wir zu unseren DNA-Stücken ein Molekül, das eine bestimmte Abfolge des genetischen Codes in der DNA erkennt und diese dort schneidet. Da bei der Hybridpappel diese Stelle vorhanden ist, zerfällt sie in zwei Teile. Bei der reinen Schwarzpappel dagegen fehlt genau diese Stelle und das Molekül kann die DNA nicht entzwei schneiden, sie bleibt ganz. Das menschliche Auge kann diesen Unterschied nicht erkennen, für uns sehen beide Proben genau gleich aus, nämlich klare Flüssigkeiten in kleinen Röhrchen.



Abb. 1: Eine Schwarzpappel (*Populus nigra*) mit typischen Maserknollen, die jedoch nicht bei jedem Baum vorhanden sein müssen.

### Es wird spannend: Sichtbarmachen der DNA-Abschnitte

Zum Schluss der Laborarbeit soll aus der durchsichtigen Flüssigkeit ein sichtbares Bild werden. Dazu wird die Flüssigkeit in ein Trärgel geladen und elektrische Spannung angelegt. Grosse Stücke kommen im Trärgel weniger schnell vorwärts, was zu einer Auftrennung der DNA-Stücke nach ihrer Grösse führt. Das ist der Trick an der Sache! Ein spezieller Farbstoff, der nur an DNA bindet, macht unter ultraviolettem Licht das entstandene Muster sichtbar.

### Des Rätsels Lösung: Interpretation der Bandenmuster

Abbildung 2 zeigt, wie ein solches gefärbtes Gel aussehen kann. Jede vertikale Bahn zeigt ein Individuum. Gelesen wird von oben nach unten. Eine

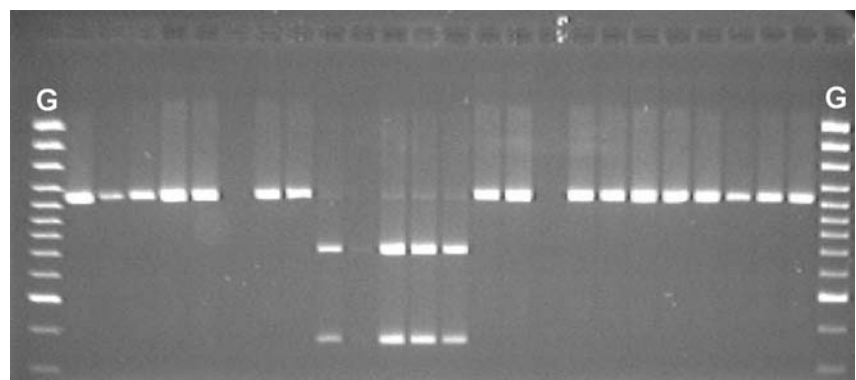


Abb. 2: Agarose-Gel mit Schwarzpappel- und Hybridpappel-Proben. Die Bahnen mit einer weissen Bande (ungeschnittene DNA-Stücke) sind reine Schwarzpappeln, diejenigen mit zwei Banden (geschnittene DNA-Stücke) sind Hybridpappeln. G=Grössenstandard.

Bande weiter oben stellt also ein längeres DNA-Stück dar als eine Bande weiter unten. Ganz links und ganz rechts sieht man einen Standard, welcher die Grösse der DNA-Stückchen angibt. Die geschnittenen Stücke, also dort, wo in einer Bahn zwei Banden sichtbar sind, stammen von Bäumen, die keine Schwarzpappeln sind. Die grossen, nicht geschnittenen Stücke, auf dem Bild mit nur einer Bande, stammen hingegen von echten Schwarzpappeln.

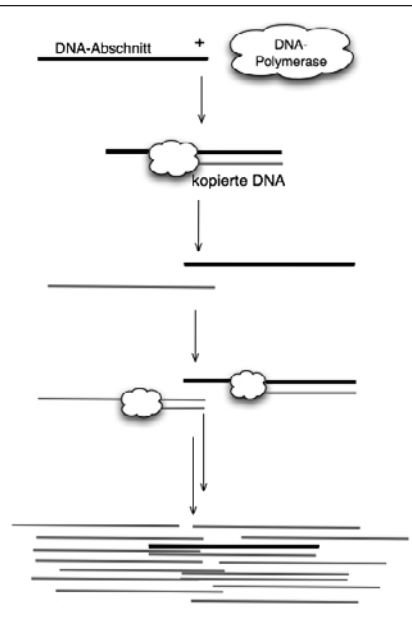
## Bedeutung und Anwendung in der Praxis

Bevor die hier vorgestellte Methode im grossen Umfang angewandt wurde, führte die WSL einen Blindtest durch. Eine externe Person sammelte dazu Winterknospen von 79 Bäumen verschiedener bekannter Pappelarten und Hybriden und unser Genetik-Labor untersuchte, welche Proben reine Schwarzpappeln waren. Alle Bäume wurden richtig zugeordnet, die molekulargenetische Methode ist also eine geeignete Methode, um Schwarzpappeln zu identifizieren.

Im Rahmen des SEBA Teilprojektes zur Schwarzpappel (SEBA-POP) an der ETH in Zürich testete die WSL seit her mehr als eintausend Pappelproben auf Artreinheit. Dank dieser grossen Stichprobe lässt sich die Anzahl der in der Schweiz vorkommenden Schwarzpappeln heute besser hochrechnen als

## Die Polymerase-Ketten-Reaktion

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (abgekürzt PCR) ist aus der modernen Molekulargenetik nicht mehr wegzudenken. Die möglichen Anwendungsgebiete reichen von der Entschlüsselung des genetischen Codes des Menschen über den Nachweis von Krankheiten bis hin zur Bestimmung des Täters bei Verbrechen. Mit Hilfe der PCR kann die Erbsubstanz (DNA) im Reagenzglas vervielfältigt werden. Das Prinzip ist bestechend einfach: Ein chemisches Molekül, die sogenannte DNA-Polymerase, kopiert ein bestimmtes DNA-Stück. Die beiden Stücke werden wiederum kopiert, so dass nun vier Stücke vorliegen. Diese werden erneut kopiert. Diese Reaktion kann so lange fortgeführt werden, bis Millionen von Kopien vorliegen (siehe Abbildung).

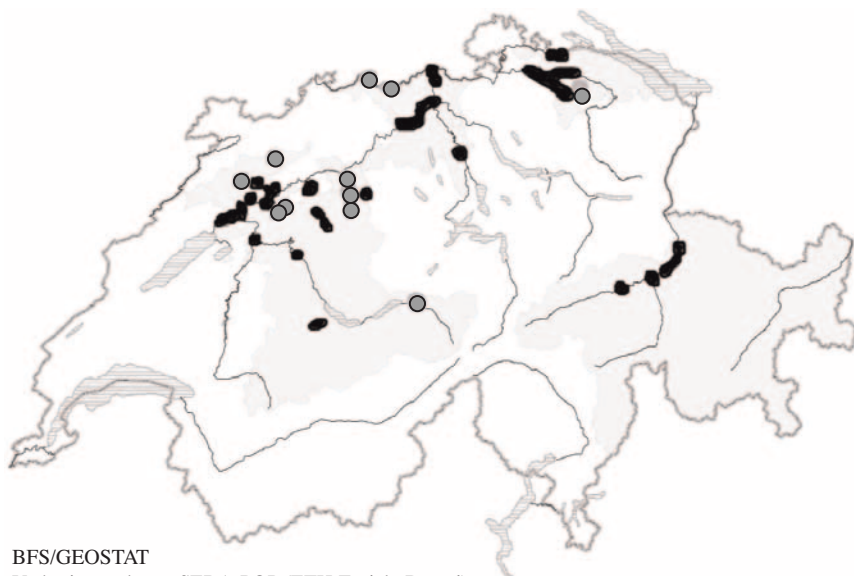


zuvor. Das Ergebnis: Erfreulicherweise sind diese Charakterbäume der Auen in der Schweiz häufiger als bislang angenommen (Schwab 2005).

Das SEBA-Team beprobte nicht nur ganz typisch aussehende Schwarzpappeln mit so auffälligen Merkmalen wie beispielsweise Maserknollen, sondern auch solche, die den Hybriden sehr ähnlich sahen. Dabei stellte sich heraus, dass manche Bäume vom Äusseren her eher den Hybriden zugeordnet würden, der genetische Test zeigt jedoch, dass es sich um reine Schwarz-

pappeln handelt. Durch den Vergleich von äusseren Kennzeichen und genetischer Identität konnte das SEBA-Team einen Merkmalskatalog für die Schwarzpappel zusammenstellen. Dieser erleichtert die klare Bestimmung der Schwarzpappel im Feld.

Da die Fundorte der genetisch bestimmten, reinen Schwarzpappeln digitalisiert wurden (Abb. 3), steht jetzt ein grosser Pool an bekannten Bäumen für die Gewinnung von Steckhölzern zur Verfügung. Gerade im Hinblick auf die Anpflanzung von Schwarzpappeln bei Flussrevitalisierungen ist es besonders wichtig, von dieser grossen Auswahl Gebrauch zu machen. Werden hingegen Stecklinge von nur wenigen Schwarzpappeln verwendet, könnte es zu genetischer Verarmung kommen; denn Stecklinge besitzen



BFS/GEOSTAT

Verbreitungsdaten: SEBA-POP (ETH Zürich, Buwal)

Abb. 3: Die an der WSL untersuchten Pappeln stammen aus den Kantonen Aargau, Bern, Graubünden und Thurgau. Markierte Stellen zeigen, wo Baumproben gesammelt wurden, tatsächlich artreine Schwarzpappeln sind schwarz dargestellt.

## Résumé

Le peuplier noir indigène est considéré comme une essence caractéristique des paysages alluviaux proches de l'état naturel. Cet arbre est devenu rare aujourd'hui car une grande partie de son habitat a été détruite. De l'extérieur, il est très difficile de le distinguer des peupliers hybrides plantés. De ce fait, l'on ne sait pas non plus combien de peupliers noirs se trouvent encore en Suisse. À l'aide d'un test génétique, les chercheurs du WSL ont réussi à prouver que, fort heureusement, il en reste plus qu'on ne le pensait auparavant.

genau das gleiche Erbgut wie der Baum, von dem sie stammen.

Die in diesem Artikel vorgestellte Methode ist ein Musterbeispiel dafür, wie die Molekulargenetik für die Praxis nützlich ist – in diesem Fall hilft sie, die Schwarzpappel in der Schweiz zu erhalten und sogar zu fördern.

## Literatur

Dietiker, F.; Jansen, E., 2003: Das Sachprogramm Auenschutzpark Aargau – eine Zwischenbilanz mit Beispielen realisierter Waldprojekte im Freiamt. Schweizerische Zeitschrift für das Forstwesen 154:274–280.

Schwab, P., 2005: Im Zweifel für die Angeklagte. Wald und Holz 2:37–38.

### Was ist genetische Introgression und wie kann sie nachgewiesen werden?

Die genetische Introgression oder Einkreuzung ist ein Spezialfall der Hybridisierung. Wenn sich zwei Arten wie die Europäische und die Amerikanische Schwarzpappel miteinander fortpflanzen, entstehen als Nachkommen so genannte Hybriden. Bestäubt Pollen eines solchen Hybriden eine Europäische Schwarzpappel, werden die Nachkommen zu drei Vierteln das Erbgut der Europäischen und zu einem Viertel dasjenige der Amerikanischen Pappel besitzen. Solche Bäume können sich wieder in eine Europäische Schwarzpappel einkreuzen. Mit der Zeit hätten viele Europäische Schwarzpappeln einen gewissen Anteil an fremdem Erbgut. Diesen Vorgang, also der Eintrag von Genen von einer Art in eine andere Art, nennt man genetische Introgression.

Es ist möglich, genetische Introgression nachzuweisen, indem man sowohl nur von der Mutter als auch von beiden Eltern ver-

erbte Merkmale untersucht. Betrachten wir das Pappelbeispiel: die Frage ist, ob sich Hybridpappeln in die einheimische Schwarzpappel einkreuzen oder nicht. Eines von drei im Pappeltest verwendeten DNA-Stücken wird nur über die Mutter vererbt. War die Mutter eines untersuchten Baumes X eine Schwarzpappel, so findet man ein für Schwarzpappeln typisches DNA-Stück in Baum X. Die zwei anderen DNA-Stücke erbt die Nachkommenschaft von beiden Eltern. Wenn im Baum X mindestens eines davon für die Schwarzpappel untypisch ist, bedeutet dies, dass er dieses Stück von einem Vorfahren der anderen Pappelart geerbt haben muss. Wir folgern daraus, dass irgendwann eine fremde Pappelart eine Schwarzpappel bestäubt haben muss, es fand also genetische Introgression statt. Dieser Fall wurde von uns in der Schweiz in keinem einzigen Fall gefunden.

## Ost-West-Forschung zum beidseitigen Nutzen

**Die meisten Forschenden in der Schweiz, die seit der Auflösung der Sowjetunion gemeinsam mit Kolleginnen und Kollegen aus osteuropäischen Ländern forschen, blicken heute auf erfolgreiche Jahre der Zusammenarbeit zurück. Zu diesem Ergebnis kommt der Schweizerische Nationalfonds, der in den vergangenen 15 Jahren insgesamt 1500 Ost-West-Projekte förderte. Forschende der WSL, die dank der Unterstützung des Nationalfonds mit Partnern in Osteuropa zusammenarbeiten, lernten dort in den vergangenen Jahren neue Methoden und Forschungsergebnisse sowie einmalige natürliche und kulturelle Ressourcen kennen.**

Reinhard Lässig

Nach der Öffnung des Eisernen Vorhangs zeichnete sich schnell ab, dass der Weg zu neuen staatlichen und gesellschaftlichen Formen für die meisten Länder Osteuropas schwierig wer-

den würde. Viele Bereiche des öffentlichen und privaten Lebens mussten neu organisiert werden. Dies galt auch für die Wissenschaft. Darum lancierten die Direktion für Entwicklung und

Zusammenarbeit (DEZA) und der Schweizerische Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (SNF) bereits 1990 ihr erstes Programm zur Unterstützung der Wissenschaft in Osteuropa. Rund 1500 Forschungsprojekte und Initiativen mit Beteiligten aus der Schweiz und Osteuropa halfen zahlreichen Forschenden und Forschungsinstitutionen dabei, die Schwierigkeiten des Übergangs vom einen ins andere System zu bewältigen und den Anschluss an internationale Netzwerke zu finden.

Forschende untersuchten zum Beispiel die Auswirkungen des Reaktorunfalls in Tschernobyl auf Böden, Gewässer und Menschen, die voranschreitende Austrocknung des Aralsees und die Gewässerverschmutzung in verschiedenen Ländern des Balkans und Zentralasiens. Für seltene Pflanzen- und Tierarten entwickelten sie Schutzkonzepte und an mehreren Universitäten Osteuropas entstanden neue Studiengänge, zum Beispiel zu Fragen des Umweltmanagements und der Raumentwicklung.

### Ergiebige WSL-Forschung mit Partnern in Osteuropa

Die WSL intensivierte bereits Ende der 1980er Jahre ihre Beziehungen zu Forschenden in Osteuropa. Der Jahrringspezialist Fritz Schweingruber knüpfte anlässlich einer Konferenz in Archangelsk am Weissen Meer neue Kontak-



Abb. 1: In viele partnerschaftlich Forschungsprojekte sind auch Verwaltungen mit eingebunden, die den Zutritt zu Wäldern oder Schutzgebieten ermöglichen. Im Bild Pawel Moiseev und Stanislaw Motschalow von der Forsttechnischen Universität Jekaterinburg (1. und 2. v. l.) im Gespräch mit Forstleuten im Ural (Bild: R. Lässig).