ARBEITSBERICHT

Modellierung des Genflusses für die Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Bäume

Arbeitsbericht des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung

Nr. 2004/4



Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft

Umweltforschungsplan des Bundesumweltministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit Aufgabenschwerpunkt Forschungsprojekt 201 67 430/02

Abschlussbericht

zum

Forschungsvorhaben:

Modellierung des Genflusses für die Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Bäume

Az.576.241.116

Teil Fladung, BFH

für den Zeitraum

01.06. 2003 bis 31.03.2004

verfasst von:

Matthias Fladung

Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft

Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung Sieker Landstr. 2 D-22927 Großhansdorf

April 2004

Inhalt

1. Einleitung 3 2. Material und Methoden 3 2.1. Bestimmung des Geschlechts und Kartierung der Pappeln 3 im Arboretum 2.2. Beerntung der Blühreiser 3 2.3. Verwendete Mikrosatelliten-Genorte 4 2.4. Simulation der Vaterschaftsanalyse 4 2.5. Pollenemissions- und Wetterdaten 5 5 3. Ergebnisse und Diskussion 3.1. Beerntung der Samen, Gewinnung von Blütenreisern 5 und verwendete Genotypen 3.2. Kartierung der Pappeln im Arboretum 5 7 3.3. Pollenflugdaten 3.4. Wetterdaten 7 3.5. Mikrosatellitenanalysen 10 4. Literaturangaben 24 5. Zusammenfassung 24 6. Erfolgskontrollbericht 25 7. Kurzfassung des Schlussberichts 28

1. Einleitung

Im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf, der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft (BFH) wurden im Jahr 2002 fünf weibliche Bäume identifiziert, die im gleichen Jahr geblüht haben und Samenansatz zeigten. Die Nachkommenschaft von zwei Bäumen wurde im weiteren Verlauf dieses Teilprojekts untersucht. Im o.g. Arboretum wurden insgesamt 47 verschiedene, putative Vätergenotypen identifiziert und kartiert. Mit Hilfe von hoch auflösenden Mikrosatelliten-Genorten sollte in dem von der BFH bearbeiteten Teilprojekt der Frage nachgegangen werden, welchen Anteil benachbarte Bäume am Genfluss bei Windbestäubern haben bzw. ob der Hauptanteil des Polleneinflugs doch von weiter entfernt stehenden Bäumen kommt.

Als Ergebnis der Untersuchungen sollte Aufschluss darüber erhalten werden:

- wie viele V\u00e4ter aus dem Arboretum tragen zu welchem Anteil an der Befruchtung der zwei B\u00e4ume bei,
- gibt es Unterschiede, auf welcher Kronenseite Samen gebildet wurden, und
- wie hoch ist der Polleneintrag von außerhalb des Arboretums.

2. Material und Methoden

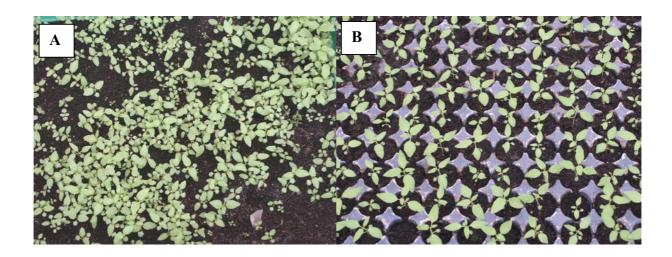
2.1. Bestimmung des Geschlechts und Kartierung der Pappeln im Arboretum

Das Geschlecht der Bäume wurde anhand blütenanatomischer Merkmale bestimmt. Die relative Lage der Bäume im Arboretum sowie Entfernungen untereinander wurden mit Hilfe GPS-gestützter Methoden bestimmt.

2.2. Beerntung der Blühreiser

Pappelreiser mit befruchteten weiblichen Blüten von W7 und C61 wurden am 29.04.03 direkt von den Bäumen geerntet und am 30.04.03 in Bestäubungskabinen in fließendem Wasser aufgestellt. Pappelwolle mit Samen wurde am 07./08.05.03 entnommen. Das Ausblasen der Wolle mit Druckluft zur Gewinnung der Samen wurde am 09.05.03 durchgeführt. Da Pappelsamen keine Keimruhe benötigt, erfolgte die Aussaat der Samen am 12. und 13.05.03. Die Abbildung 1 zeigt eine Keimschale mit Keimlingen Ende Mai 2003.

Abbildung 1: Aspen-Keimlinge (A) in der Keimschale Ende Mai 2003, (B) in der Pikierschale Juni 2003



2.3. Verwendete Mikrosatelliten-Genorte

Für die Vaterschaftsanalyse haben sich bevorzugt Mikrosatelliten-Genorte als geeignete Marker erwiesen. Aus z.Z. für die Pappel über 100 bekannten und zur Verfügung stehenden Mikrosatelliten-Genorten wurden zwölf Genorte, die bei den Müttern poly- und monomorph sind, ausgesucht: PTR4, PTR5, PTR14, PMGC639PMGC2163, PMGC2855, WPMS05, WPMS08, WPMS10, WPMS14, WPMS16, WPMS20. Primersequenzen für die verwendeten Mikrosatelliten-Genorte und PCR-Bedingungen wurden nach Dayanandan et al. (1998) sowie Rahman et al. (2000) ausgewählt. Von den zwölf Genorten erwiesen sich nur die folgenden sieben als auswertbar: PTR4, PTR5, PTR14, PMGC2163, WPMS10, WPMS14, WPMS16.

Die Isolierung totaler genomischer DNA aus Blättern der beiden Mütter, von 47 putativen Vätern sowie insgesamt 430 Keimlingen erfolgte nach der n-Heptan Methode von Markussen (unveröffentlicht).

2.4. Simulation der Vaterschaftsanalyse

Die Analyse der Allelfrequenzen, Simulation der Vaterschaftsanalyse sowie die eigentliche Vaterschaftsanalyse wurde mit Hilfe des Programms CERVUS 2.0 von Tristan Marshall (1998-2001; http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/cervus.html) durchgeführt.

2.5. Pollenemissions- und Wetterdaten

Daten von der Anzahl von Pollen pro m³ Luft im Tagesmittel wurden freundlicherweise von der Pollenmessstation Lübeck zur Verfügung gestellt. Wetterdaten ebenfalls im Tagesmittel wurden dankenswerterweise für die ersten fünf Monate vom Deutschen Wetterdienst in Offenbach für die Stationen Hamburg Fuhlsbüttel (Flugwetterwarte) und Hamburg Wandsbek erhalten. Folgende Daten liegen als Tagesmittelwerte vor: Lufttemperatur (Tagesmittel), Tagesmittel Windstärke, tägliche Sonnenscheindauer in 0,1 Stunden.

Die Wetterdaten konnten mit den aufgezeichneten Tagesmittelwerten der Wetterstation abgeglichen werden, die im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in Großhansdorf steht. Damit standen weitere Klimadaten zur Verfügung: rel. Luftfeuchte, Niederschlagsmenge (Regen), Strahlungsintensität.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Beerntung der Samen, Gewinnung von Blütenreisern und verwendete Genotypen

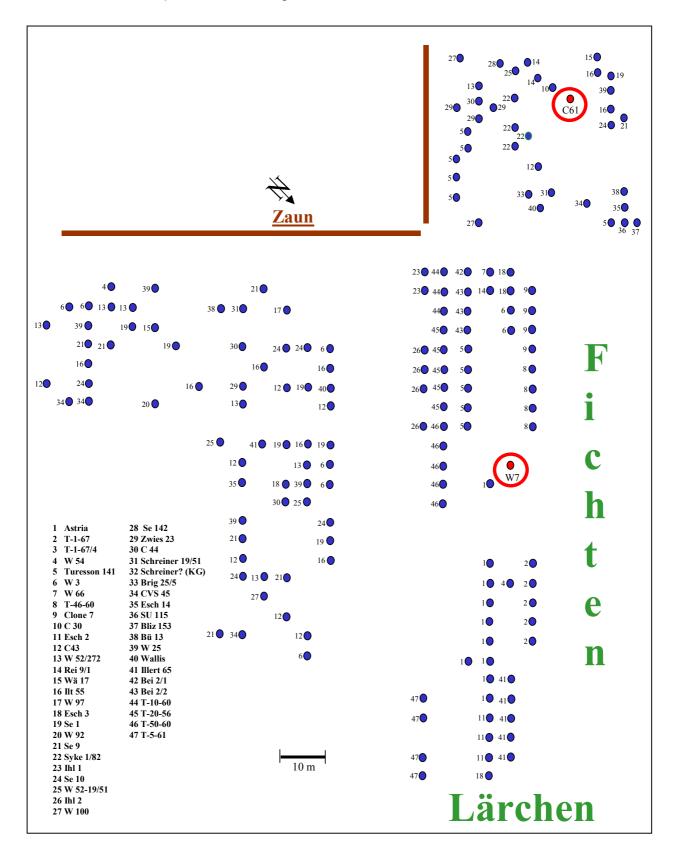
Um an die weiblichen Blüten heranzukommen und den Samen zu ernten, wurden von vier Bäumen Äste heruntergeholt und im Gewächshaus weiterkultiviert. Der fünfte Baum musste im Arboretum umgelegt werden. Von vier Bäumen wurden unbeachtet der Himmelsrichtung inzwischen mehrere Tausend Samen geerntet. Von einem Baum (C61) wurden Samen von der Süd- und der Westseite der Krone Samen geerntet.

Da im Vorfeld nicht abgeschätzt werden konnte, wie hoch die Keimrate der Samen ist, wurden Samen von allen fünf beernteten Bäumen ausgelegt. Es war geplant, nur die zwei Bäume mit den höchsten Keimraten der Samen in den weiteren Untersuchungen zu berücksichtigen. Pro Nachkommenschaft der zwei Bäume sollten je 150-200 Nachkommen DNA isoliert werden. Falls die Nachkommenschaft des Baums C61, von dem Samen getrennt nach zwei Himmelsrichtungen geerntet wurden, eine hohe Keimrate aufweist, sollten etwa 100 Nachkommen pro Himmelsrichtung in den weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden.

3.2. Kartierung der Pappeln im Arboretum

Die Lage der beiden beernteten Mutterbäume sowie von einigen weiteren weiblichen Bäumen und von putativen Väterbäumen im Arboretum, die sich alle im Umkreis von 100 bis 200 Meter von den beiden Mutterbäumen befinden, sollte bestimmt und in eine Karte eingezeichnet werden (Abb. 2).

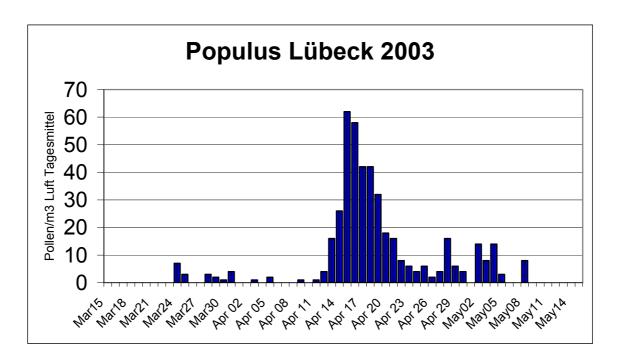
Abbildung 2: Lage der beiden beernteten Mütterbäume (W7 und C61, rot eingekreist) sowie von einigen weiteren weiblichen Bäumen und von putativen Väterbäumen im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf.



3.3. Pollenflugdaten

Leider stehen keine quantitativen Daten zum Pollenflug der Hamburg/Ahrensburg/Großhansdorf Die zur Verfügung. nahest gelegene Pollenmessstation befindet sich in (Stiftung Lübeck Deutscher Polleninformationsdienst), die sich freundlicherweise bereit erklärt hatten, die in Abbildung 3 dargestellten Daten zur Verfügung zu stellen.

<u>Abbildung 3:</u> Tagesmittelwerte zur Pollenmenge der Pappel, gemessen und zur Verfügung gestellt von der Pollenmessstation Lübeck



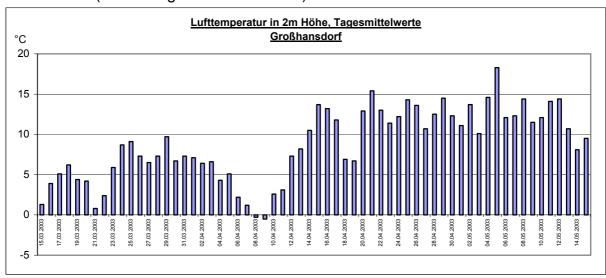
Erste Pollenemissionen der Pappel im Jahr 2003 wurden am 24.03. festgestellt, danach gab es bis zum 11.04. vereinzelt geringe Pollenemissionen. Ab dem 12.04. stieg die Pollenemission schlagartig an, fand ihren Höhepunkt (etwa 60 Pollen pro m³ Luft im Tagesmittel) am 15./16.04., und nahm danach wieder ab. Geringe Mengen an Pappelpollen in der Luft konnten bis zum 08.05.03 festgestellt werden.

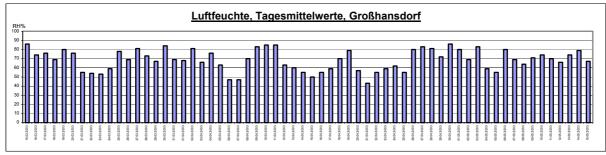
3.4. Wetterdaten

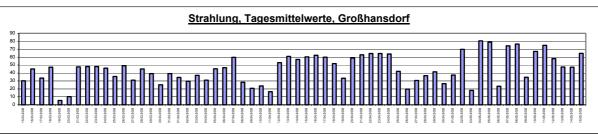
Wetterdaten (Tagesmittelwerte) liegen sowohl von der eigenen Messstation im Arboretum des Instituts in Großhansdorf sowie von den Stationen Hamburg Flughafen sowie Hamburg Wandsbek vor, die vom Deutschen Wetterdienst, Offenbach, erhalten wurden. Aus Großhansdorf liegen Tagesmittelwerte zur Lufttemperatur in 2 Meter

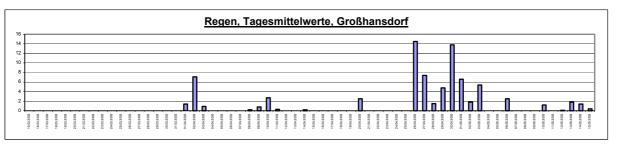
Höhe, Luftfeuchte, Strahlung und Niederschlag vor. Über die Lufttemperatur konnten die Daten aus Großhansdorf (Abb. 4) mit denen vom Deutschen Wetterdienst für Hamburg Flughafen abgeglichen werden (Abb. 5). So konnten zusätzlich Tagesmittelwerte zur Windstärke und Sonnenscheindauer vom Hamburger Flughafen berücksichtigt werden.

<u>Abbildung 4:</u> Tagesmittelwerte zu Wetterdaten von der Messstation Großhansdorf (institutseigene Wetterstation)

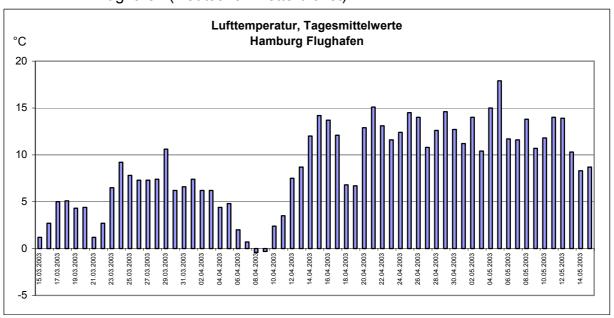


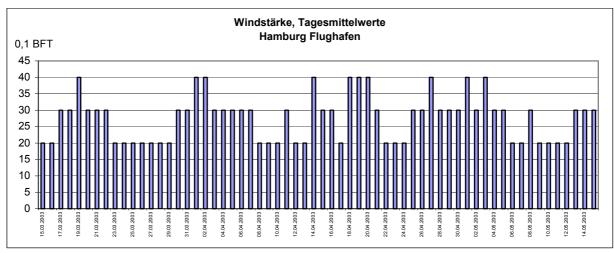


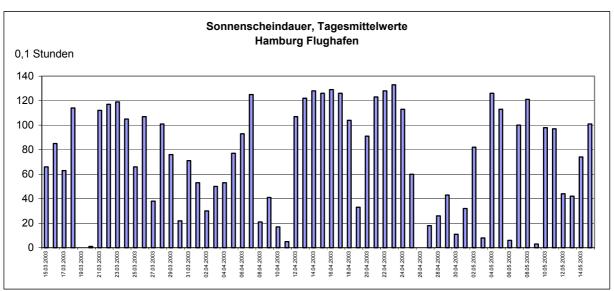




<u>Abbildung 4:</u> Tagesmittelwerte zu Wetterdaten von der Messstation Hamburger Flughafen (Deutscher Wetterdienst)







Der Vergleich der Diagramme zur Pollenemission (Abb. 3) und den Wetterdaten (Abb. 4) lässt eine Abhängigkeit der Pappelpollenkonzentration in der Luft von der Temperatur vermuten. Die Temperatur steigt am 23.03. zum ersten Mal im Jahr 2003 über 5 °C in der Luft. Direkt ein/zwei Tage später taucht zum ersten Mal Pappelpollen in der Luft auf. Die Temperaturen bleiben die nächsten Tage im Mittel über 5 °C, und sinken am 04.04. wieder unter 5 °C. Pappelpollen ist in der Folge in nur sehr geringen Mengen in der Luft nachweisbar. Ab dem 12.04 steigt die Temperatur wieder über 5 °C und erreicht Mitte April zum ersten Mal fast die 15 °C-Marke. Genau Mitte April werden auch maximale Pappelpollenemissionsraten gefunden.

Die Wetterparameter Luftfeuchte, Strahlung, Niederschlag, Windstärke und Sonnenscheindauer scheinen keinen Einfluss auf die Konzentration von Pappelpollen in der Luft an der Messstation Lübeck zu haben. Leider war es nicht möglich, Daten zur Windrichtung zu erhalten.

3.5. Mikrosatellitenanalysen

Eine Übersicht über die Allelanzahl und Allelgrößen der einzelnen Mikrosatellien-Genorte bei den Pappel-Altbäumen (Mütter sowie putative Väter) im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf, gibt Tabelle 1. Aus Tabellen 2 bis 8 sind Einzelbaumweise die Allelverteilungen zu entnehmen.

<u>Tabelle 1:</u> Übersicht über die Anzahl der bei den untersuchten Pappeln aufgetretenen Allele sowie deren Größen

Mikrosatelliten- Genort	Allelanzahl	Allelgrößen (bp)	
PTR4	8	199 201 203 205 207 217 219 221	
PTR5	8	245 246 253 255 257 259 261 263	
PTR14	9	157 166 180 183 187 193 195 198 201	
PMGC2163	14	193 195 197 199 201 203 205 207 209 211 213 215 217 227	
WPMS10	16	183 185 187 188 191 193 217 218 219 221 223 224 231 251 252 255	
WPMS14	11	103 105 107 111 115 121 125 127 129 1	47 167
WPMS16	9	156 162 168 171 174 180 186 192 197	

Tabelle 2: Mikrosatelliten-Genort PTR4 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

PTR4

	199	201	203	205	207	217	219	221
W 7		1			1			
Astria			1	1			1	
T-1-67	1							
T-1-67 (4. Baum)		1						
W-54	1	-						
Turesson 141	1	1						
W-3	•	•	1		1			
W-66		1	1		•			
T-46-60		1	•		1			
Clone 7	1	1			•			
C-30	•	•	1	1				
Esch 2	1		1					
C-43	•		1					
W-52 (272)		1	1					
Rei-9/1		1	1					
Wä-17	1	1	•					
IIt-55	•	1	1					
W-97		1	1					
Esch 3	1	•	1					
Se-1	•	1	1					
W-92		1	1					
Se-9		1	1					
Syke-1/82	1	1	•					
Ihl 1	1	•						
Se-10	•	1	1					
W-52 (19/51)		1	1					
Ihl 2	1		·					
C 61				1				
W 100		1	1					
Se 142	1		1					
Zwies 23		1		1				
C 44			1					
Schreiner			1					
Schreiner? (KG)	1		1					
Brig 25/5			1					1
CVS 45			1					•
Esch 14	1		1					
SU 115			1	1				
Bliz 153			1					
Bü 13	1		1					
W 25	•		1					
Wallis			1	1				
Illert 65	1		1	•				
Bei 21	•	1	•			1		1
Bei 22		1				1		1
T-10-60	1	1				•		•
T-20-56	1	•						
T-50-60	1	1						
T-5-61	1	•				1		
-	•					•		

Tabelle 3: Mikrosatelliten-Genort PTR5 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

PTR5

W 7 1 1 Astria 1 1 T-1-67 1 1 T-1-67 (4. Baum) 1 1 W-54 1 1 Turesson 141 1 1 W-3 1 1 W-66 1 1 T-46-60 1 1 Clone 7 1 1 C-30 1 1 Esch 2 1 1 1 C-43 1 1 1 W-52 (272) 1 1 1 Rei-9/1 1 1 1 W-97 1 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Ihl 1 1 1 1 W-52 (19/51) 1 1 1 Image: Secons of the contraction of the contraction of the contraction of the		245	246	253	255	257	259	261
T-1-67 (4. Baum) W-54 1 1 Turesson 141 1 W-3 1 1 W-66 1 1 T-46-60 1 1 Clone 7 1 C-30 1 Esch 2 1 1 1 C-43 1 1 1 W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 1 Wä-17 1 1 1 Ilt-55 1 1 1 W-97 1 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 1 Se-9 1 1 1 Seye-1/82 1 1 Ilt 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ilt 1 Ilt 1 W-52 (19/51) 1 Ilt Ilt 1	W 7			1				
T-1-67 (4. Baum) W-54 Turesson 141 W-3 W-66 1 T-46-60 Clone 7 C-30 Esch 2 1 Turesson 141	Astria		1	1				
W-54 Turesson 141 W-3 W-66 1 T-46-60 Clone 7 C-30 Esch 2 1 C-43 W-52 (272) Rei-9/1 Wä-17 IIt-55 1 IIt-55 1 IIt-55 1 IIt-55 II IIt-55 II II Se-1 II W-92 II Se-9 II Syke-1/82 III III III Se-10 III III III III III III III	T-1-67			1	1			
W-54 Turesson 141 W-3 W-66 1 T-46-60 Clone 7 C-30 Esch 2 1 C-43 W-52 (272) Rei-9/1 Wä-17 IIt-55 1 IIt-55 1 IIt-55 1 IIt-55 II IIt-55 II II Se-1 II W-92 II Se-9 II Syke-1/82 III III III Se-10 III III III III III III III	T-1-67 (4. Baum)			1	1			
Turesson 141 W-3 1 1 W-66 1 T-46-60 Clone 7 C-30 1 Esch 2 1 1 1 C-43 W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 1 Wä-17 1 1 1 Ilt-55 1 1 1 W-97 1 1 1 Esch 3 Se-1 1 1 1 W-92 1 1 1 Se-10 1 1 Se-10 1 1 III-52 1 1 III-53 III-54 III-55				1				
W-3 W-66 T-46-60 Clone 7 C-30 Esch 2 C-43 N-52 (272) Rei-9/1 Nä-17 Ilt-55 1 N-97 It-55								
W-66 T-46-60 1 1 T-46-60 1 1 Clone 7 1 C-30 1 Esch 2 1 1 1 C-43 1 W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 1 Wä-17 1 1 1 1 W3-17 1 1 1 1 Se-1 1 Se-10 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1				1				
T-46-60					•			
Clone 7 C-30 1 Esch 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1					1			
C-30 Esch 2 C-43 W-52 (272) Rei-9/1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1					į		1	
Esch 2 C-43 W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 1 Wä-17 1 1 1 1 U-55 1 1 1 U-97 1 1 1 Esch 3 1 1 Se-1 1 1 Se-9 1 1 1 Se-9 1 1 1 Se-10 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1				1				
C-43 W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 1 1 1 Wä-17 1 1 1 Ilt-55 1 1 1 W-97 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Se-10 1 1 Se-10 1 Ilt-52 1 Ilt-53 1 1 Ilt-55 1 1 Ilt-55 1 1 Ilt-55 Ilt-5					1	1		
W-52 (272) 1 Rei-9/1 1 1 Wä-17 1 1 Ilt-55 1 1 1 W-97 1 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 Ilt 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ilt 2 1					ı	ı		
Rei-9/1 1 1 1 Wä-17 1 1 1				1				
Wä-17 1 1 1 Ilt-55 1 1 1 W-97 1 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Ihl 1 1 1 1 Se-10 1 1 1 W-52 (19/51) 1 1 1 Ihl 2 1 1 1			1					
Ilt-55 W-97 1 1 Esch 3 1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 Ihl 1 1 1 Se-10 W-52 (19/51) Ill 2 In 1 1 In 1 In								
W-97 Esch 3 1 1 Esch 3 1 1 1 Se-1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Ihl 1 1 1 Se-10 1 1 U-52 (19/51) 1 1 Ihl 2 1 1								
Esch 3 Se-1 1 1 1 W-92 1 1 Se-9 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1								
Se-1 1 1 1 W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1								
W-92 1 1 1 Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 Ihl 1 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1				1		1		
Se-9 1 1 1 Syke-1/82 1 1 Ihl 1 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1			1		1			
Syke-1/82 1 1 1				1	1			
Ihl 1 1 1 Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1	Se-9		1		1			
Se-10 1 1 W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1	Syke-1/82			1	1			
W-52 (19/51) 1 Ihl 2 1	lhl 1				1		1	
lhl 2 1	Se-10			1	1			
lhl 2 1	W-52 (19/51)		1					
C 61	lhl 2				1			
	C 61			1				
W 100 1 1	W 100		1	1				
Se 142 1 1	Se 142				1			1
Zwies 23 1 1	Zwies 23			1				1
C 44	C 44							
Schreiner 1								
Schreiner? (KG) 1 1					1			
Brig 25/5 1					•			
CVS 45 1 1								1
Esch 14 1 1					1			•
SU 115 1					'			
		4						
		ı		1				
					1			
W 25								
Wallis 1								
Illert 65 1 1					1			
Bei 21 1				1				
Bei 22 1				1				
T-10-60 1 1					1		1	
T-20-56 1 1					1		1	
T-50-60 1 1				1	1			
T-5-61 1 1	T-5-61				1		1	

Tabelle 4: Mikrosatelliten-Genort PTR14 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

PTR 14

	157	166	180	183	187	193	195	198	201
W 7							1		1
Astria	1						1		1
T-1-67					1		1		
T-1-67 (4. Baum)							1		1
W-54					1		1		
Turesson 141							1		
W-3							1		1
W-66							1	1	
T-46-60							1		1
Clone 7							1		•
C-30							1		
Esch 2							1		
C-43							1		1
W-52 (272)							1		
Rei-9/1							•	1	
Wä-17							1	1	
IIt-55							1	•	
W-97							1		
Esch 3							1		
Se-1							1	1	
W-92							1	•	
Se-9							1	1	
Syke-1/82							1	•	1
Ihl 1			Konnt	e nicht	hestimn	nt werd			
Se-10			TOTAL	O THORIC	DOGMINI	iii word	1	1	
							1		
W-52 (19/51) Ihl 2			Konnt	e nicht	bestimn	nt werd	1	1	
W-52 (19/51)			Konnt	e nicht	bestimn	nt werd 1	1		
W-52 (19/51) Ihl 2				e nicht		1	1 en	1	
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61		-				1	1 en	1	1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100						1	1 en en	1	1 1
W-52 (19/51) IhI 2 C 61 W 100 Se 142						1	1 en en	1	
W-52 (19/51) IhI 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23		_				1	en en 1	1	1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner						1	en en 1	1 1	1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44						1	1 en en 1	1 1	1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG)						1	1 en 1 1 1	1 1	1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5			Konnt			1	1 en 1 1 1	1 1 1	1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45		_	Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1	1 1 1	1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis	1	1	Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis Illert 65	1	1 1	Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis Illert 65 Bei 21	1		Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis Illert 65 Bei 21 Bei 22			Konnt			1	1 en	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis Illert 65 Bei 21 Bei 22 T-10-60			Konnt			1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1
W-52 (19/51) Ihl 2 C 61 W 100 Se 142 Zwies 23 C 44 Schreiner Schreiner? (KG) Brig 25/5 CVS 45 Esch 14 SU 115 Bliz 153 Bü 13 W 25 Wallis Illert 65 Bei 21 Bei 22 T-10-60 T-20-56			Konnt	te nicht.		1	1 en 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1 1 1 1 1	1 1 1 1

<u>Tabelle 5:</u> Mikrosatelliten-Genort PMGC2163 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb.

PMGC 2163

	193	195	197	199	201	203	205	207	209	211	213	215	217	227
		1											1	
Astria		1	1			1								
T-1-67				1							1			
T-1-67 (4. Baum)		1				1								
W-54				1							1			
Turesson 141 W-3						1			1					
W-66		1 1	4										1	
T-46-60		1	1										1	
Clone 7	1	'				1							'	
C-30	1	1				'								
Esch 2	1					1								
C-43	·	1				·								
W-52 (272)		1	1											
Rei-9/1		1				1								
Wä-17		1											1	
IIt-55		1				1								
W-97	1	1												
Esch 3	1					1								
Se-1	1								1					
W-92	1	1												
Se-9	1								1					
Syke-1/82		1											1	
Ihl 1							1			1				
Se-10		1							1					
W-52 (19/51)		1	1											
Ihl 2 C 61				1										1
W 100		1												
Se 142		1 1											1	
Zwies 23		1	1										•	
C 44		1	'											
Schreiner		1												
Schreiner? (KG)		1				1								
Brig 25/5		1	1											
CVS 45		1												
Esch 14		1				1								
SU 115		1												
Bliz 153		1	1											
Bü 13		1											1	
W 25		1	1											
Wallis		1												
Illert 65		1				1								
Bei 21		1	1	1										
Bei 22		1	1	1										
T-10-60	1	1												
T-20-56					1					1				
T-50-60		,		,	1		1							
T-5-61		1		1										

Tabelle 6: Mikrosatelliten-Genort WPM10 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

<u>WPMS 10</u>

	183	185	187	188	191	193	217	218	219	221	223	224	231	251	252	255
W 7	1		1													
Astria	1				1						1					
T-1-67			1													
T-1-67 (4. Baum)	1		1													
W-54			1													
Turesson 141			1						1							
W-3	1		1													
W-66	1															
T-46-60	1		1													
Clone 7		1	1													
C-30	1															
Esch 2	1								1							
C-43						1								1		
W-52 (272)	1				1											
Rei-9/1	1								1							
Wä-17	1		1													
IIt-55	1		1													
W-97	1							1								
Esch 3	1								1							
Se-1		1	1													
W-92	1							1								
Se-9		1	1													
Syke-1/82	1										1					
lhl 1						Konr	nte nich	t bestim	mt wer	den						
Se-10		1	1													
W-52 (19/51)	1				1											
lhl 2						Konr	nte nich	t bestim	ımt wer	den						
C 61	1													1		
W 100	1				1											
Se 142	1										1					
Zwies 23					1										1	
C 44						1								1		
Schreiner	1															
Schreiner? (KG)	1		1													
Brig 25/5	1			1					1							
CVS 45	1															
Esch 14		1	1													
SU 115	1															
Bliz 153	1									1						
Bü 13	1										1					
W 25	1															
Wallis	1															
Illert 65	1								1							
Bei 21	1			1					1			1				
Bei 22	1			1					1			1				
T-10-60			1						1							
T-20-56			1													
T-50-60													1			
T-5-61			1										1			

Tabelle 7: Mikrosatelliten-Genort WPM14 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

WPMS 14

	103	105	107	111	115	121	125	127	129	147	167
W 7		1		1							
Astria		1		1		1					
T-1-67		1							1		
T-1-67 (4. Baum)											
W-54		1							1		
Turesson 141		1						1			
W-3	1			1							
W-66			1	1							
T-46-60		1		1							
Clone 7		1?								1	
C-30			1	1							
Esch 2											
C-43				1							
W-52 (272)				1							
Rei-9/1		1			1						
Wä-17	1				1						
IIt-55 W-97			1								1
Esch 3		1		1							
Se-1			4	4							
W-92		1	1	1 1							
Se-9			1	1							
Syke-1/82		1	'	1							
Ihl 1		·		•							
Se-10		1		1							
W-52 (19/51)				1							
lhl 2											
C 61				1							
W 100											
Se 142	1			1							
Zwies 23				1					1		
C 44				1							
Schreiner			1	1							
Schreiner? (KG)		1		1							
Brig 25/5											
CVS 45		1	1								
Esch 14		1		1							
SU 115				1	1						
Bliz 153				1							
Bü 13 W 25		1	1								
Wallis				1							
Illert 65		4	1	1							
Bei 21		1		1							
Bei 22											
T-10-60		1									
T-20-56	1	1									
T-50-60	1	1									
T-5-61	1	'					1				
	•						•				

Tabelle 8: Mikrosatelliten-Genort WPM16 bei Altbäumen, beerntete Mutterbäume gelb unterlegt.

WPMS 16

	156	162	168	171	174	180	186	192	197
W 7			1				1		
Astria			1		1	1			
T-1-67							1		
T-1-67 (4. Baum)			1				1		
W-54							1		
Turesson 141							1		
W-3			1				1		
W-66	1								
T-46-60			1				1		
Clone 7			1					1	
C-30			1						
Esch 2		1					1		
C-43	1							1	
W-52 (272)	1				1			•	
Rei-9/1	·		1		•		1		
Wä-17			1				1		
IIt-55		1	'				1		
W-97		'			1		1		
Esch 3		1			1		1		
Se-1							1		
W-92		1							
VV-92 Se-9					1		1		
		1					1		
Syke-1/82			1				1		
Ihl 1								1	
Se-10		1					1		
W-52 (19/51)	1				1				
Ihl 2 C 61							1	1	
W 100	4					1	1		
Se 142	1								
	1						1		
Zwies 23						1		1	
C 44	1							1	
Schreiner		1					1		
Schreiner? (KG)		1					1		
Brig 25/5						1			
CVS 45			1			1			
Esch 14							1		
SU 115	1			1					
Bliz 153	1								1
Bü 13	1						1		
W 25	1			1					
Wallis	1					1			
Illert 65				1			1		
Bei 21			1		1				
Bei 22			1		1				
T-10-60						1	1		
T-20-56					1			1	
T-50-60						1	1		
T-5-61							1	1	
Wallis Illert 65 Bei 21 Bei 22 T-10-60 T-20-56 T-50-60					1	1	1		

Die selben Mikrosatelliten-Genorte, wie in Tabellen 2 bis 8 für die Altbäume dargestellt, wurden bei 210 Nachkommen des Mutterbaums W7 sowie bei 220 Nachkommen des Mutterbaums C61 (je 110 von der westlichen und der südlichen Kroneseite) untersucht. Aus der Tabelle 9 ist die Anzahl der Allele und Allelgrößen der einzelnen Mikrosatelliten-Genorte bei allen 430 untersuchten Nachkommen wiedergegeben.

<u>Tabelle 9:</u> Übersicht über die Anzahl der bei den untersuchten Nachkommen von W7 und C61 aufgetretenen Allele sowie deren Größen

Mikrosatelliten-		
Genort	Allelanzahl	Allelgrößen (bp)
PTR4	6	199 201 203 205 207 221
PTR5	8	245 246 252 255 257 259 261 263
PTR14	7	157 180 186 193 195 198 201
PMGC2163	12	193 195 197 199 201 203 205 207 209 211 215 217
WPMS10	13	183 185 187 188 191 193 217 218 219 221
		251 252 255
WPMS14	11	10 10 10 10 10 11 11 11 12 12 14
		3 5 6 7 8 1 3 5 1 7 1
WPMS16	9	156 162 168 171 174 176 180 186 192

Beim Vergleich der Anzahl der aufgetretenen Allele pro Mikrosatelliten-Genort ist festzustellen, dass im Vergleich zu den Pappel-Altbäumen bei PTR4 (2), PTR14 (2), PMGC2163 (2) und WPMS10 (3) die in Klammern angegebene Anzahl von Allelen weniger in der Nachkommenschaft vorkommen.

Sowohl in den Pappel-Altbäumen als auch in der Nachkommenschaft sind für jeden Mikrosatelliten-Genort häufige und seltene Allele zu finden (z.B. bei PTR4 sind Allele 199, 201, 203, bei PTR 5 Allele 253, 255 sowie bei PMGC2163 Allel 195 häufig). Dabei ist natürlich ein Allel eines Mikrosatelliten-Genorts, das bei dem Mutterbaum homozygot ist (z.B. Allel 205 von PTR4 oder Allel 114 von WPMS14 bei C61), in der Nachkommenschaft durchgehend vorhanden.

Die Ergebnisse der Allelverteilungen der Pappel-Altbäume sowie der Nachkommen sind zwecks Analyse der Allelfrequenzen und für die Vaterschaftsanalyse als

Fladung, M.: Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben: Modellierung des Genflusses für die Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Bäume für 01.06.2003 bis 31.03.2004, Teil Fladung, BFH

Tabelle 10: Ausschnitt aus einem Ergebnisfile für W7 nach Vaterschaftsanalyse durch CERVUS 2.0

Candidate parent ID	Offsp ID	O loci typed	Known parent ID	KP loci typed	KP class	O-KP loci compared	0-KP loci mismatching	Prob. non- exclusion	CP loci typed	O-CP loci compared	O-CP loci mismatching	O-KP-CP loci compared	O-KP-CP loci mismatching	LOD	Delta	Confidence
T1-67	269	7	W7	7	Typed	7	0	1,08E+11	7	7	0	7	1	2,53E+14	6,81E+13	*
Tur141	236	7	W7	7	Typed	7	0	1,07E+12	7	7	0	7	0	3,80E+14	9,69E+13	*
Tur141	245	7	W7	7	Typed	7	0	2,78E+10	7	7	1	7	1	3,80E+14	2,01E+14	*
Tur141	246	7	W7	7	Typed	7	0	8,39E+10	7	6	0	6	1	3,18E+14	1,28E+14	*
Tur141	255	7	W7	7	Typed	7	0	1,18E+12	7	7	0	7	0	3,78E+14	9,16E+12	*
Tur141	315	7	W7	7	Typed	7	0	1,11E+10	7	7	2	7	2	2,14E+14	4,09E+13	*
Tur141	339	7	W7	7	Typed	7	0	1,17E+10	7	7	1	7	1	4,48E+14	2,46E+14	*
Tur141	349	7	W7	7	Typed	7	0	7,12E+10	7	5	0	5	1	3,26E+14	7,89E+13	*
Tur141	356	7	W7	7	Typed	7	0	3,81E+11	7	7	0	7	0	4,73E+14	1,42E+14	*
Tur141	368	7	W7	7	Typed	7	0	2,30E+10	7	7	0	7	0	6,75E+14	4,33E+14	*
Tur141	371	7	W7	7	Typed	7	0	3,84E+11	7	7	0	7	0	4,71E+14	1,54E+14	*
Tur141	385	7	W7	7	Typed	7	0	1,27E+10	7	7	0	7	0	7,59E+14	6,60E+14	*
Tur141	390	7	W7	7	Typed	7	0	1,89E+10	7	7	1	7	1	3,71E+14	1,81E+14	*
Tur141	405	7	W7	7	Typed	7	0	5,11E+11	7	7	1	7	1	1,72E+14	1,23E+11	*
W66	319	7	W7	7	Typed	7	0	2,93E+10	7	7	0	7	1	3,51E+14	1,00E+14	*
Clone7	243	7	W7	7	Typed	7	0	2,32E+10	7	7	0	7	0	6,04E+14	4,44E+14	*
C30	202	7	W7	7	Typed	7	0	5,03E+11	7	7	1	7	2	2,23E+14	4,04E+12	*
C30	381	7	W7	7	Typed	7	0	9,39E+11	7	6	1	6	1	2,32E+14	6,38E+13	*
W52/272	206	7	W7	7	Typed	7	0	1,80E+10	7	7	0	7	0	5,85E+14	6,47E+13	*
W52/272	208	7	W7	7	Typed	7	0	5,06E+10	7	7	0	7	0	5,18E+14	6,55E+13	*
W52/272	212	7	W7	7	Typed	7	0	3,38E+11	7	7	0	7	0	3,52E+14	6,47E+13	*
W52/272	225	7	W7	7	Typed	7	0	1,57E+10	7	7	0	7	0	6,00E+14	6,55E+13	*
W52/272	235	7	W7	7	Typed	7	0	2,97E+09	7	7	0	7	0	7,50E+14	6,55E+13	*
W52/272	241	7	W7	7	Typed	7	0	1,44E+10	7	7	0	7	0	6,21E+14	6,55E+13	*
W52/272	251	7	W7	7	Typed	7	0	6,94E+11	7	7	0	7	0	2,88E+14	6,47E+13	*

Datenfiles in das Programm CERVUS 2.0 eingegeben worden. Mit Hilfe des Programms werden Wahrscheinlichkeiten berechnet, Nachkommen bei bekannter Mutter einen putativen Vater zuzuordnen. Zur Veranschaulichung der durchgeführten Berechnungen durch das Programm CERVUS ist in Tabelle 10 ein Ausschnitt aus einem Ergebnisfile wiedergegeben. In der zweiten Spalte ist die Nummer des Sämlings aus der Nachkommenschaft, in Spalte 4 die Mutter (bekannt) und in Spalte 1 der möglicher Vater. Für alle Sämlinge, denen eindeutig ein Vater zugeordnet werden kann, muss die Anzahl der in der Analyse berücksichtigten Mikrosatelliten-Genorte genau "7" ("O-KP-CP loci compared", Spalte 13) sowie die Anzahl der nichtpassenden Allele "0" ("O-KP-CP loci mismatching", Spalte 14) betragen. Schließlich müssen LOD-Wert (Spalte 15) gering und die Konfidenz (Spalte 16) gegeben sein.

Unter Berücksichtigung aller genannten Bedingungen konnten die Allelzusammensetzungen an sieben Mikrosatelliten-Genorten von jeweils 210 Nachkommen der Mutterbäume W7 und C61 in das Programm CERVUS 2.0 eingegeben und ausgewertet werden. Zwanzig Nachkommen, deren Allele an einzelnen Mikrosatelliten-Genorte nicht eindeutig bestimmt werden konnten, wurden aus den Analysen ausgeschlossen.

Das Ergebnis der CERVUS-Simulation und der nachfolgenden Auswertung ist in Tabelle 11 dargestellt. Dabei sind die Daten für C61, von dem nach den Himmelsrichtungen Süd und West Samen geerntet wurden, zusammengefasst, da sich in der nach Himmelsrichtung getrennten Auswertung keine Unterschiede ergaben. Bei den Nachkommen des Mutterbaums C61 konnte zu knapp einem Drittel W52(19/51) als Vater identifiziert werden, gefolgt von W52/272 mit etwa 12%. Dreizehn weitere Bäume waren mit je bis zu einem Anteil von 3,8% bei der Nachkommenschaft von C61 als Pollenspender identifizierbar. Beim Mutterbaum W7 wurde mit einem Anteil von ebenfalls etwa einem Drittel der Baum SU115 als Vater identifiziert, gefolgt von W52/272 mit 10,5%. Bei der Nachkommenschaft von W7 waren 14 weitere Bäume mit je bis zu einem Anteil von 5,7% als Pollenspender nachweisbar. In den Abbildungen 5 und 6 ist die örtliche Lage der Bäume im Arboretum wiedergegeben, die für die Nachkommenschaften von C61 und W7 als Pollenspender fungiert haben. Vaterbäume, die in unmittelbarer Nähe der Mutterbäume stehen, sind mit grünen Punkten versehen, Ramets dieser Vaterbäume weiter entfernt vom jeweiligen Mutterbaum sind mit grauen Punkten markiert. Dabei sind jeweils die beiden Vaterbäume mit den höchsten Befruchtungsanteil, die nahe am Mutterbaum stehen, mit einer dicken grünen Linie und Ramets des gleichen Vaterbaums in weiterer Entfernung zum Mutterbaum mit einer dünnen grünen Linie eingekreist wiedergegeben.

<u>Tabelle 11:</u> Zusammenfassende Auswertung der CERVUS-Simulation zur Vaterschaftsanalyse für die Nachkommenschaften von C61 und W7.

Väter Confident	<u>C61</u>	%	<u>W7</u>	%
T1-67 (4. Baum)				
Turesson141			6	2,9
W66	1	0,5		
T-46-60			2 1	1,0
Clone7			1	0,5
C30	2 2	1,0		
C43	2	1,0	2	1,0
W52/272	25	11,9	22	10,5
Wä17				
W97			1	0,5
Se1			1	0,5
Syke1/82	1	0,5		
Ihl1	1	0,5	3 1	1,4
W52 (19/51)	66	31,4	1	0,5
C44	1	0,5		
Schreiner			2	1,0
Schreiner? (KG)	2	1,0		
CVS45	1	0,5		
Esch14	2	1,0		
SU115	8	3,8	74	35,2
Blitz153				
Bü13				
W25	1	0,5	12	5,7
Wallis	2	1,0	6	2,9
Illert65			2	1,0
T-10-60			3	1,4
Unbekannt	95	45,2	72	34,3
Gesamt	118	56,2	139	66,2

Allerdings muss auch festgestellt werden, dass bei 43,8% der Nachkommenschaft von C61 sowie bei 33,8% der Nachkommenschaft von W7 Vaterbäume nicht zweifelsfrei identifiziert werden konnten.

Alle Väter, die jeweils als Pollenspender bei den Nachkommenschaften von C61 und

Abbildung 5: Lage der putativen Vaterbäume im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf, die nahe am Mutterbaum (C61, rot eingekreist) stehen, sind mit grünen Punkten gekennzeichnet. Ramets dieser Bäume weiter entfernt sind mit grauen Punkten markiert. Die beiden Vaterbäume W52(19/51) und W52/272 mit jeweils einem Anteil von 31,4 und 11,9%, nahe an C61 sind dick grün, Ramets weiter entfernt dünn grün eingekreist (s.a. Text).

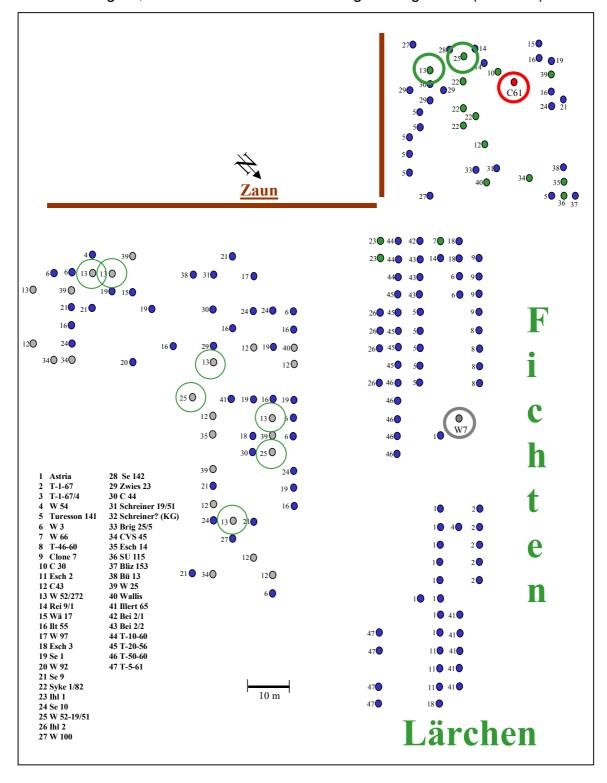
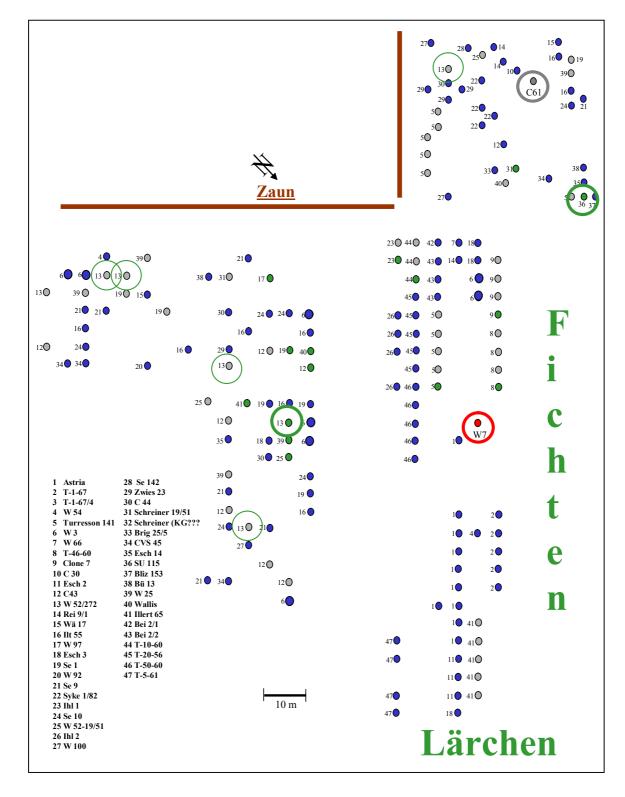


Abbildung 6: Lage der putativen Vaterbäume im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf, die nahe am Mutterbaum (W7, rot eingekreist) stehen, sind mit grünen Punkten gekennzeichnet. Ramets dieser Bäume weiter entfernt sind mit grauen Punkten markiert. Die beiden Vaterbäume SU115 und W52/272 mit jeweils einem Anteil von 35,2 und 10,5%, nahe an W7 sind dick grün, Ramets weiter entfernt dünn grün eingekreist (s.a. Text).



W7 fungiert haben, stehen in einem Abstand von bis zu maximal 50 Metern vom Mutterbaum entfernt. Zwar sind Ramets dieser Bäume im Arboretum auch in größerer Entfernung zum Mutterbaum anzutreffen, doch ist die Wahrscheinlichkeit entsprechend geringer, dass diese den reproduktiv wirksamen Pollen entlassen haben.

4. Literaturangaben:

Dayanandan S, Rajora OP, Bawa KS: Isolation and characterization of microsatellites in trembling aspen (*Populus tremuloides*). THEOR APPL GENET 96 (6-7): 950-956 MAY 1998

Marshall T: CERVUS 2.0. http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/cervus.html.

Rahman MH, Dayanandan S, Rajora OP: Microsatellite DNA markers in *Populus tremuloides*. GENOME 43 (2): 293-297 APR 2000.

5. Zusammenfassung:

Die im Rahmen der Auswertung der Wetter- und Pollenemissionsdaten sowie der Vaterschaftsanalyse von Pappeln erhaltenen Ergebnisse können wie folgt bewertet werden:

- (a) Die Temperaturentwicklung im Jahr 2003 entspricht der Kurve der Konzentration von Pappelpollen in der Luft. Nach Schlünzen ist ebenfalls ein Einfluss der relativen Feuchte auf die Emission von Pollen zu vermuten.
- (b) Eine Abhängigkeit der Flugrichtung des reproduktiv wirksamen Pollens von Wind oder anderen klimatischen Faktoren ist nicht zu erkennen: bei C61 stehen die beiden wahrscheinlich überwiegend an der Befruchtung beteiligten Bäume nördlich vom Mutterbaum in einem Abstand von etwa 25 Metern. Bei W7 steht der eine überwiegend an der Befruchtung beteiligte Vaterbaum östlich etwa 50 Meter entfernt, der andere nordwestlich in etwa 40 Meter.
- (c) Ein großer Anteil von etwa 60 bis 70% des reproduktiv wirksamen Pollens stammt wahrscheinlich von Pappeln, die bis zu maximal 100 Metern vom Mutterbaum entfernt sind. Dieses ist unter der Berücksichtigung, dass Pappel windbestäubend ist und somit der Pollen (zumindest theoretisch) weite Entfernungen zurücklegen kann, ein überraschendes Ergebnis.
- (d) Das bedeutet andererseits, dass 30 bis 40% des reproduktiv wirksamen Pollens von Pappeln stammt, die außerhalb des Arboretums vorkommen. Das Ergebnis deutet an, dass reproduktiv wirksamer Pappelpollen Distanzen von mehr als 100 Meter zurücklegen kann.

(e) Die überwiegende Mehrzahl der an der Befruchtung beider Mutterbäume identifizierten Vaterbäume stehen in unmittelbarer Nähe der Mutterbäume (im Umkreis von nur etwa 30 bis 60 Meter Entfernung).

6. Erfolgskontrollbericht

In diesem Teilprojekt wurde in den zur Verfügung stehenden neun Monaten die Nachkommenschaft von zwei Pappel-Mutterbäumen mithilfe von Mikrosatelliten-Genmarkern untersucht. Es wurden Ergebnisse darüber erhalten

- wie viele V\u00e4ter aus dem Arboretum zu welchem Anteil an der Befruchtung von zwei Mutterb\u00e4umen beitragen,
- wie hoch ist der Polleneintrag von außerhalb des Arboretums ist.

Förderungspolitischer Bezug

Für das Gesamtprojekt sollte mit Hilfe eines Computermodells ein pollenvermittelter Genfluss dargestellt werden. Mit diesem Modell ist letztlich eine Abschätzung des Risikos eines vertikalen Gentransfers ausgehend von gentechnisch veränderten Bäumen am Beispiel der Pappel möglich. Um jedoch dieses Modells validieren zu können, ist es unabdingbar, reale Daten zum Genfluss bei der Pappel zur Verfügung zu haben. Damit ist auch der förderungspolitische Bezug zur Forschung im Bereich 'Biologische Sicherheit und Risikoabschätzung von Transgenen sofort erkennbar.

Wissenschaftlich-technische Ergebnisse

Die im Rahmen der Auswertung der Wetter- und Pollenemissionsdaten sowie der Vaterschaftsanalyse von Pappeln erhaltenen Ergebnisse können wie folgt bewertet werden:

- (a) Die Temperaturentwicklung im Jahr 2003 entspricht der Kurve der Konzentration von Pappelpollen in der Luft.
- (b) Eine Abhängigkeit der Flugrichtung des reproduktiv wirksamen Pollens von Wind oder anderen klimatischen Faktoren ist nicht zu erkennen.
- (c) Ein großer Anteil von etwa 60 bis 70% des reproduktiv wirksamen Pollens stammt wahrscheinlich von Pappeln, die bis zu maximal 100 Metern vom Mutterbaum entfernt sind.

- (d) Das bedeutet andererseits, dass 30 bis 40% des reproduktiv wirksamen Pollens von Pappeln stammt, die **außerhalb des Arboretums** vorkommen.
- (e) Die überwiegende Mehrzahl der an der Befruchtung beider Mutterbäume identifizierten Vaterbäume stehen in unmittelbarer Nähe der Mutterbäume (im Umkreis von nur etwa 30 bis 60 Meter Entfernung).

Verwertungsplan

Die vorhandenen Daten zum Genfluss bei der Pappel können nun dazu verwendet werden, das Modell INTROGRESSION (Bialozyt, Ziegenhagen, Universität Marburg) zu validieren.

Weitere Angaben zur Verwertung des Modells INTROGRESSION s. Bericht Ziegenhagen (Marburg).

Einhaltung der Finanz- und Zeitplanung

Die mit Schreiben vom 08.05.2003 dargelegte Finanzplanung, modifiziert mit Schreiben vom 18.08.2003, wurde eingehalten. Ebenfalls war keine Abweichung von der Zeitplanung eingetreten.

7. Kurzfassung des Schlussberichts

Im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Großhansdorf, der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft (BFH) wurden im Jahr 2002 fünf weibliche Bäume identifiziert, die im gleichen Jahr geblüht haben und Samenansatz zeigten. Die Nachkommenschaft von zwei Bäumen wurde im weiteren Verlauf dieses Teilprojekts untersucht. Im o.g. Arboretum wurden insgesamt 47 verschiedene, putative Vätergenotypen identifiziert und kartiert. Mit Hilfe von hoch auflösenden Mikrosatelliten-Genorten sollte in dem von der BFH bearbeiteten Teilprojekt der Frage nachgegangen werden, welchen Anteil benachbarte Bäume am Genfluss bei Windbestäubern haben bzw. ob der Hauptanteil des Polleneinflugs doch von weiter entfernt stehenden Bäumen kommt.

Als Ergebnis der Untersuchungen sollte Aufschluss darüber erhalten werden:

 wie viele V\u00e4ter aus dem Arboretum tragen zu welchem Anteil an der Befruchtung der zwei B\u00e4ume bei,

- gibt es Unterschiede, auf welcher Kronenseite Samen gebildet wurden, und
- wie hoch ist der Polleneintrag von außerhalb des Arboretums.

Für die Vaterschaftsanalyse haben sich bevorzugt Mikrosatelliten-Genorte als geeignete Marker erwiesen. Aus z.Z. für die Pappel über 100 bekannten und zur Verfügung stehenden Mikrosatelliten-Genorten wurden zwölf Genorte, die bei den Müttern poly- und monomorph sind, ausgesucht: PTR4, PTR5, PMGC639PMGC2163, PMGC2855, WPMS05, WPMS08, WPMS10, WPMS14, WPMS16, WPMS20. Primersequenzen für die verwendeten Mikrosatelliten-Genorte und PCR-Bedingungen wurden nach Dayanandan et al. (1998) sowie Rahman et al. (2000) ausgewählt. Von den zwölf Genorten erwiesen sich nur die folgenden sieben als auswertbar: PTR4, PTR5, PTR14, PMGC2163, WPMS10, WPMS14, WPMS16. Die Analyse der Allelfrequenzen, Simulation der Vaterschaftsanalyse sowie die eigentliche Vaterschaftsanalyse wurde mit Hilfe des Programms CERVUS 2.0 von Tristan Marshall (1998-2001; http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/cervus.html)

Die Lage der beiden Mutterbäume sowie der 47 putativen Väter im Arboretum, die sich alle im Umkreis von 100 bis 200 Meter von den beiden Mutterbäumen befinden, sollte bestimmt und in eine Karte eingezeichnet werden.

durchgeführt.

Konzentration von Pappelpollen in der Luft und meteorologische Bedingungen in 2003 Leider stehen keine quantitativen Daten zum Pollenflug der Pappel aus Hamburg/Ahrensburg/Großhansdorf zur Verfügung. Die nahest gelegene Pollenmessstation befindet sich in Lübeck (Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst), die sich freundlicherweise bereit erklärt hatten, die in Daten zur Pappelpollenkonzentration im Jahr 2003 zur Verfügung zu stellen.

Erste Pollenemissionen der Pappel im Jahr 2003 wurden am 24.03. festgestellt, danach gab es bis zum 11.04. vereinzelt geringe Pollenemissionen. Ab dem 12.04. stieg die Pollenemission schlagartig an, fand ihren Höhepunkt (etwa 60 Pollen pro m³ Luft im Tagesmittel) am 15./16.04., und nahm danach wieder ab. Geringe Mengen an Pappelpollen in der Luft konnten bis zum 08.05.03 festgestellt werden.

Wetterdaten (Tagesmittelwerte) liegen sowohl von der eigenen Messstation im Arboretum des Instituts in Großhansdorf sowie von den Stationen Hamburg Flughafen sowie Hamburg Wandsbek vor, die vom Deutschen Wetterdienst, Offenbach, erhalten wurden. Aus Großhansdorf liegen Tagesmittelwerte zur Lufttemperatur in 2 Meter Höhe, Luftfeuchte, Strahlung und Niederschlag vor. Über die Lufttemperatur konnten die Daten aus Großhansdorf mit denen vom Deutschen Wetterdienst für Hamburg Flughafen abgeglichen werden. So konnten zusätzlich Tagesmittelwerte zur Windstärke und Sonnenscheindauer vom Hamburger Flughafen berücksichtigt werden.

Der Vergleich der Diagramme zur Pollenemission und den Wetterdaten lässt für das Jahr 2003 eine Abhängigkeit der Pappelpollenkonzentration in der Luft von der Temperatur vermuten. Die Wetterparameter Luftfeuchte, Strahlung, Niederschlag, Windstärke und Sonnenscheindauer scheinen keinen Einfluss auf die Konzentration von Pappelpollen in der Luft an der Messstation Lübeck zu haben. Leider war es nicht möglich, Daten zur Windrichtung zu erhalten.

Ergebnisse der Mikrosatelliten- und Vaterschaftsanalysen

Sowohl in den Pappel-Altbäumen als auch in der Nachkommenschaft sind für jeden Mikrosatelliten-Genort häufige und seltene Allele zu finden (z.B. bei PTR4 sind Allele 199, 201, 203, bei PTR 5 Allele 253, 255 sowie bei PMGC2163 Allel 195 häufig). Dabei ist natürlich ein Allel eines Mikrosatelliten-Genorts, das bei dem Mutterbaum homozygot ist (z.B. Allel 205 von PTR4 oder Allel 114 von WPMS14 bei C61), in der Nachkommenschaft durchgehend vorhanden.

Die Ergebnisse der Allelverteilungen der Pappel-Altbäume sowie der Nachkommen sind zwecks Analyse der Allelfrequenzen und für die Vaterschaftsanalyse als Datenfiles in das Programm CERVUS 2.0 eingegeben worden. Mit Hilfe des Programms werden Wahrscheinlichkeiten berechnet, Nachkommen bei bekannter Mutter einen putativen Vater zuzuordnen. Die im Rahmen der Auswertung der Wetterund Pollenemissionsdaten sowie der Vaterschaftsanalyse von Pappeln erhaltenen Ergebnisse können wie folgt bewertet werden:

- (f) Die Temperaturentwicklung im Jahr 2003 entspricht der Kurve der Konzentration von Pappelpollen in der Luft. Nach Schlünzen ist ebenfalls ein Einfluss der relativen Feuchte auf die Emission von Pollen zu vermuten.
- (g) Eine Abhängigkeit der Flugrichtung des reproduktiv wirksamen Pollens von Wind oder anderen klimatischen Faktoren ist nicht zu erkennen: bei C61 stehen

- die beiden wahrscheinlich überwiegend an der Befruchtung beteiligten Bäume nördlich vom Mutterbaum in einem Abstand von etwa 25 Metern. Bei W7 steht der eine überwiegend an der Befruchtung beteiligte Vaterbaum östlich etwa 50 Meter entfernt, der andere nordwestlich in etwa 40 Meter.
- (h) Ein großer Anteil von etwa 60 bis 70% des reproduktiv wirksamen Pollens stammt wahrscheinlich von Pappeln, die bis zu maximal 100 Metern vom Mutterbaum entfernt sind. Dieses ist unter der Berücksichtigung, dass Pappel windbestäubend ist und somit der Pollen (zumindest theoretisch) weite Entfernungen zurücklegen kann, ein überraschendes Ergebnis.
- (i) Das bedeutet andererseits, dass 30 bis 40% des reproduktiv wirksamen Pollens von Pappeln stammt, die außerhalb des Arboretums vorkommen. Das Ergebnis deutet an, dass reproduktiv wirksamer Pappelpollen Distanzen von mehr als 100 Meter zurücklegen kann.
- (j) Die überwiegende Mehrzahl der an der Befruchtung beider Mutterbäume identifizierten Vaterbäume stehen in unmittelbarer Nähe der Mutterbäume (im Umkreis von nur etwa 30 bis 60 Meter Entfernung).