Forstgenetik und Naturschutz

5. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung am 15./16. Juni 2016 in Chorin

Tagungsband

Mirko Liesebach (ed)

Thünen Report 45

Forstgenetik und Naturschutz

5. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung am 15./16. Juni 2016 in Chorin

Tagungsband

Mirko Liesebach (ed)

Thünen Report 45

Bibliografische Information:
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikationen in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet unter www.dnb.de abrufbar.

Bibliographic information:
The Deutsche Nationalbibliothek (German National Library) lists this publication in the German National Bibliography; detailed bibliographic data is available on the Internet at www.dnb.de

Bereits in dieser Reihe erschienene Bände finden Sie im Internet unter www.thuenen.de

Volumes already published in this series are available on the Internet at www.thuenen.de

Zitationsvorschlag – *Suggested source citation:*
Liesebach M (ed) (2016) Forstgenetik und Naturschutz : 5. Tagung der Sektion Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung am 15./16. Juni 2016 in Chorin ; Tagungsband. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 95 p, Thünen Rep 45, DOI:10.3220/REP1481033372000

Die Verantwortung für die Inhalte liegt bei den jeweiligen Verfassern bzw. Verfasserinnen.

The respective authors are responsible for the content of their publications.

THÜNEN

Thünen Report 45

Herausgeber/Redaktionsanschrift – *Editor/address*

Johann Heinrich von Thünen-Institut
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Germany

thuenen-report@thuenen.de
www.thuenen.de

ISSN 2196-2324
ISBN 978-3-86576-164-4
DOI:10.3220/REP1481033372000
urn:nbn:de:gbv:253-201612-dn057763-4

Anwenderfreundliche DNA-Marker zur Herkunftsidentifizierung von Eichenholz

HILKE SCHROEDER, BERND DEGEN, BIRGIT KERSTEN

Thünen-Institut für Forstgenetik, Großhansdorf

Zusammenfassung

Der illegale Holzhandel ist ein weltweit schwerwiegendes Problem, von dem auch in den gemäßigten Breiten diverse Baumarten stark betroffen sind. So ist z.B. das sehr wertvolle Holzsortiment der Weißeiche (Gattung *Quercus*, Sektion Quercus) stark vom illegalen Handel betroffen. Neben anderen Einrichtungen berichtet die EIA (environmental investigation agency, http://eia-global.org/news-media/liquidating-the-forests) über einen alarmierenden Anstieg illegalen Holzeinschlags von wertvollen Laubhölzern insbesondere im Fernen Osten. Global agierende Holzhandelsunternehmen sind aufgrund des American Lacey Act und des europäischen FLEGT Aktionsplans verpflichtet, die botanische Art und Herkunft der gehandelten Hölzer zu deklarieren. Daher wuchs spätestens mit dem Inkrafttreten der EU-Holzhandelsverordnung im März 2013 die Nachfrage nach Methoden zum Art- und Herkunftsnachweis. Wenn hier optische Verfahren an ihre Grenzen stoßen, sind genetische Marker eine fälschungssichere Methode, um diese Lücke zu schließen. Zur Identifizierung genetischer Unterschiede von Weißeichen verschiedener Art und Herkunft wurden Sequenziermethoden der neuen Generation angewandt. Auf der Grundlage verschiedener DNA Polymorphismen in der plastidären DNA haben wir zunächst ein Markerset entwickelt, mit dessen Hilfe der kontinentale Ursprung von Eichenholz geklärt werden kann. Für die Anwendbarkeit des Markersets ist keine hochmoderne Ausstattung notwendig, so dass in jedem Labor diese Tests durchgeführt werden können. Des Weiteren haben wir ein Set von Markern zusammengestellt, um den Ursprung von eingeschlagenem Holz der CITES-geschützten Mongolischen Eiche (*Quercus mongolica*) im Fernen Osten eingrenzen zu können.

Schlüsselwörter: illegaler Holzeinschlag, Quercus, molekulare Marker, Chloroplasten-DNA, Herkunftsidentifizierung

Abstract

User-friendly DNA-marker to identify the origin of oak timber

Trading of illegally logged timber is worldwide a serious problem concerning also several tree species in temperate latitudes. Particularly, the very valuable timber assortment of the section white oak (genus *Quercus*, section Quercus) is affected. Besides other agencies the EIA (environmental investigation agency, http://eia-global.org/news-media/liquidating-the-forests) reported an alarming increase of illegal logging of valuable deciduous wood, especially in the Far East. Globally acting timber trading companies are obliged to declare botanical species and geographic origin of the traded timber because of the American Lacey Act and the FLEGT action plan. Hence, at latest with the entry into force of the EU timber regulation in March 2013, the demand for reliable methods for precise species and origin verification increased. Wood-anatomical methods do not work for species identification and least at all for the identification of wood origin in white oaks. Thus, molecular markers are the methods of choice for such a task. Next Generation Sequencing (NGS) methods have been applied to identify molecular polymorphisms between different oak species from different

geographic origins. Based on these plastid DNA polymorphisms, first of all we developed a marker set to declare the continental origin of oak timber. This marker set can easily be used without need of highly modern equipment, thus, it can be applied in every laboratory. Furthermore, we put together a set of markers to narrow down the origin of logged timber of the CITES protected Mongolian oak (*Quercus mongolica*) in the Far East.

Key words: illegal logging, Quercus, molecular marker, chloroplast DNA, identification of origin

Einleitung

Der illegale Holzhandel ist ein weltweit schwerwiegendes Problem. In den letzten Jahren richtete sich die Aufmerksamkeit meist auf tropische Regionen, obwohl auch in den gemäßigten Breiten diverse Baumarten stark betroffen sind. Dazu zählt insbesondere das Holzsortiment der Weißeiche (Gattung *Quercus*, Sektion Quercus). Deren Hölzer gehören aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften zu den wertvollsten ihrer Gattung und nehmen deshalb in Europa und den USA einen hohen Marktanteil ein. Die wichtigsten Handelshölzer dieses Sortiments sind zwei in Europa heimische Eichen, die Stiel- und Trauben-Eiche (*Q. robur*, *Q. petraea*), die in Ost-Asien beheimatete Mongolische Eiche (*Q. mongolica*) sowie einige in Nordamerika vorkommende Arten (v.a. *Q. alba*, *Q. bicolor*, *Q. macrocarpa*, *Q. muehlenbergii*).

Verschiedene Umweltorganisationen berichten, dass der illegale Einschlag wertvoller Laubhölzer, vor allem im Fernen Osten, bedenklich angestiegen ist. So beträgt der Anteil illegalen Holzeinschlags am weltweiten Handel z.B. in Russland 22 % (Internetquelle 1, 2, DIETER ET AL. 2012). Vergleichende Analysen der Exportdaten für die Jahre 2004-2011 zeigen, dass in diesem Zeitraum doppelt bis viermal mehr Eichenholz (*Q. mongolica*, Mongolische Eiche) für den Export nach China eingeschlagen wurde (zwischen 0,7 bis 1,7 Mio. m^3 pro Jahr), als gesetzlich erlaubt gewesen wäre. Abnehmer sind meist chinesische Produzenten für Möbel und Bodenbeläge, deren Produkte für die Märkte in den USA, in Europa und in Japan bestimmt sind (SMIRNOV et al. 2013). Erst 2013 ist in den USA ein spektakulärer Fall illegalen Holzhandels aufgedeckt worden, in den ein großes amerikanisches Holzhandelsunternehmen verstrickt war (Internetquelle 1). Auch erste genetische Voruntersuchungen bestätigen, dass in China hergestellte und als deutsche oder europäische Eiche deklarierte Massivholzprodukte möglicherweise ganz oder teilweise aus *Q. mongolica* zweifelhafter Herkunft bestehen (SCHROEDER et al., unveröffentlichte Ergebnisse).

International agierende Holzhandelsunternehmen riskieren Verstöße gegen US- und EU-Gesetze (Lacey Act, FLEGT, Holzhandelsverordnung; DORMONTT et al. 2015), die sie zu einer genauen Deklaration der botanischen Art und der geographischen Herkunft des Holzes verpflichten (DEGEN und HÖLTKEN 2011). Als Beitrag zum globalen Waldschutz ist am 3. März 2013 in der EU die Holzhandelsverordnung in Kraft getreten. Sie verbietet den Import und den Handel mit illegal eingeschlagenem Holz und daraus hergestellten Produkten. Händler, die Holz und Holzprodukte in die EU einführen, müssen daher besondere Sorgfaltspflichten beachten.

Diese neue Gesetzeslage, die erhöhte Sensibilität in der Bevölkerung und der hohe Marktanteil der Weißeichen sind Gründe für eine ständig steigende Nachfrage an eindeutigen Art- und Herkunftsnachweisen. Nicht nur staatliche Kontrollorgane und NGOs sind an solchen Verfahren interessiert, sondern auch private Unternehmen, die zur Sorgfaltspflicht angehalten werden. Bei den Weißeichen scheitern Kontrollmethoden allerdings bereits bei der Überprüfung der Holzart, denn eine taxonomische Differenzierung ist selbst nach mikroskopischen Untersuchungen nicht möglich (persönliche Mitteilung, Dr. Gerald Koch, Thünen-Institut für Holzforschung, Hamburg). Dies gilt im Besonderen für die Identifizierung der geographischen Herkunft des Holzes, welche von zunehmender Bedeutung ist, da durch den illegalen Einschlag, speziell von *Q. mongolica* besonders wertvolle Ökosysteme betroffen sind. Dazu zählen der Ferne Osten Russlands mit seinen Grenzgebieten zu China (z.B. Amur-Region – ein Zentrum der Biodiversität), aber auch das Europäische Russland bis in den südlichen Ural (Internetquelle 1). Dieser Problematik wurde mit der

Entwicklung von molekularen Markern zur Identifizierung der Eichenarten und der Herkunft von Eichen begegnet. Die Entwicklung der Marker basiert auf „Next Generation Sequencing“ (NGS)-Methoden mit nachfolgender bioinformatischer Analyse, die zur Identifizierung von SNPs („single nucleotid polymorphism“) und InDels („insertion/deletion“) führte.

Material und Methoden

Die Entwicklung der Marker erfolgte an Blattmaterial. Die hierfür notwendige DNA-Extraktion erfolgte nach einem ATMAB-Protokoll (DUMOLIN et al. 1995, leicht modifiziert). Im weiteren Verlauf erfolgte die Anpassung der Marker auf Holz. Hierfür wurde ein eigens angefertigtes Extraktionsprotokoll verwendet (LOWE et al. 2015).

Zwei Pools der Gesamt-DNA von je 20 Individuen von *Q. robur* und *Q. mongolica* sowie die Gesamt-DNA eines einzelnen *Q. mongolica*-Individuums (Referenzindividuum) wurden mittels NGS (Illumina; miSeq; GATC) sequenziert. Außerdem standen Illumina (HiSeq)-Daten von 47 Einzelindividuen von 11 weiteren europäischen, asiatischen und amerikanischen *Quercus*-Arten (SCHROEDER et al. 2016) für die weitere Auswertung zur Verfügung. Die anschließende bioinformatische Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software CLC Genomics Workbench. Eine detaillierte Beschreibung dieser Analyse sowie der Markerentwicklung und -validierung für die kontinentale Unterscheidung von Weißeichen findet sich in SCHROEDER et al. (2016).

Für die Entwicklung von Markern zur Identifizierung von Herkünften innerhalb von *Q. mongolica* wurde dieselbe Datengrundlage verwendet. Hierfür wurden jedoch speziell SNPs und InDels ausgewählt, die innerhalb von *Q. mongolica* Unterschiede aufwiesen. Diese wurden in einem MassArray Ansatz analysiert und auf ihre Qualität zur Herkunftsdifferenzierung überprüft. Die Auswertung der MassArray Daten erfolgte mit dem Softwareprogramm GDA_NT (DEGEN 2008).

Ergebnisse

Markerentwicklung

Die Markerentwicklung zur Artdifferenzierung erfolgte basierend auf Chloroplasten-DNA-Sequenzen, da Chloroplasten-Marker erfahrungsgemäß sehr robust sind. Zur potentiellen Artdifferenzierung wurden solche SNPs und InDels selektiert, die in den NGS-Daten (Pools oder Einzelindividuen) einer (oder mehrerer) Arten jeweils mit einer Allelfrequenz von etwa 100 % im Vergleich zur Sequenz des *Q. mongolica*-Referenzsequenzindividuums vorlagen.

Für die Entwicklung von Markern, die geographische oder Populationsunterschiede innerhalb *Q. mongolica* abbilden, wurden neben Chloroplastensequenzen auch mitochondriale Sequenzen verwendet. Basierend auf den NGS-Daten des *Q. mongolica*-Pools wurden solche SNPs und InDels als potentiell Herkunfts-differenzierend selektiert, bei denen mindestens zwei Allele im Pool zu unterschiedlichen Prozentzahlen vorhanden waren und an deren Position in der Referenzsequenz nur ein Allel vorlag. Die selektierten SNPs und InDels wurden dann für die weitere Markerentwicklung verwendet.

Differenzierung des kontinentalen Ursprungs

Für die Unterscheidung von Weißeichen aus den drei Kontinenten Asien, USA und Europa wurden aus ursprünglich über 700 Nukleotidvariationen schließlich fünf InDels und ein SNP ausgewählt, die in einem Markerset zusammengefasst wurden. Das Markerset kann mit einem Sequenzierer (Abb. 1) oder - in Laboren ohne Sequenzierer - mit Hilfe eines Polyacrylamid-Gels (Abb. 2) analysiert werden.

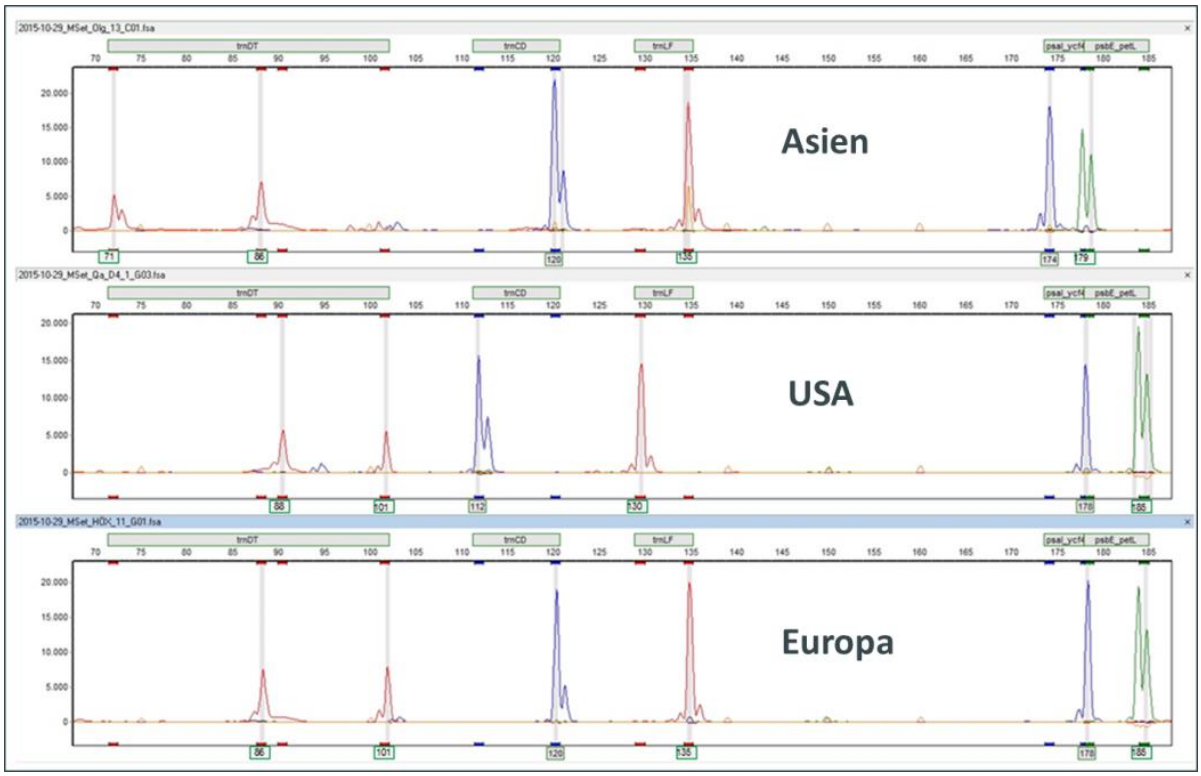

Abb. 1: Fragmentmuster der fünf Chloroplasten-Marker des Sets zur Differenzierung der Weißeichen-Herkunft von drei Kontinenten. Die Sequenzgrößen sind unter den Peaks angegeben. Die roten Peaks 71, 86, 88 und 101 gehören zum SNP und InDel des Markers *trn*DT; blaue Peaks 112 and 120 zu *trn*CD; zweiten roten Peaks 130, 135 zu *trn*LF; die blauen Peaks 174, 178 rechts zu *psa*I-*ycf*4; und die grünen Peaks 179, 185 zu *psb*E-*pet*L (SCHROEDER et al. 2016).

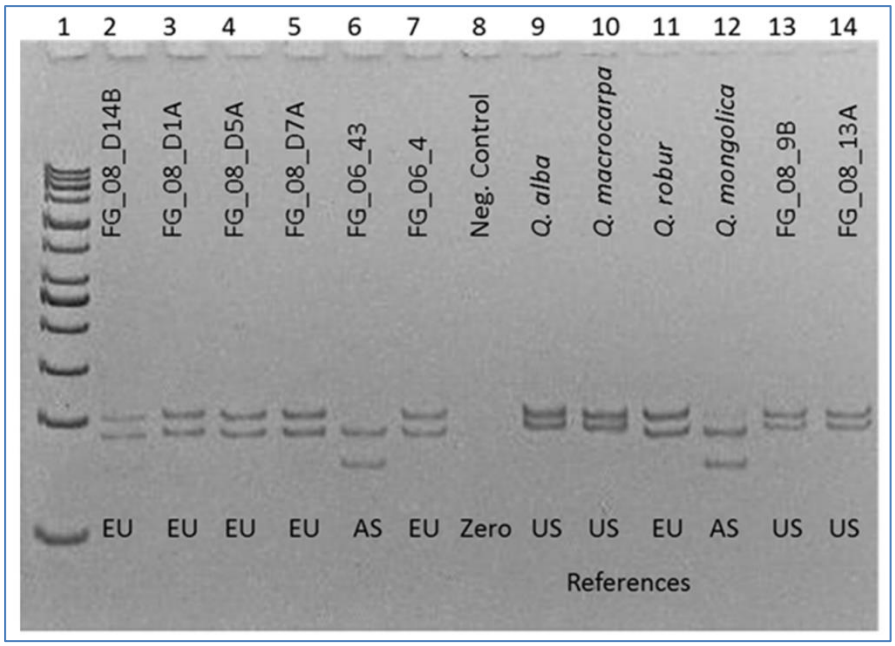

Abb. 2: Fragmentmuster des Markers *trn*DT auf einem Polyacrylamid-Gel. Lane 1: 50 bp ladder, lane 2-7 und 13-14: Analyse von Holz-DNA, deren Herkunft von den Referenz-Genotypen abgeleitet wurde, lane 9-12: Referenzen aus Nordamerika (US), Europa (EU) und Asien (AS), lane 8: Negativkontrolle (SCHROEDER et al. 2016).

Herkunftsidentifizierung innerhalb von *Q. mongolica*

Die Validierung von 120 Chloroplasten (cp) und mitochondrialen (mt) SNPs, die als potentiell Herkunft-differenzierend selektiert wurden, erfolgte in einer Mass-Array Analyse mit 20 Individuen von *Q. mongolica* aus 10 Populationen. Hieraus ergaben sich 11 SNPs und ein InDel, die anhand von PCR-RFLP-Analysen überprüft wurden. Eine Kombination dieser Marker mit bereits zuvor erarbeiteten Markern (drei SNPs, drei InDels, zwei Mikrosatelliten) erbrachte eine Einteilung von 35 Populationen (mit je drei Individuen) in insgesamt vier Haplotypen. Ein weiterer MassArray Ansatz mit 30 aufgrund ihres hohen Differenzierungspotentials ausgewählten SNPs mit 380 Individuen aus insgesamt 40 Populationen bestätigte die vier Haplotypen und resultierte zusätzlich in zwei weitere Haplotypen (Abb. 3).

Die Ergebnisse zeigen, dass Haplotyp 2 (blau in Abb. 3) zwar der häufigste Typ ist, aber in den westlichen Populationen nicht auftritt. Hingegen kommt der seltene Haplotyp 1 (dunkelgrün in Abb. 3) nur in den westlich gelegenen Populationen vor. Haplotyp 4 (gelb in Abb. 3) ist deutlich häufiger in den südlichen Populationen zu finden und kommt ganz im Norden nicht vor. Der in Abb. 3 rot dargestellte Haplotyp 3 zeigt ein eher verstreutes Auftreten, ist aber im Süden deutlich häufiger. Hinzu kommen zwei private Haplotypen, die jeweils nur in einer Population auftreten, wobei Haplotyp 5 (hellgrün in Abb. 3) zusammen mit Haplotyp 2 vorkommt, während Haplotyp 6 (hellblau in Abb. 3) in einer Population als einziger Haplotyp gefunden wurde.

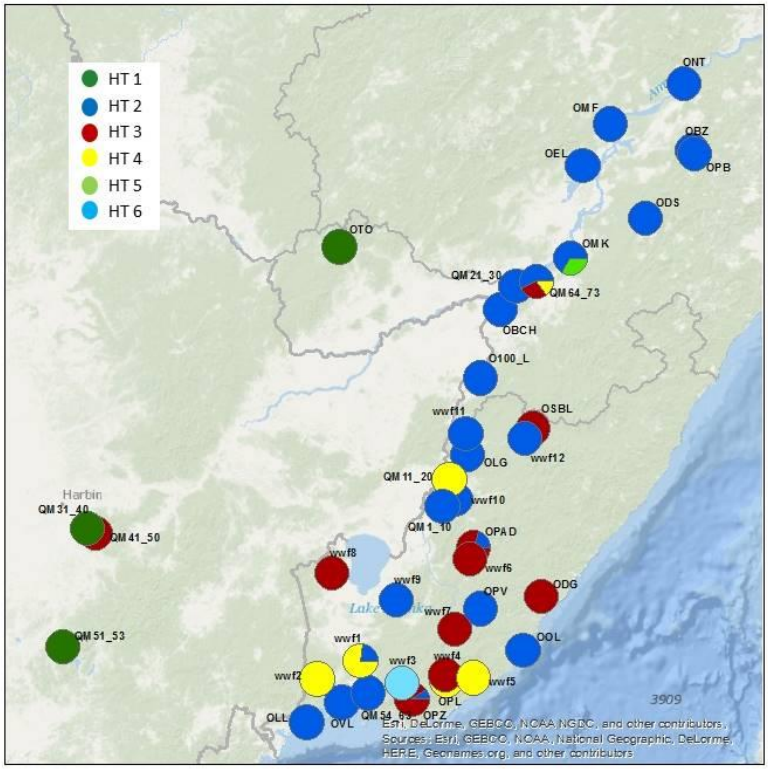

Abb. 3: Haplotypenverteilung innerhalb von *Q. mongolica* basierend auf einer Analyse von bis zu 120 SNPs an 380 Individuen. Erläuterung siehe Text. HT = Haplotyp

Diskussion

Es wurde ein Set von fünf InDel und einem SNP Marker entwickelt und für die Anwendung auf Holz optimiert, um den kontinentalen Ursprung von Weißeichen identifizieren zu können. Außerdem konnte eine SNP-Auswahl getroffen werden, die eine Differenzierung von Populationen innerhalb

von *Q. mongolica* ermöglicht. Alle diese Marker wurden als sehr kleine Fragmente (< 200 bp) optimiert, da eine Genotypisierung von DNA aus Holz und Holzprodukten aus möglichst kleinen Fragmenten den größten Erfolg zeigt, wie z.B. für Insekten aus einer Museumssammlung gezeigt werden konnte (MITCHELL et al. 2015). Auch für die Identifizierung von Haplotypen aus Holz anhand von Chloroplasten-Mikrosatellitenmarkern wurden explizit kleine Fragmente empfohlen (DEGUILLOUX et al. 2003).

Die Auflösungskapazität für eine Differenzierung von Populationen innerhalb von *Q. mongolica* erwies sich als gering. Dies liegt offenbar an einer insgesamt geringeren genetischen Variation in den ausgewählten Populationen dieser Art verglichen mit den europäischen oder amerikanischen Arten. Für die Chloroplasten- und Mitochondriengenome wurden mit derselben Herangehensweise deutlich mehr SNPs und InDels innerhalb von *Q. robur* identifiziert als innerhalb von *Q. mongolica* (Daten nicht gezeigt). Hier spielt vermutlich auch die Lage der untersuchten Populationen am Japanischen Meer, also am Rand des Verbreitungsgebiets von *Q. mongolica* auf dem Festland eine Rolle. Im Vergleich dazu haben japanische Wissenschaftler 33 Populationen von *Q. mongolica* (var. *crispula*) in Japan mit cp-Markern untersucht und eine deutlich höhere Anzahl an Haplotypen identifizieren können (OKAURA et al. 2007). Interessant ist hier vor allem das Fragment *trn*H-*psb*A, das sowohl in unserer als auch in der japanischen Studie untersucht wurde. Interessanterweise haben wir in *trn*H-*psb*A ein InDel gefunden, das nur in den westlich gelegenen Populationen, aber nicht in den japanischen Populationen vorhanden ist (OKAURA et al. 2007). Dies bestätigt die Beschränkung dieses InDels auf westliche Regionen. In den von uns untersuchten *Q. mongolica* Populationen kommen in diesem gesamten Fragment *trn*H-*psb*A neben dem genannten InDel nur vier weitere Nukleotid-Varianten vor, während in der japanischen Studie diese vier plus weitere fünf Varianten gefunden wurden.

Auch die Analyse der Variationen im Kerngenom zeigt, dass mehr SNPs und InDels innerhalb von *Q. robur* als innerhalb von *Q. mongolica* identifiziert wurden. Hier ergaben sich aus insgesamt 179 nach Qualitätsparametern gefilterten Variationen für *Q. robur* 164 polymorphe Stellen (SNPs oder InDels) und für *Q. mongolica* nur 49 (Daten nicht im Detail gezeigt).

Für die Verfolgung von illegalem Handel mit Wildtieren sind molekulare Methoden seit einigen Jahren gut etabliert. So wird z.B. illegaler Handel mit Papageien (GONCALVES et al. 2015) und Meeresschildkröten (REHMAN et al. 2015) mit DNA-Barcoding Methoden aufgedeckt und auch für die Identifizierung von Produkten aus geschützten Tierarten stellen molekulare Marker inzwischen eine wichtige Grundlage dar („Walfleisch“: BAKER et al. 2010; „Hornprodukte“: YAN et al. 2013). Ebenso werden DNA-Barcoding Marker für die Überprüfung der richtigen Art-Deklaration von Fischprodukten (Filets) verwendet (PAPPALARDO et al. 2015). Im Bereich der Botanik finden molekulare Marker überwiegend für die Aufdeckung von illegalem Holzeinschlag bei tropischen Baumarten Anwendung (HÖLTKEN et al. 2012, NITHANIYAL et al. 2014, HARTVIG et al. 2015, PAKULL et al. 2016, JARDINE et al. 2016), für die Identifizierung von Baumarten aus den gemäßigten Zonen sind diese Methoden bisher jedoch weniger etabliert. Daher bieten die hier entwickelten Marker den weltweit agierenden Holzhändlern die Möglichkeit, beim Handel mit Eichenarten ihrer Sorgfaltspflicht nachzukommen, wenn Eichenholz auf dem europäischen oder US-amerikanischen Markt gehandelt werden soll.

Literatur

BAKER CS, STEEL D, CHOI Y, LEE H, KIM KS, CHOI SK et al., 2010: Genetic evidence of illegal trade in protected whales links Japan with the US and South Korea. Biological Letters 6: 647-650.

DEGEN B (2008) GDA_NT 2.0: Genetic data analysis and numerical tests. [last change 17.11.2015]. Available from bernd.degen@thuenen.de

DEGEN B, HÖLTKEN AM (2011). DNA-Methoden zur Kontrolle der Holzart und Holzherkunft. Holz-Zentralblatt 19: 461.

DEGUILLOUX MF, PEMONGE MH, BERTEL L, KREMER A, PETIT RJ, 2003: Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. Molecular Ecology 12:1629-1636.

DIETER M, ENGLERT H, WEIMAR H (2012). Holz aus illegalem Einschlag in Deutschland und der EU. Holz-Zentralblatt 10: 257.

DORMONTT EE, BONER M, BRAUN B, BREULMANN G, DEGEN B, ESPINOZA E et al., 2015: Forensic timber identification: It's time to integrate disciplines to combat illegal logging. Biol Conserv 191: 790-798.

DUMOLIN S, DEMESURE B, PETIT RJ, 1995: Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. Theor Appl Genet 91: 1253-1256.

GONCALVES PFM, OLIVEIRA-MARQUES AR, MATSUMOTO TE, MIYAKI CY, 2015: DNA Barcoding identifies illegal parrot trade. Journal of Heredity 106: 560-564.

HARTVIG I, CZAKO M, KJÆR ED, NIELSEN LR, THEILADE I, 2015: The use of DNA barcoding in identification and conservation of rosewood (*Dalbergia* spp.). PLoS One 10(9): e01382

HÖLTKEN AM, SCHRÖDER H, WISCHNEWSKI N, DEGEN B, MAGEL E, FLADUNG M, 2012: Development of DNA-based methods to identify CITES-protected timber species: A case study in the Meliaceae family. Holzforschung 66: 97-104.

JARDINE DI, BLANC-JOLIVET C, DIXON RRM, DORMONTT EE, DUNKER B, GERLACH J, KERSTEN B, VAN DIJK KJ, DEGEN B, LOWE AJ 2016. Development of SNP markers for Ayous (*Triplochiton scleroxylon* K. Schum) an economically important tree species from tropical West and Central Africa. Conservation Genetics Resources 8(2): 129-139; doi:10.1007/s12686-016-0529-8.

LOWE AJ, JARDINE DI, CROSS HB, DEGEN B, SCHINDLER L, HOELTKEN AM, 2015: A method of extracting plant nucleic acids from lignified plant tissue. Patent WO/2015/070279 filled 2014-11-14 and issued 2015-05-21.

MITCHELL A, 2015: Collection in collections: a PCR strategy and primer set for DNA barcoding for decades-old dried museum specimens. Molecular Ecology Resources 15: 1102-1111.

NITHANIYAL S, NEWMASTER SG, RAGUPATHY S, KRISHNAMOORTHY D, VASSOU SL, PARANI M, 2014: DNA barcode authentication of wood samples of threatened and commercial timber trees within the tropical dry evergreen forest of India. PLoS One 9 (9): e107669.

OKAURA T, QUANG ND, UBUKATA M, HARADA K, 2007: Phylogeographic structure and late Quaternary population history of the Japanese oak *Quercus mongolica* var. *crispula* and related species revealed by chloroplast DNA variation. Genes & Genetic Systems 82: 465-477

PAKULL B, MADER M, KERSTEN B, EKUE MRM, BOUKA DIPELET UG, PAULINI M, BOUDA ZHN, DEGEN B, 2016: Development of nuclear, chloroplast and mitochondrial SNP markers for *Khaya* sp. Conservation Genetic Resources DOI 10.1007/s12686-016-0557-4

PAPPALARDO AM, FERRITO V, 2015: DNA barcoding species identification unveils mislabeling of processed flatfish products in southern Italy markets. Fisheries Research 164: 153-158.

REHMAN A, JAFAR S, RAJA NA, MAHAR J, 2015: Use of DNA Barcoding to control the Illegal Wildlife Trade: A CITES case report from Pakistan. Journal of Bioresource Management 2 (2): 19-22.

SCHROEDER H, CRONN R, YANBAEV Y, JENNINGS T, MADER M, DEGEN B, KERSTEN B, 2016: Development of easy-to-use molecular markers for differentiation within the genus *Quercus.* PLoS One 11 (6): e0158221, DOI:10.1371/journal.pone.0158221

SMIRNOV DY, KABANETS AG, MILAKOVSKY BJ, LEPESHKIN EA, SYCHIKOV DV, 2013: Illegal logging in the Russian Far East: global demand and taiga destruction. WWF, Moskau, 39 S.

YAN D, LUO JY, HAN YM, PENG C, DONG XP, CHEN SL et al., 2013: Forensic DNA barcoding and Bio-Response studies of animal horn products used in traditional medicine. PLoS One 8 (2): e55854.

Internetquelle 1: http://eia-global.org/news-media/liquidating-the-forests

Internetquelle 2: http://www.wwf.de/themen-projekte/waelder/waldvernichtung/illegaler-holzeinschlag/

Anschrift der Autoren:

Dr. HILKE SCHROEDER, Dr. BERND DEGEN, Dr. BIRGIT KERSTEN
Thünen-Institut für Forstgenetik
Sieker Landstraße 2
22927 Großhansdorf
E-Mail: hilke.schroeder@thunen.de