

Genetische diversiteit in natuurlijke populaties van Zwarte populier (*Populus nigra* L.)

Beheersing van de waterdynamiek van onze rivieren heeft ervoor gezorgd dat het rivierbegeleidende ecosysteem bijna is verdwenen. Dit ecosysteem langs de oevers bestond uit bossen, waarin de boomsoorten Schietwilg en Zwarte populier het belangrijkste waren. Vooral de Zwarte populier is nu zeldzaam. Naast exploitatie van de uiterwaarden door de landbouw, heeft de verandering van de waterdynamiek de spontane vestiging en regeneratie van de Zwarte populier verhinderd. Herstel van rivierbegeleidende bossen is mogelijk, maar hoe pakken we dat aan? In een goed plan wordt met veel facetten rekening gehouden, onder andere met de biologie en ecologie van de kernsoorten. Over de genetische aspecten van Zwarte populier was praktisch niets bekend. Aangezien deze kennis van groot belang is voor het ontwikkelen van goede strategieën voor behoud, beheer en herstel van het ecosysteem werd in 1998 een groot Europees onderzoeksproject (Europop) gestart naar de genetische samenstelling van natuurlijke populaties van Zwarte populier.

Het rivierbegeleidende ecosysteem

In Nederland bestaat een sterke band tussen mensen en rivieren. Rivieroevers waren van oudsher vestigingsplaatsen bij uitstek. De mens was sterk afhankelijk van het water en vanuit veiligheids-overwegingen en economische belangen moest het stroomgebied van de rivieren sterk worden gemanipuleerd. De meanderende rivieren werden in een stroombed gevangen. Regulatie van de waterstand, de aanleg van dammen en dijken en verdieping van de vaargeul hebben de waterstandsdynamiek sterk veranderd. Het overstromingsgebied langs de rivieren is gereduceerd tot de huidige uiterwaarden. Het ecosysteem langs de oevers van de rivieren, dat bestaat uit oobossen, heeft zwaar te lijden gehad van het waterbeheer en de exploitatie van de oevers. Eén van de belangrijkste boomsoorten van de natuurlijke vegetaties langs de rivieren is de Zwarte populier. Hij groeit op vochtige, voedselrijke zand- en kleigronden, die 's winters ondiep worden overstroomd maar waar geen water stagneert. In de rivierdalen hoort hij thuis in de hoogste delen van het Schietwilgenbos en in het daarbij aansluitende Essenbos (Weeda et al. 1985). Ook de Zwarte populieren zijn het slachtoffer geworden van exploitatie en vernietiging van het ecosysteem. Zaden van deze pioniersoort kiemen vooral in de binnenbochten van meanderende rivieren op plaatsen waar grof sediment wordt afgezet. Als gevolg van het verdwijnen van het dynamisch habitat zijn de verjongingsmogelijkheden van Zwarte populier

sterk afgenomen. Op een paar honderd solitaire exemplaren na zijn Zwarte populieren praktisch verdwenen uit Nederland.

Autochtone soort voor Nederland

Zwarte populier wordt beschouwd als een autochtone soort voor Nederland. Fossiele pollendata (Huntley & Birks 1983) tonen aan dat populieren reeds zeer lang aanwezig zijn in Nederland. Echter, het stuifmeel van een aantal populierensoorten kan niet van elkaar onderscheiden worden, zodat niet met zekerheid kan worden vastgesteld of de Zwarte populier tot één van de eerste populierensoorten behoorde. Vermoedelijk maakte hij deel uit van de oorspronkelijke flora in Zuid-Limburgse beekdalen, langs de grote rivieren en aan de binnenduinrand. Onder de huidige omstandigheden is het vrijwel onmogelijk het natuurlijke aandeel van Zwarte populier in het Nederlandse bos vast te stellen, omdat op de in aanmerking komende standplaatsen bijna geen bos met een natuurlijke boomgroei meer voorkomt (Weeda et al. 1985).

De zwarte populier werd voor veel toepassingen gebruikt en boeren hebben waarschijnlijk al eeuwen lang populieren aangeplant. Zeer waarschijnlijk zijn zelfs een aantal van de oude solitaire bomen, die beschouwd worden als de laatste autochtone Zwarte populieren, vroeger geplant.

Herstel van natuurlijke oevers

In Nederland, maar ook in andere Europese landen, zijn program-

ma's gestart om de natuurlijke oevers van de rivieren te herstellen. In ontwikkelingsplannen, zoals 'Plan Ooievaar' en 'Levende Rivieren' wordt ook gesproken over het belang van het herstel van rivierbegeleidende bossen (De Bruin et al. 1997, Wereld Natuur Fonds 1993). Maar uit het oogpunt van veiligheid wordt op de meeste plaatsen in de uiterwaarden geen bos getolereerd. Bomen belemmeren het zicht op de scheepvaart en veroorzaken extra stromingsweerstand waardoor het water hoger wordt opgestuwd wat tot hogere waterstanden stroomopwaarts leidt (Siebel 1999).

Recent onderzoek naar de mogelijkheden voor het herstel van oibossen leidde tot de conclusie dat als er een draagvlak bestaat voor het herstel van de oibossen, de kansen voor het zachthout oibos redelijk zijn (Lauwaars et al. 1997, Siebel 1999).

Al in 1986 is Staatsbosbeheer gestart met de herintroductie van de Zwarte populier in de uiterwaarden van de Rijn, de Waal en de IJssel (Bosman 1989). Maar of de aanplant van door stekken verkregen vermeerderd materiaal past bij de overlevingsstrategie van de soort is niet bekend. Wel bekend is dat populieren zich goed aanpassen aan klimatologische variabelen zoals fotoperiode, luchtvochtigheid en temperatuur (Farmer 1996). Het vermoeden bestaat dat er genetische en morfologische verschillen bestaan tussen populaties van Zwarte populier langs verschillende riviersystemen (Bosman 1989). Deze verschillen (differentiatie) zijn mogelijk ontstaan via het proces van natuurlijke selectie, het mechanisme van evolutie. Natuurlijke selectie is alleen mogelijk als er sprake is van gedifferentieerde voorplanting en/of overleving van individuen met

speciale genetisch bepaalde kenmerken (Bell 1997).

Kennis van de structuur van de genetische diversiteit en differentiatie is noodzakelijk om goede strategieën en richtlijnen te ontwikkelen voor het behoud, beheer en herstel van de soort.

Bedreiging door verstoring van het reproductiesysteem

Naast de bedreigingen die voortkomen uit exploitatie en beheer van de uiterwaarden wordt het voortbestaan van de soort ook nog bedreigd door verandering in het reproductiesysteem van de soort. Populieren zijn tweehuizige windbestuivers, hetgeen betekent dat er mannelijke en vrouwelijke bomen zijn. Een verstoring van de verhouding en een te grote afstand tussen mannelijke en vrouwelijke exemplaren kan verstrekken gevolgen hebben voor de voortplanting. Aangezien dat de laatste solitaire bomen weinig zaden produceren. Mogelijk staan de bomen te ver van elkaar voor succesvolle bestuiving (Harmsen & Van Sonderen 1990). In Engeland worden geen zaden meer geproduceerd omdat alle vrouwelijke bomen systematisch zijn verwijderd omdat het pluis van het zaad overlast bezorgde (Cottrell et al. in druk). Kunstmatige kruising tussen individuen van verschillende populierensoorten is goed mogelijk. Als dit ook onder natuurlijke omstandigheden plaatsvindt dan vormt dit een extra bedreiging voor het herstel van de Zwarte populier.

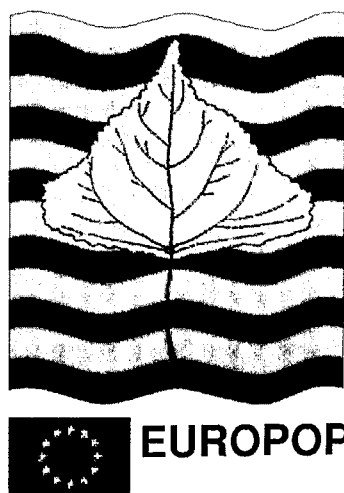
In Nederland zijn veel snelgroeiende hybriden (*P. x euramericana*) tussen de Zwarte populier en de Amerikaanse populier (*P. deltoides*) aangeplant. Daarnaast is ook nog veelvuldig een Italiaanse kloon van Zwarte populier (*P. nigra* 'Italica') aangeplant. Het stuifmeel van deze bomen kan in principe de bloemen van vrouwe-

lijke Zwarte populieren bestuiven en bevruchten.

Via ouderschapsanalyse op basis van DNA gegevens van ouders en nakomelingen uit een populatie kan een beeld worden verkregen van het reproductiesysteem en de uitwisseling van genetisch materiaal.

Europop, Europees onderzoek naar de genetische diversiteit in Zwarte populier

Om inzicht te krijgen in de genetische aspecten van Zwarte populier werd, in Europees verband, een onderzoeksproject (Europop, fig. 1) gestart. Aan het project namen 8 landen deel en er werden 6 riviersystemen bestudeerd. Daarnaast werd de genetische diversiteit in 9 nationale genenbanken geanalyseerd (tabel 1). Het project werd gestart in 1999 en duurde 39 maanden. De onderzoeksperiode werd afgesloten met een Internationaal Symposium in Hongarije. Het doel van deze bijeenkomst was om de onderzoeksresultaten te presenteren voor onderzoekers en beheerders van rivierecosystemen. De belangrijkste resultaten van het onderzoek zijn:



Figuur 1. Logo Europop

Tabel 1: *Europop, bestudeerde riviersystemen, aantal klonen in genenbanken en deelnemende landen (volgens Van Dam et al. in druk)*

Riviersystemen	Aantal klonen in genenbank	Deelnemende landen
Rijn/waal	116	Nederland
	97	Duitsland
Donau	100	Oostenrijk
	44	Hongarije
Drôme	111	Frankrijk
Ticino	81	Italië
Ebro	103	Spanje
Usk	71	Engeland
-	215	België

1. De genetische diversiteit, bepaald met DNA markers, was redelijk hoog in populaties van Zwarte populier. Er werd veel variatie waargenomen in de genen en in veel bomen zijn twee verschillende varianten van één gen aanwezig.
2. De genetische verschillen tussen populaties langs een riviersysteem en tussen riviersystemen is vrij groot. Dit is waarschijnlijk het gevolg van natuurlijke selectie en relatief weinig uitwisseling van genetische materiaal tussen populaties.
3. Vegetatieve vermeerdering komt alleen voor in populaties waar sprake is van menselijk beheer en behoort niet tot het kolonisatie- of overlevingsmechanisme van de soort.
4. Hybridisatie en introgressie met *P. deltoides* en *P. x euramerica* komt voor in de natuur.
5. De diversiteit in genenbanken is ook groot, maar verschilt aanzienlijk van de diversiteit zoals die in huidige populaties wordt aangetroffen.

De proceedings van deze bijeenkomst worden momenteel gedrukt (Van Dam & Bordačs in druk). Hierna worden de resultaten van het Nederlandse onderzoek in meer detail besproken.

Natuurlijke populaties langs de Rijn

Tijdens een inventarisatie in het

stroomgebied van de Rijn in Nederland bleek dat er slechts één natuurlijke populatie van redelijke omvang gevonden kon worden in Nederland. Deze populatie was nog vrij jong en bevond zich op de rivierduinen aan de noordoever van de Waal ter hoogte van Gendt. Om de genetische verschillen tussen populaties langs een riviersysteem te kunnen bestuderen werden gegevens uitgewisseld met een onderzoeksgroep van de Universiteit van Göttingen in Duitsland. Zij bestudeerden twee populaties langs de Rijn (tabel 2) met dezelfde analyse technieken (Van Dam et al. in druk).

De populatie bij Gendt bestond uit circa 200 bomen op een rivierduin (fig. 2). Van 120 bomen werd de geografische locatie bepaald. Deze bomen werden van een label voorzien zodat ze gedurende de looptijd van het onderzoek steeds teruggevonden konden worden. Van iedere boom werd in het voorjaar, tijdens de bloei, het geslacht bepaald. Met behulp van verschillende technieken werd de genetische diversiteit vastgesteld (Van Dam et al. in druk,

Smulders et al. in druk). Van alle bomen werden stekken geknipt die werden opgekweekt tot eenjarige planten. Deze planten werden in een proefveld geplant om de bladmorphologie te bestuderen. Gedurende het gehele project werden ieder jaar zaden en zaailingen verzameld om het reproductiesysteem te bestuderen.

Genetische diversiteit en verschillen tussen populaties

Op basis van de bladmorphologie konden *P. nigra* goed worden onderscheiden van andere populierensoorten (Van Slycken 1996). Maar de studie van de bladmorphologie was niet geschikt om de genetische diversiteit binnen populaties te beschrijven en de genetische verschillen tussen populaties vast te stellen. Een aantal kenmerken, zoals bladafmetingen en bladsteellengte, werden sterk beïnvloed door de standplaats en de leeftijd van de bomen. Een aantal andere kenmerken, zoals vorm van de punt of basis van het blad, hadden slechts diagnostische waarde. De DNA technieken waren zeer geschikt voor het onderzoek naar de genetische diversiteit en differentiatie. De genetische diversiteit binnen de Nederlandse populatie was vrij groot (Van Dam et al. in

Genetische verschillen	Aantal allelen	Heterozygotie (%)	Genetische verschillen (F_{st})
Tussen populaties	8	73	0.05

($F_{st}=0.05 - 0.1$: genetische verschillen matig)

Tabel 2: *Genetische verschillen tussen drie populaties (n=circa 60) langs de Rijn/Waal (volgens Van Dam et al. in druk)*



Figuur 2. Luchtfoto van populatie in Gendt

conclusie dat de genetische samenstelling van Zwarte populier zeer divers is.

Ouderschapsanalyse

In de populatie bloeiden ongeveer 30% van de bomen. Daarvan waren 11 bomen mannelijk. Deze bomen bloeiden overvloedig en produceerden veel stuifmeel. De bloeitijd van de vrouwelijke bomen liep min of meer synchroon met de bloeitijd van de mannelijke bomen in de populatie, maar ook met mannelijke Euramericaanse bomen uit een nabij gelegen wegbeplanting. Tijdens het ontvankelijk zijn van de vrouwelijke bloemen was volop stuifmeel aanwezig. De veel aangeplante mannelijke kloon van de Italiaanse Zwarte populier (*P. nigra* 'Italica') was ook in de omgeving van de populatie aanwezig, maar deze bomen bloeiden veel vroeger dan de bomen in de populatie, zodat zij niet in aanmerking kwamen voor het vaderschap.

Uit de ouderschapsanalyse bleek toch dat veel nakomelingen niet afkomstig waren van één van de elf mannelijke bomen in het proefvlak en niet afkomstig waren van de mannelijke kloon uit de wegbeplanting maar van Zwarte populieren die in de omgeving van het proefvak aanwezig waren. Verder onderzoek zal moeten bepalen waar de vaderbomen gelokaliseerd zijn.

druk, Smulders et al. in druk) en vergelijkbaar met de diversiteit die in andere landen wordt gevonden, met uitzondering van Engeland (Cottrell et al. in druk). Daar zijn geen natuurlijke populaties meer aanwezig en het onderzoek werd uitgevoerd in de resterende solitaire bomen. Deze bleken te bestaan uit slechts een aantal groepen van genetisch identieke exemplaren. Aangezien de Zwarte populier eenvoudig te stekken is gaan we ervan uit dat deze bomen gegroeid zijn uit stekken van één exemplaar.

De Nederlandse populatie bij Gendt was nog erg jong op één zeer oude boom na. De leeftijd van de bomen varieerde van 0 – 25 jaar. De diversiteit was groot en de jonge bomen waren niet afkomstig van de zaden van de oude boom in het proefvak. In de populatie werden groepen van genetisch identieke bomen gevonden (Smulders et al. in druk) hetgeen aangeeft dat de Zwarte populieren zich vegetatief vermeerderen in Gendt.

Ook binnen andere natuurlijke

populaties en in genenbank collecties werden klonen aangetroffen, maar uitsluitend in landen waar de invloed van de mens op de soort groot was, zoals België, Nederland, Duitsland en Engeland. Vegetatieve vermeerdering behoort dus niet tot het natuurlijke reproductiesysteem van de Zwarte populier, maar wordt zeer waarschijnlijk veroorzaakt door het beheer. In Gendt worden bomen die het zicht van de scheepvaart belemmeren afgezaagd. Als deze bomen opnieuw uitlopen en de stob onder het zand komt te liggen dan ontstaat bovengronds een groep van genetisch identieke stammen.

De genetische verschillen tussen jonge en oude bomen binnen één populatie waren kleiner dan de genetische verschillen tussen de drie populaties langs het riviersysteem van de Rijn.

Deze resultaten leidden tot de

Tabel 3: Genetische diversiteit op basis van microsatelliet analyse in en verschillen tussen nakomelingen ($n=30$) van drie verschillende bomen in 2000

Boom nr.	Aantal allelen	Heterozygotie (%)	Genetische verschillen (F_{st})
3	3.7	77.1	0.087
50	6.1	70.7	
61	5.7	68.4	
tussen bomen			

($F_{st}=0.05 - 0.1$: genetische verschillen matig)

Tabel 4: Genetische diversiteit in en verschillen tussen nakomelingen (n=30) van een boom in drie verschillende jaren

De genetische verschillen tussen nakomelingen van de drie onderzochte bomen was redelijk groot (tabel 3). De nakomelingen van één boom over verschillende jaren leken meer op elkaar dan de nakomelingen van drie verschillende bomen (tabel 4).

Naast verschillen in de samenstelling van het stuifmeel die een boom bereikte, speelden mogelijk ook mechanismen die bestuiving tussen bepaalde typen verhinderen een rol.

De verwantschap tussen de ouders van de nakomelingen waarvan de vader kon worden vastgesteld was erg laag, hetgeen aangeeft dat de soort voornamelijk uitkruisend is.

Ook in de nakomelingen werden genen aangetroffen die niet aanwezig waren in de populatie en dus van buiten het proefvak zijn gekomen. Aangezien de zaden van bomen in het proefvak werden geplukt, moeten deze genen zijn aangevoerd via het stuifmeel. In zijn algemeenheid nivelleert de uitwisseling van genen over grote afstand de verschillen tussen populaties. Aangezien de genetische verschillen tussen de Nederlandse en de Duitse populaties groot waren (Van Dam et al. in druk), moet worden aangenomen dat zowel zaden als stuifmeel niet erg grote afstanden afleggen. Onderzoek in Frankrijk, naar 25 populaties die minder dan 30 km van elkaar liggen aan de oevers van de Drôme, toonde aan dat ook daar sprake was van grote verschillen tussen de populaties (Lefevre et al. in druk).

De bronpopulatie van de populatie bij Gendt blijft onbekend. De zaden kunnen afkomstig zijn van de oude nog overgebleven autochtone Zwarte populieren in de

Jaar	Aantal allelen	Heterozygotie (%)	Genetische verschillen (F_{st})
1998	4.3	76.7	0.010
1999	3.8	76.4	
2000	3.7	77.1	
tussen jaren			
($F_{st}=0 - 0.05$: genetische verschillen gering)			

omgeving maar ook van aangeplante Zwarte populieren. Hetzelfde geldt voor het stuifmeel waarmee nieuwe genen worden geïntroduceerd. Ook dat kan afkomstig zijn van aangeplante populieren in de omgeving of, bijvoorbeeld vanuit het natuurgebied De Gelderse Poort, dat aan de andere kant van de Waal ligt. Karakterisering van potentiële vaders, gevolgd door vaderschapsanalyse is dus de enige manier om deze vraag beantwoorden.

Kruisingen met andere populierensoorten

Kruisingen tussen *P. nigra* en *P. deltoïdes* en tussen *P. nigra* en *P. x euamericana* kwamen voor in de natuur. Het aantal hybriden dat gevonden werd was niet erg groot. In Gendt werd slechts één hybride aangetroffen. In andere natuurlijke populaties ging het meestal ook om minder dan 1% van de bomen, maar dit lijkt toch voldoende om de genenpool van *P. nigra* te beïnvloeden. Bovendien neemt de hybridisatie toe naarmate er minder mannelijke Zwarte populieren in de buurt van de moederboom stonden (Cottrell et al. in druk). Meestal waren de hybriden op basis van de beschreven kenmerken van de drie mogelijke soorten goed te onderscheiden van de zuivere soort, maar in sommige gevallen bleek uit DNA analyse dat ogenschijnlijk zuivere *P. nigra* toch genetische materiaal van *P. deltoïdes* bevatten. Ook in genenbank

collecties werden zulke individuen aangetroffen (Vanden Broeck et al. in druk)

Ontwikkelen van nieuwe strategieën voor behoud en beheer van Zwarte populier

Een eerste vereiste om tot een goed beleid te komen ten aanzien van het behoud van de Zwarte populier is een groter besef van de ecologische waarde van de soort en zijn belang voor het behoud en herstel van het rivierecosysteem in zijn algemeenheid. Herstel van het zacht hout oobos langs de rivieren is goed mogelijk als de omstandigheden die noodzakelijk zijn voor de kieming van zaden aanwezig zijn. Een zekere mate van natuurlijke dynamiek van rivieren is daarvoor noodzakelijk. De omstandigheden voor kieming zijn niet ieder jaar gunstig. Aan de leeftijdsopbouw van de bomen in Gendt kon worden ingeschat dat gemiddeld eens in de vier tot vijf jaar populieren zich konden vestigen. Tijdens de onderzoeksperiode werd ook slechts één maal kieming van zaden gevolgd door vestiging waargenomen. In het volgende voorjaar was het aantal zaailingen sterk afgenomen. Eén van de oorzaken daarvoor was mogelijk een ernstige roestaantasting door de schimmel *Melampsora larici-populina* in het eerste groeiseizoen.

Op basis van de resultaten van het hier beschreven onderzoek kan nog geen totaal pakket van adviezen worden gegeven maar

een aantal zaken zijn wel duidelijk geworden.

De laatste, geïsoleerde relictpopulaties van Zwarte populier langs de Rijn/Waal verschillen genetisch zeer sterk van elkaar. Dit is niet het gevolg van de zeldzaamheid van de soort in dit gebied maar is een algemeen verschijnsel in Zwarte populier in Europa. Ook in Frankrijk verschillen populaties die dicht bij elkaar liggen (circa 30 km) langs de meanderende Drôme, sterk van elkaar. Deze verschillen worden veroorzaakt door het proces van natuurlijke selectie gecombineerd met beperkte uitwisseling van genetisch materiaal tussen populaties.

Een natuurlijke populatie in Nederland was significant verschillend van populaties in Duitsland. Dit betekent dat de Duitse populaties niet als bronpopulatie hebben gefungeerd voor de Nederlandse populatie. Dit gegeven gecombineerd met het resultaat dat er geen uitwisseling van genetische materiaal plaats vindt over grote afstand, verwerpt het idee dat de zaden van Zwarte populier grote afstanden kunnen afleggen via wind en water. Ook speelt verplaatsing van vegetatieve delen via het water een geringe rol bij de vestiging van

nieuwe populaties. Als we voor de toekomst in Zwarte populier het vermogen tot aanpassen aan lokale omstandigheden willen behouden, dan moet de diversiteit binnen populaties op peil worden gehouden. Het is van belang om langs een riviersysteem veel populaties te beschermen. Voor Nederland betekent dit natuurlijk dat we meer populaties langs het Rijn/Waal/IJssel systeem moeten herstellen en behouden.

De vraag waar de populatie bij Gendt vandaan komt is niet opgelost. Alhoewel de vestiging van de bomen via natuurlijke processen heeft plaatsgevonden kan het genetisch materiaal afkomstig zijn van niet oorspronkelijke bronnen. Maar is dit een probleem?

Het valt altijd aan te bevelen om nationale genenbronnen te beschermen, maar aangezien die zeer waarschijnlijk zeer beperkt zijn moeten we ons misschien tevreden stellen met de één na beste optie: natuurlijke regeneratie met beschikbaar materiaal.

De bomen in de populatie bij Gendt hebben een goede vitaliteit en natuurlijke selectie tijdens het opgroeien van de zaailingen heeft er waarschijnlijk voor gezorgd dat de individuen goed zijn

aangepast aan hun standplaats. Alhoewel het genetisch materiaal van de populatie mogelijk niet oorspronkelijk is lijkt het erop dat het reproductiesysteem goed functioneert en dat de processen die noodzakelijk zijn voor evolutie volop optreden.

Het aanplanten van een mengsel van stekken moet worden gezien als een noodscenario. Het resultaat is een beplanting met een zeer lage diversiteit en heeft dus risico's. Zeker als de klonen afkomstig zijn van een andere populatie. Als het materiaal afkomstig is van andere populaties of van een ander riviersysteem, dan is het mogelijk dat de bomen niet goed zijn aangepast aan de omstandigheden ter plaatse en kunnen vroeg of laat gezondheidsproblemen optreden.

Met dank aan:

Het ministerie van Landbouw, Visserij en Natuurbeheer, programma 320 en 381, Jan Bovenschen en Gert Kranenborg van Alterra, René Smulders en Hanneke van der Schoot van Plant Research International, de gemeente Gendt.

Voor de geraadpleegde literatuur zie de KNBV-website op www.knbv.nl