

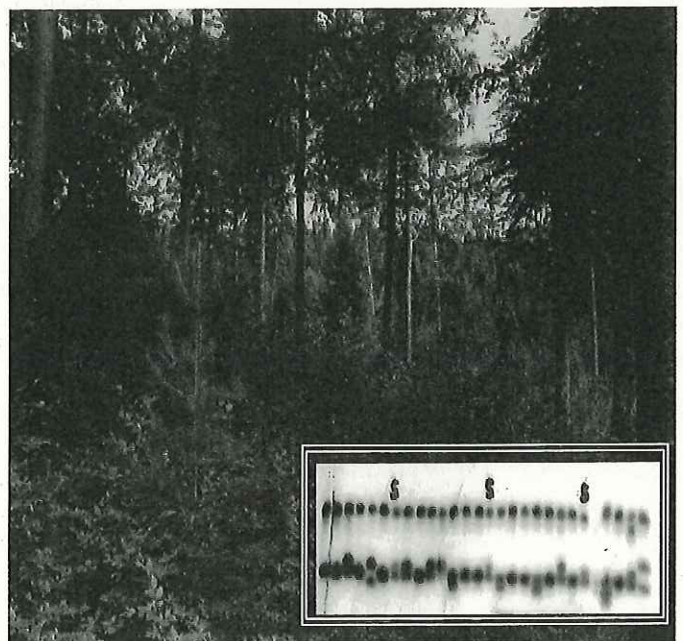
RheinlandPfalz

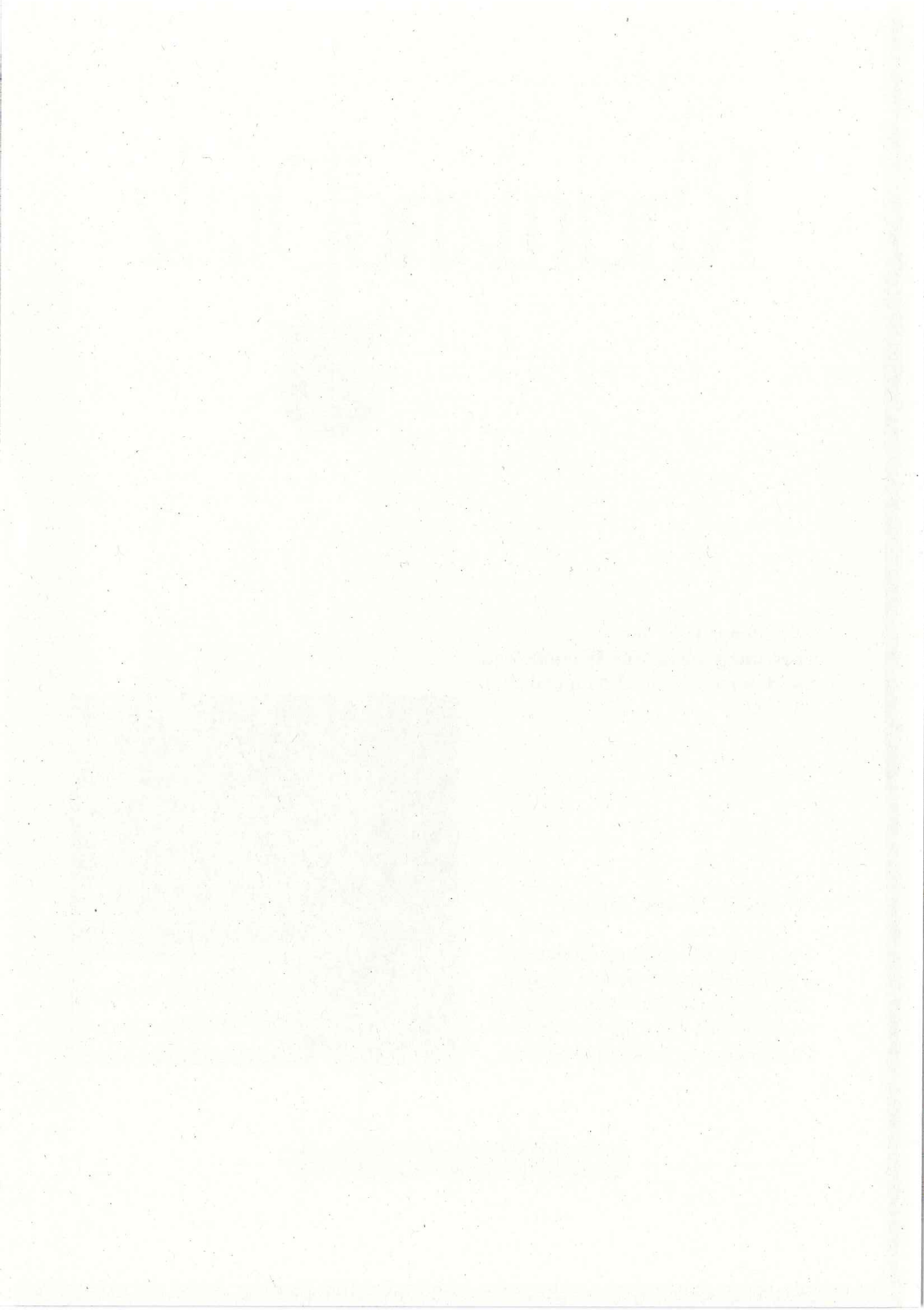


**Mitteilungen aus der
Forschungsanstalt für Waldökologie
und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz
Nr. 49/02**

Werner D. Maurer (Hrsg.):

**Vom genetischen Fingerabdruck
zum gesicherten Vermehrungsgut:
Untersuchungen zur Erhaltung und
nachhaltigen Nutzung forstlicher
Genressourcen in Rheinland-Pfalz**





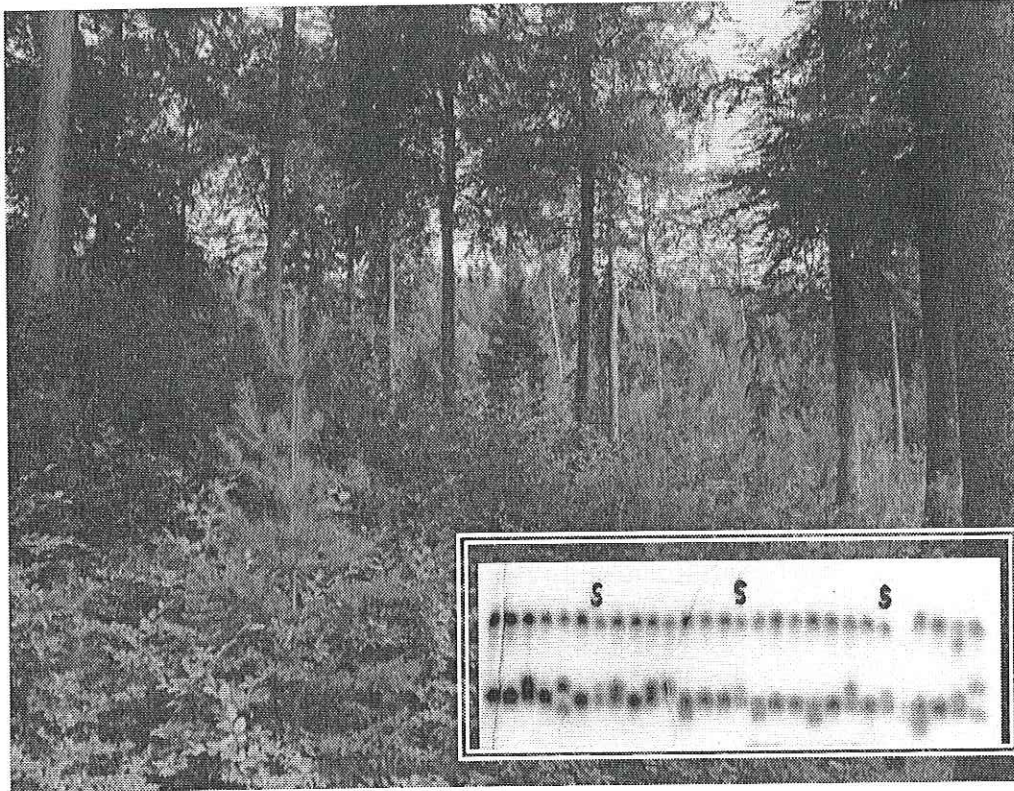


Bild: Stufiger Mischwald mit mehreren Baumarten – Biodiversität (Artendiversität) im Walde;
unten rechts: eine Art des „Genetischen Fingerabdrucks“ - Zymogramm mit Isoenzym-Bandenmustern
des Enzyms SKDH bei Kiefern als Ausdruck der genetischen Diversität (Fotos: W.D. Maurer)

WERNER D. MAURER (HERAUSGEBER):

**Vom genetischen Fingerabdruck zum
gesicherten Vermehrungsgut:**

**Untersuchungen zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung
forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz**

ISSN 1610 – 7705 Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und
Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49/02

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und der Verbreitung sowie der
Übersetzung vorbehalten

Herausgeber: Struktur- und Genehmigungsdirektion Süd
 Forschungsanstalt für Waldökologie und
 Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz

Verantwortlich: Der Leiter der Forschungsanstalt für Waldökologie und
 Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz

Dokumentation: Mitt. FAWF, Trippstadt
 Nr. 49/02, 233 Seiten + 4 Seiten Anhang

Zu beziehen über die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-
Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt.

Inhaltsverzeichnis

| | Seite |
|--|-------|
| Inhaltsverzeichnis | 3 |
| WALTER EDER: Vorwort | 5 |
| WERNER D. MAURER, ANKE LAARZ & UWE TABEL: Morphologische Untersuchungen an den heimischen Ulmenarten im Rahmen der Etablierung von Generhaltungsklonsamenplantagen | 7 |
| DIERK KOWNATZKI & WERNER D. MAURER: Charakterisierung und Identifikation von Vogelkirschklonen (<i>Prunus avium</i> L.) in zwei Generhaltungsklonsamenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern | 20 |
| LUDGER LEINEMANN, BERNHARD HOSIUS, UWE TABEL & WERNER D. MAURER: Genetische Kontrolle von Samenplantagen mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern | 45 |
| WERNER D. MAURER, UWE TABEL, BERNHARD HOSIUS, LUDGER LEINEMANN, FRITZ BERGMANN, VELITCHKO GAGOV & WALTER EDER: Die Anlage von Generhaltungssamenplantagen für Weißtanne (<i>Abies alba</i> MILL.) in Rheinland-Pfalz: Isoenzymuntersuchungen als effiziente Entscheidungshilfen | 59 |
| WERNER D. MAURER, WALTER EDER & UWE TABEL: Genetische Untersuchungen an Kiefern (<i>Pinus sylvestris</i> L.) unterschiedlichen Gesundheitszustands im Lennebergwald und im benachbarten NSG Mainzer Sand | 75 |
| LUDGER LEINEMANN: Genetische Untersuchungen zur Viabilitätsselektion in stark geschädigten Douglasienbeständen | 89 |

| | Seite |
|---|-------|
| MARTIN ZIEHE, BARBARA VORNAM, ROMMY MÜLLER-STARCK, JOZEF TUROK, HANS H. HATTEMER, WERNER D. MAURER & UWE TABEL: Genetische Strukturen der Buche in Rheinland-Pfalz | 99 |
| GUNTHER M. ROTHE, MICHAELA ROMMEL, IVAN VULICEVIC, WERNER D. MAURER & UWE TABEL: Morphologische und biochemische Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Eichenvorkommen mit dem Ziel der Artenidentifizierung | 119 |
| GUNTHER M. ROTHE, OLIVER WERNER, WERNER D. MAURER & UWE TABEL: Molekulargenetische Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Stieleichenbeständen mit dem Ziel der Erfassung ihrer Differenzierung durch RAPD-Marker | 143 |
| GERHARD MÜLLER-STARCK, WERNER D. MAURER, UWE TABEL & ROLAND SCHUBERT: Genetische Variation innerhalb und zwischen Herkünften eines Stieleichen- Provenienzversuchs (<i>Quercus robur</i> L.) | 162 |
| MARTIN SCHIFFER, WERNER D. MAURER, UWE TABEL & FRIEDRICH LEIBENGUTH: Die genetische Charakterisierung südwestdeutscher Edelkastanien (<i>Castanea sativa</i> MILL.) mittels molekularer Marker | 184 |
| WERNER D. MAURER, ECKHARD BEUTEL & UWE TABEL: Phänologische Untersuchungen zum Blühverhalten von Klonen der Vogelkirsche (<i>Prunus avium</i> L.) in den beiden rheinland-pfälzischen Generhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg | 199 |
| WERNER D. MAURER, FLAVIU GRANCEA, ANKE LAARZ & UWE TABEL: Biochemisch-physiologische Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel bei der Keimung von gelagerten Bucheckern aus rheinland-pfälzischen Buchenbeständen | 219 |
| Glossar: Wichtige forstgenetische Begriffe | 229 |
| <u>Anhang:</u> | |
| <i>Bisherige Veröffentlichungen „Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz“ (bis 2001: Nr. 1/1987-47/01); seit 2002 „Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz“ (ab Nr. 48/02)</i> | 234 |

Vorwort

In der Forstgenetik hat sich in den beiden vorangegangenen Jahrzehnten ein bedeutender Wandel vollzogen. Dies ist einerseits auf den Erkenntniszuwachs und Erfahrungsgewinn in der Allgemeinen Genetik zurückzuführen, andererseits haben sich die Aufgabenfelder der Forstgenetik mit den verbesserten Möglichkeiten deutlich erweitert. Standen früher Bewährung und Ertrag der wichtigsten forstlichen Wirtschaftsbaumarten im Mittelpunkt des Interesses, haben sich in der jüngeren Vergangenheit die Arbeitsschwerpunkte beispielsweise hin zur genetischen Identifizierung und Charakterisierung von Baum- und neuerdings auch von Straucharten bzw. Gehölzpopulationen verlagert.

Die Bedeutung der Genressourcen als schützenswertes Gut hat, nicht zuletzt befördert durch die RIO-Konvention über die „Biologische Vielfalt“, allgemeine Anerkennung gefunden. Einen wichtigen Impuls über den forstwirtschaftlichen Bereich hinaus haben in unserem Land die bereits seit Mitte der 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts durchgeführten Programme zur Erhaltung der Genressourcen unserer durch massive anthropogene Einflüsse gefährdeten Baumarten gesetzt. Darüber hinaus hat inzwischen die Erhaltung von Genressourcen ganzer Waldökosysteme auch Eingang in die einschlägigen Gesetze, etwa das neue Forstvermehrungsgutgesetz des Bundes oder das Landeswaldgesetz von Rheinland-Pfalz gefunden.

Genetisches Methodenwissen gewinnt zunehmend an Bedeutung, wenn es um die genetische Analyse von Waldbaumpopulationen und deren langfristige Entwicklung geht. Der Aufbau eines Monitoringsystems für die Erfassung möglicher Veränderungen der genetischen Strukturen von Populationen gewinnt bei sich rasch wandelnden Umwelt- und nutzungsbedingten Einflussfaktoren eine hohe Relevanz und gehört zu einer der interessantesten Zukunftsaufgaben der Forstgenetik im Interesse künftiger Generationen.

Schließlich haben die entwickelten genetischen Methoden und Verfahren eine hohe praktische Bedeutung bei der Qualitätssicherung forstlichen Vermehrungsgutes, so z.B. für den Aufbau hochwertiger Samenplantagen und anderer *ex-situ*-Generhaltungsmaßnahmen oder für die Herkunftssicherung im Rahmen der erweiterten rechtlichen Vorschriften.

Um diese Aufgaben in der Zukunft auf hohem Niveau wahrnehmen zu können, bedarf es neben den an erster Stelle zu nennenden qualifizierten Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern einer ständigen Fortentwicklung von Methoden, die zwangsläufig und richtigerweise auf Grundlagenwissen anderer Fachsparten der Genetik oder der Biochemie aufbauen müssen.

Hier ist beispielhaft die Isoenzymanalyse als seit Jahren eingeführtes und bewährtes Verfahren zu nennen. Die Weiterentwicklung genetischer Marker auf der molekulargenetischen Ebene ist mit DNA-Markern derzeit im vollen Gange und wird gleichfalls dazu beitragen, den bislang nur kleinen Ausschnitt aus dem Genom der Gehölzpflanzen zu einem scharfen genetischen Gesamtbild zusammenzufügen.

Diese Arbeiten auch in Zukunft im Verbund und in enger Abstimmung zwischen den Länderinstitutionen zu leisten, ist in Rheinland-Pfalz Aufgabe der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) in Trippstadt. Der vorliegende Band Nr. 49 der „Mitteilungen aus der FAWF“ zeigt einen Querschnitt aus einer Reihe von Untersuchungen, die in der Abteilung „Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung“ bzw. in deren Auftrag entstanden sind. Einen Schwerpunkt bilden genetische Untersuchungen, die in erster Linie mit dem Verfahren der Isoenzymanalyse, jedoch auch mit DNA-Methoden durchgeführt wurden. Zudem wird ein Ausschnitt zusätzlicher Untersuchungen auf morphologischer, phänologischer und biochemisch-physiologischer Ebene wiedergegeben, welche die genetischen Studien in ihren jeweiligen Fragestellungen ergänzen. Das Spektrum all dieser Projekte, die der forstlichen Praxis ganz wichtige Entscheidungshilfen bei der Umsetzung von Maßnahmen „vor Ort“ an die Hand geben, reicht von der Artenidentifizierung von nahe verwandten Waldbaumarten über blühphänologische und keimphysiologische Untersuchungen bis zur Charakterisierung von Waldbaumbeständen, Herkunftsversuchen und Samenplantagen hinsichtlich ihrer genetischen Diversität und Differenzierung.

Die den nachfolgend vorgestellten Berichten zugrunde liegenden wissenschaftlichen Arbeiten wurden unter der Ägide des Leiters dieser Abteilung, Herrn Forstdirektor Uwe Tabel geleistet. Uwe Tabel wird Ende April 2003 aus dem aktiven Dienst ausscheiden.

Der vorliegende Mitteilungsband belegt in besonderem Maße seine erfolgreiche 16-jährige Arbeit, die bei aller wissenschaftlichen Ausrichtung nie den so wichtigen Praxisbezug aus dem Auge verlor.

Walter Eder

Morphologische Untersuchungen an den heimischen Ulmenarten im Rahmen der Etablierung von Generhaltungsklonsamenplantagen¹

WERNER D. MAURER, ANKE LAARZ UND UWE TABEL

Keywords: Wych elm, *Ulmus glabra*, smooth-leaved elm, *Ulmus minor*, fluttering elm, *Ulmus laevis*, gene conservation seed orchards, species identification, morphological foliage and fruit traits

Abstract

Title of the paper: Morphological studies on the indigenous elm species in view of establishing clonal gene conservation seed orchards.

The objective of this investigation, performed in the summers of 1999 and 2000, aimed to the examination of species affiliation of grafted elm plants, which originate from selected mother-trees of indigenous elm occurrences. At the time of this study, presumed smooth-leaved elms (*Ulmus minor*) and Wych elms (*Ulmus glabra*) had already been planted as clones in species-specific clonal gene conservation seed orchards. Grafted fluttering elms (*Ulmus laevis*) selected for a clonal conservation seed orchard to be established, were still growing in the nursery. Since gene markers like isozymes were not available for species identification at that time, an identification key was developed by compiling morphological foliage and fruit traits described in literature. The result of this inventory made clear that in the clonal conservation seed orchard for Wych elm only trees of this species could be detected. In the clonal conservation seed orchard for smooth-leaved elm, a few hybrids were identified and removed. Among the grafted elm clones selected for the fluttering elm clonal conservation seed orchard, one single clone identified to be hybrid was eliminated. When isozyme gene markers will be available in future, an inventory is intended for all the elm conservation seed orchards with respect to unequivocally affiliate the presumed ramets to the relevant clone as well as to assess the genetic multiplicity present in the individual seed orchards.

Schlagwörter: Bergulme, *Ulmus glabra*, Feldulme *Ulmus minor*, Flatterulme, *Ulmus laevis*, Generhaltungsklonsamenplantagen, Artidentifizierung, morphologische Blatt- und Fruchtmerkmale

Zusammenfassung

Ziel der im Sommer 1999 und Frühsommer 2000 durchgeführten Untersuchung war die Überprüfung der Artzugehörigkeit von gepfropften Ulmenpflanzen, die von ausgewählten Mutterbäumen aus heimischen Vorkommen stammen. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren mutmaßliche Feldulmen (*Ulmus minor*) und Bergulmen (*Ulmus glabra*) bereits als Klone in artspezifischen Generhaltungssamenplantagen aufgenommen. Gepfropfte Flatterulmen (*Ulmus laevis*) für eine neu zu etablierende Flatterulmen-Erhaltungsklonsamenplantage befanden sich noch im Quartier. Mangels Vorhandensein von Genmarkern wie z.B. den Isoenzymen für die Artidentifizierung wurde ein Bestimmungsschlüssel mit den derzeit in der Literatur beschriebenen morphologischen Merkmalen der Laubblätter und Früchte zusammengestellt. Das Ergebnis der Inventur belegte, dass die Bergulmen-Erhaltungsklonsamenplantage keine artfremden Ulmen enthielt. In der Feldulmen-Erhaltungsklonsamenplantage wurden einige wenige Pflanzen als Hybridformen festgestellt und entfernt. Bei den für die neu zu etablierende Flatterulmen-Erhaltungsklonsamenplantage ausgewählten Ulmenklonen wurde eine Hybridform entdeckt und ausgeschieden. Nach Bereitstellung von Isoenzym-Genmarkern ist eine Inventur aller drei Erhaltungsklonsamenplantagen hinsichtlich der eindeutigen Zugehörigkeit der mutmaßlichen Kloneschwister (Ramets) zum entsprechenden Klon wie auch zur Erfassung der genetischen Vielfalt der einzelnen Flächen vorgesehen.

¹Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49/02, S.7-19.

1 Einführung

In ihren Maßnahmenkatalog zur Erhaltung und Förderung von seltenen bzw. in ihrer Existenz gefährdeten Baumarten hat die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz auch die drei heimischen Ulmenarten Bergulme (*Ulmus glabra* HUDS.), Feldulme (*Ulmus minor* MILL. syn. *U. carpinifolia* GLED.) und Flatterulme (*U. laevis* PALL.) in ihr landesspezifisches Genressourcenprogramm aufgenommen (MAURER & TABEL 1995, 2002). Gerade im Hinblick auf das epidemische Ulmensterben sind effiziente Erhaltungs- und Schutzmassnahmen für diese drei Laubbaumarten vordringlich geboten. Zwar hat der zwischen 1910 und 1940 erstmals in Europa und Nordamerika aufgetretene, wohl aus China eingeschleppte parasitische Ascomycet *Ophiostoma ulmi* mittlerweile ganz offenbar seine Aggressivität gegenüber den heimischen Ulmenarten verloren. Eine jedoch in den 60er Jahren erneut einsetzende Welle der Ulmenerkrankung, diesmal bewirkt durch die vermutlich im Raum Rumänien/Moldawien/Ukraine entstandene Art *Ophiostoma novo-ulmi*, hält seither letztlich unvermindert an (GRUBER 1994, 1996) und bedroht insbesondere Berg- und Feldulme sowie deren Hybrid *Ulmus x hollandica* (BRÖTJE 1993). Dieser Erreger, der wie seine Vorgängerart durch mehrere Arten des Ulmensplintkäfers (*Scolytus* sp.) beim Reifungsfraß übertragen wird, ist als gravierende Bedrohung der im Lande vorhandenen Ulmenvorkommen anzusehen (vgl. hierzu RÖHRIG 1996).

Auch wenn der forstliche Anbau von Ulmen aufgrund der geschilderten Situation weitgehend eingestellt werden musste, so besitzen diese Laubbaumarten immer noch eine besondere Wertschätzung wegen ihres wertvollen Holzes (z.B. Furniere, Möbel) und mehr jedoch im Landschaftsbau, wo sie, zumeist als Kultivare oder Varietäten, z.B. bei Bepflanzungen von Alleen, Gärten und Parks oder bei Renaturierungsmaßnahmen eingesetzt werden (ANONYMUS o. Jg.).

Aufgrund der i.d.R. eher einzelbaum-/truppweisen und verinselten Vorkommen der heimischen Ulmenarten erscheint es derzeit zielführend, für diese im Rahmen von Erhaltungsmaßnahmen eine Zusammenführung der noch vorzufindenden Vorkommen in sog. „Generhaltungssamenplantagen“ vorzunehmen – dies insbesondere mit Blick auf eine umgehende Sicherung bzw. angestrebte zukünftige Mehrung der bei diesen Baumarten derzeit noch vorhandenen genetischen Vielfalt. Selbstverständlich muss man sich der möglichen Gefährdung der in die Samenplantagenflächen eingebrachten Ulmen durch den Schaderreger bewusst sein, eine häufigere Kontrolle der Flächen verbunden mit Sofortmaßnahmen wie der Entnahme befallender Ulmenpflanzen(teile) sollte das Problem der Ausweitung eines potenziellen Befalls jedoch minimieren. Zweckmäßig ist zudem, in den noch vorhandenen Ulmenvorkommen ausgewählte (soweit vorhanden vitale) Mutterbäume abzupropfen und

diese nach der Pfropfung als Klone zusammen mit möglichst vielen anderen Klonen in mehrfacher Wiederholung in die Erhaltungsklonsamenplantage einzubringen.

Wesentliche Voraussetzung für solche *ex situ*-Maßnahmen ist dabei natürlich die eindeutige Bestimmung der Artzugehörigkeit des Pflanzenmaterials. Ähnlich wie bei der Gattung *Quercus* mit den heimischen Arten Stieleiche (*Q. robur*) und Traubeneiche (*Q. petraea*) sowie Bastardformen (s. ROTHE et al. „*Morphologische und biochemische Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Eichenvorkommen mit dem Ziel der Artenidentifizierung*“ in diesem Band) und bei der Gattung *Tilia* mit den Arten Sommerlinde (*T. platyphyllos*), Winterlinde (*T. cordata*) und der natürlichen interspezifischen Hybridform *T. x europaea* (MAURER 1995) treten auch bei der Artidentifizierung von Ulmen wegen der großen Variabilität von phänotypischen Merkmalen wie auch durch interspezifische Hybridbildung Probleme auf, die insbesondere die Unterscheidung von Feldulme und Flatterulme erschweren (RÖHRIG 1996). Im Hinblick auf die Gattung *Fagus* allerdings ist eine Artendifferenzierung auf der Basis der Blattmerkmale mit einem hohen Maß an Eindeutigkeit durchführbar (HAMMES & ARNDT 1985).

Zum Zeitpunkt der vorliegenden Untersuchungen befanden sich genetischen Marker (in diesem Falle Isoenzyme) für die Ulmenarten, die ggf. auch eine Artendifferenzierung zulassen, in der Frühphase ihrer Entwicklung (TH. GEHLE, mündliche Mitteilung), eine Unterscheidung von Feld- und Flatterulme erscheint neuerdings nach den Befunden von GEHLE & KRABEL (2001) möglich. Über die auf morphologischen Blatt- und Fruchtmerkmalen basierenden Befunde bei der Überprüfung von Ulmen in den bereits etablierten Bergulmen- und Feldulmen-Erhaltungsklonsamenplantagen sowie von Ulmenpflanzlingen für eine neu zu begründende Flatterulmen-Erhaltungsklonsamenplantage wird im folgenden berichtet.

Diese Untersuchungen wurden u.a. im Rahmen von zwei Werkverträgen durchgeführt: „*Im Rahmen der ex situ-Generhaltungsmaßnahmen für heimische Vorkommen von Berg-, Feld- und Flatterulme: 1. Auf der Basis von blatt- und fruchtmorphologischen Merkmalen Überprüfung aller Einzelbäume auf ihre Artzugehörigkeit in den beiden Erhaltungssamenplantagen für Bergulme (FA Landstuhl) und Feldulme (FA Waldmohr) sowie aller für die neu zu begründende Flatterulmen-Erhaltungssamenplantage (FA Kusel) im Kamp Antonihof bereitgehaltenen Pflanzen sowie 2. Erstellung eines Blattarchivs mit den einzelbaumweise gesammelten konservierten Laubblättern und, soweit vorhanden, Fruchtscheiben mit Samen*“.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Die nachstehende Tab. 1 fasst die wesentlichen Angaben zu den drei Erhaltungsklonsamenplantagen für Feld-, Berg- und Flatterulme in der Übersicht zusammen, die Abb. 1 zeigt einen fotografischen Ausschnitt der Fläche im unteren Teil (Blöcke VI-VII) mit Blickrichtung von VI nach VII (vgl. hierzu Lageplan in Abb. 2). Exemplarisch ist in Abb. 2 der Gesamt-Lageplan der Bergulmen-Erhaltungsklonsamenplantage im FA Landstuhl mit der ursprünglichen Verteilung der Klompflanzen als Schemazeichnung dargestellt.

Während die morphologische Identifizierung der Feld- bzw. Bergulmenpflanzen direkt in den jeweiligen Erhaltungssamenplantagenflächen vorgenommen wurde, erfolgte die Artbestimmung bei den Flatterulmenpflöpfingen vor dem Ausbringen in die Fläche im Pflanzquartier auf dem Kamp Antonihof.

2.2 Erfassung der morphologischen Merkmale zur Artidentifizierung

Die enorme Variabilität der Ulmenblätter erfordert eine möglichst umfassende und eingehende Bewertung anhand vieler verschiedener morphologischer Kriterien. Daher wurde für die Artbestimmung ein Erfassungsbogen für Blattmerkmale nach Angaben von AMANN (1993) und RAMISCH (1999a, b) und für Samenmerkmale nach MITCHELL (1975), NOACK (1986), FITSCHEN (1987), ROTHMALER (1988) und AMANN (1993) entwickelt. Die morphologischen Merkmale einer jeden untersuchten Ulme ließen sich auf diesem Bogen recht schnell und sicher festhalten (vgl. hierzu Abb. 3). Die Wachsschicht auf der Blattoberseite war allerdings auch durch eine Lupe nicht erkennbar und wurde daher nicht berücksichtigt.

Zusätzlich zur taxonomischen Bestimmung wurden pro Einzelpflanze etwa sechs charakteristische Blätter geworben, gepresst, getrocknet und archiviert, ebenso eventuell vorhandene Früchte (siehe Beispiele in Abb. 4).

2.3 Durchführung der taxonomischen Untersuchung

Die Gesamtuntersuchung fand im Sommer 1999 und im Frühsommer 2000 statt. Insgesamt wurden 1.042 Ulmen bewertet, nämlich 576 Ulmen in der Bergahorn-Erhaltungsklonsamenplantage im FA Landstuhl, davon 80 mit Samenbehang sowie 123 Ulmen in der Feldulmen-Fläche im FA Waldmohr, wovon 24 Samenbehang aufwiesen. Von insgesamt 580 Flatterulmen im Quartier auf dem Kamp Antonihof wurden 343 untersucht, die alle ohne Samenbehang waren.

Tab. 1: Übersicht über die drei rheinland-pfälzischen Erhaltungsklonsamenplantagen für Feldulme, Bergulme und Flatterulme sowie die Herkunft der Mutterbäume.

A compilation of data relevant for the three Rhineland-Palatinate conservation seed orchards for smooth-leaved, Wych and fluttering elm as well as the origin of the mother-trees.

| | <i>Feldulme</i> | <i>Bergulme</i> | <i>Flatterulme (mit 2 Teilflächen)</i> | |
|---|-----------------|-----------------|--|-------------------|
| Erhaltungsklonsamenplantage | | | | |
| <i>gelegen im Forstamt</i> | Waldmohr | Landstuhl | Kusel | |
| <i>Anlage im</i> | Frühjahr 1991 | Herbst 1994 | Herbst 1999 | |
| <i>Größe (ha)</i> | 2,5 | 3,4 | 2,08 | |
| <i>Verband</i> | 10 x 10 m | 10 x 10 m | 6,5 x 6,5 m | |
| <i>Klonanzahl</i> | 23 | 47 | 61 | |
| <i>Pfropflinge / Klon</i> | 10 | 5 | 4 | |
| Mutterbäume | | | | |
| <i>ausgewählt in den Forstamtsbereichen</i> | Boppard | Gerolstein | Alzey | Kirchheimbolanden |
| | Zweibrücken | | Bellheim | Rhaunen |
| | | | Bernkastel-Kues | Sayn (priv.) |
| | | | Hagenbach | Saarlouis |
| | | | Hassloch-Neustadt | Schaidt |
| | | | Kandel | Speyer |
| | | | Mayen | |

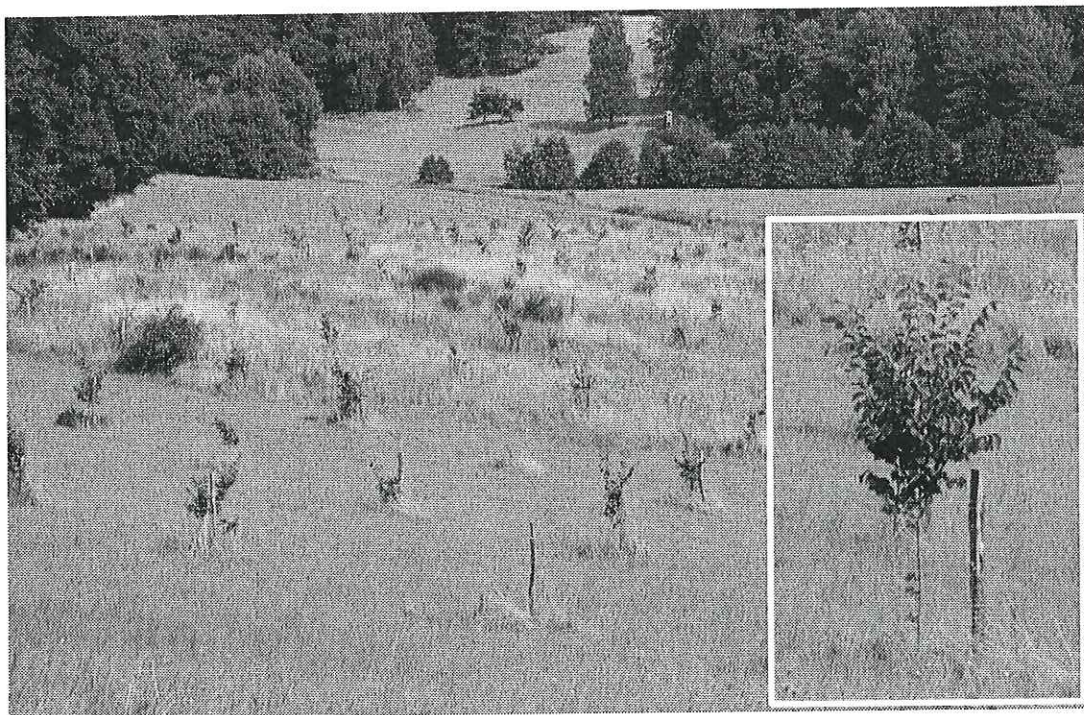


Foto: W.D. Maurer

Abb. 1: Einblick in den unteren Teil der Bergulmen-Erhaltungsklonsamenplantage (Blöcke VII und VI). Ausschnitt unten rechts: typischer Bergulmen-Pfropfling im August 1999.

Fig. 1: A view of the lower part of the Wych elm clonal conservation seed orchard (blocks VI and VII). Detail bottom right: typical Wych elm graft in August 1999.

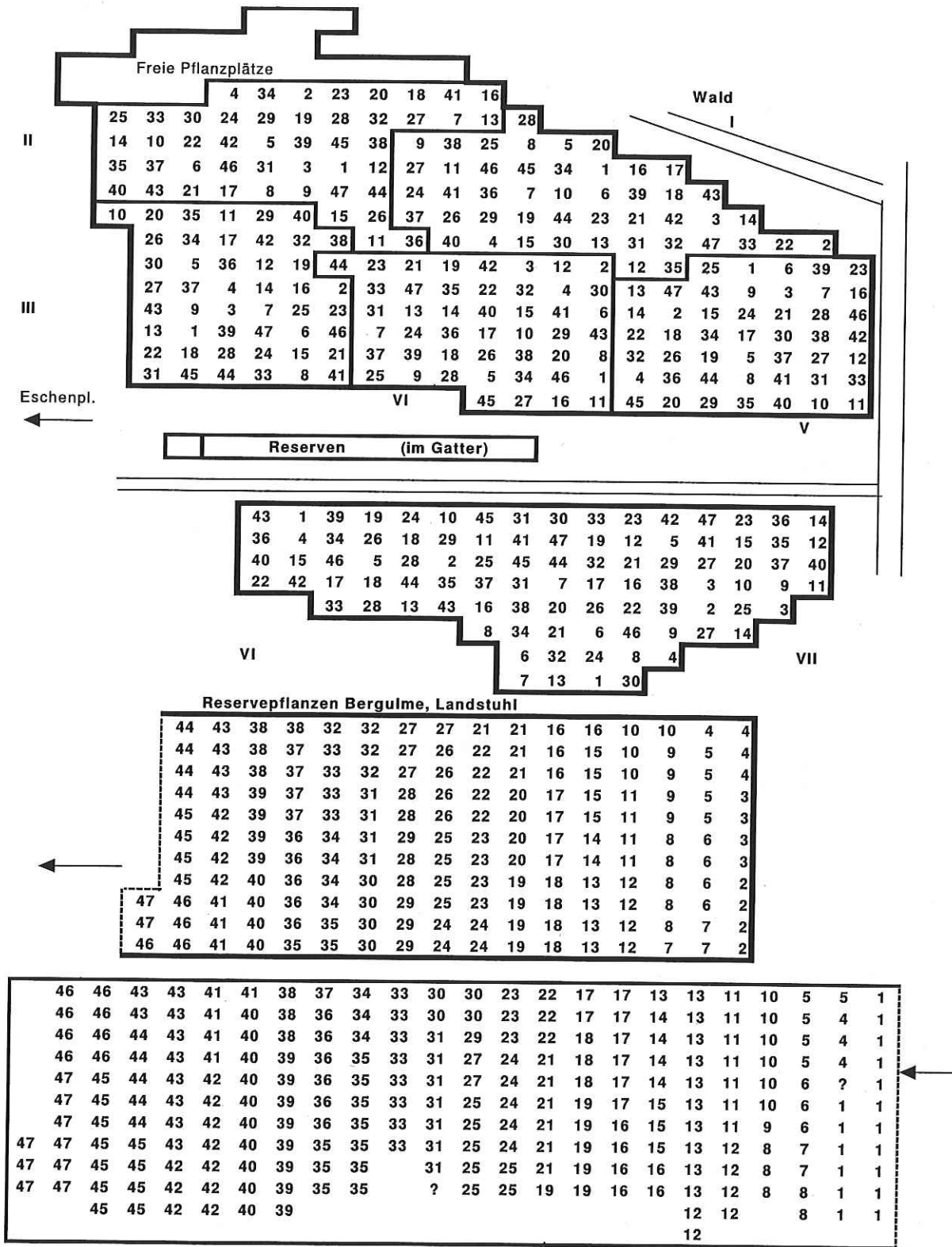


Abb. 2: Schematische Darstellung der Bergulmen-Erhaltungsklonsamenplantage mit der ursprünglichen Verteilung der Klonpflanzen. Reservepflanzen (im Gatter) sind in der unteren Hälfte detailliert dargestellt.

Fig. 2: Schematic presentation of the clonal conservation seed orchard for Wych elm (*Ulmus glabra*) showing the original distribution of the clonal plants. Clonal spare plants (fenced) are given in detail in the bottom section.

Von den ursprünglich in siebenfacher Wiederholung ausgepflanzten 47 Klonen (329 Pflanzen) in der Bergulmenfläche waren zum Zeitpunkt der Untersuchung nur noch 267 Exemplare am Leben. Zusätzlich standen an der tiefsten Stelle des Geländes 309 Reservepflanzen eng zusammen. Von jedem der 47 Klone waren hier jeweils zwischen 2 und 17 Exemplaren vorhanden.

Die Feldulmenfläche im FA Waldmohr war zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits durch den Ulmensplintkäfer befallen. Von den einstmals 250 Bäumen - 50 Klone in fünffacher Wiederholung - existierten nur noch 67. Zudem waren noch 56 Reservepflanzen vorhanden, welche fast alle 13 Klonen zugeordnet werden konnten.

Von den 580 Flatterulmen-Pfropflingen im Quartier auf dem Kamp Antonihof wurden 343 bestimmt, nämlich bis zu sechs Exemplaren von jedem der insgesamt 62 verschiedenen Klone. Zum Untersuchungszeitpunkt waren zum Teil jedoch nur noch die nicht vollständig ausdifferenzierten Blätter des Johannistriebs vorhanden, was die Bestimmung erschwerte.

Nach RÖHRIG (1996) kommen Hybride zwischen allen drei Ulmenarten vor, spontan vor allem aber zwischen Berg- und Feldulme (*Ulmus x hollandica*). Nach den bisherigen Erfahrungen erzeugen die Bastarde aber kaum keimfähiges Saatgut (ENDTMANN 1988). Letztlich wird die Bestimmung der Artzugehörigkeit oftmals sehr schwierig.

Bestimmungsschlüssel zur Artidentifizierung von Bergulme, Feldulme und Flatterulme nach Blatt- und Fruchtmerkmalen

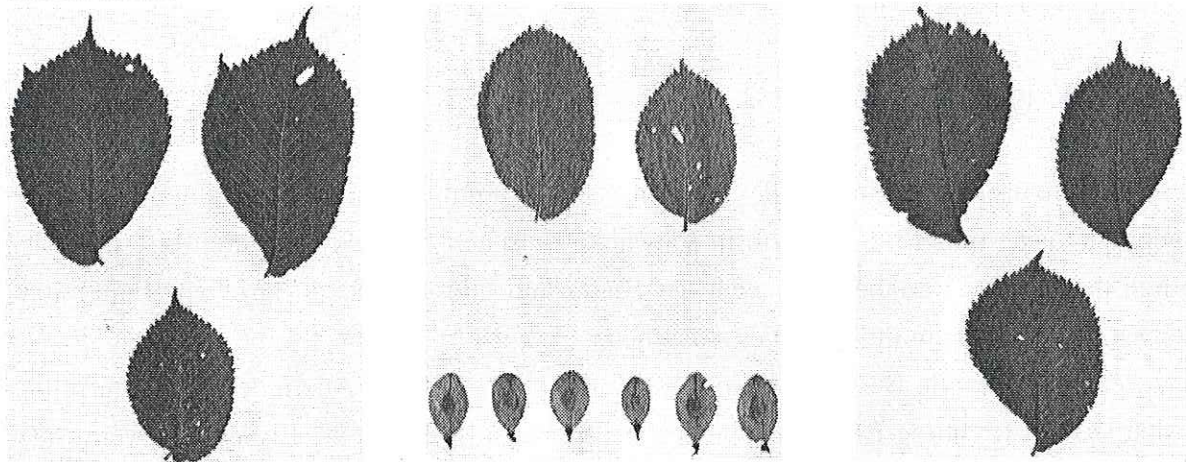
Pflanzen-Nr.: _____ (einfügen!)

| Merkmale | Feldulme <i>U. glabra</i> | Bergulme <i>U. glabra</i> | Flatterulme <i>U. laevis</i> |
|---|---|---|--|
| Blattmerkmale | | | |
| Blattstellung | wechselständig zweizeilig gestellt | | |
| Blattform | derb, eiförmig | groß, dreispitzig | groß, breit-eiförmig |
| größte Breite | in der Mitte | im oberen Drittel | in der Mitte |
| Wachsschicht Oberseite | dick und plattenartig | sehr dünn | dünn |
| Blattrand | einfach bis doppelt gesägt | scharf doppelt gesägt | |
| Behaarung | | | |
| Oberseite | kahl oder vereinzelt behaart; Haare kurz, dünn, gekrümmt, ohne Sockel | dicht behaart; Haare nach vorn gebogen; dick, lang, gerade, mit Sockel | kahl oder zerstreut behaart |
| Unterseite | Achselbärte | | |
| | kahl oder vereinzelt behaart; Haare wie Oberseite | auf den Adern dichter und länger behaart als dazwischen, dort flaumig behaart | |
| | | Haare wie Oberseite; Blatt fühlt sich beiderseits rau an | |
| Drüsen (Blattunterseite) | zahlreich, orange oder rötlich - schwarz-braun | ohne | |
| Blattfarbe | | | |
| Oberseite | glänzend dunkelgrün | matt | glänzend grün |
| Unterseite | heller als Oberseite | | heller als Oberseite |
| Nervatur (Seitennerven SN beiderseits) | 8 - 12 bis zu 15 SN | 13 - 20 meist gegabelte SN | 12 - 19 im oberen Blattdrittel fast niemals gegabelte SN |
| Blattgrund | auffallend ungleich | oft fast symmetrisch | sehr ungleich |
| sonstiges | | nicht selten haselähnlich (Haselulme) | |
| Fruchtmerkmale | | | |
| Fruchtstand | Früchte in Büscheln an den Zweigen sitzend | | Früchte in über-hängenden Büscheln |
| Fruchtstiele | kurz (- 1 mm) | kurz (1 - 2 mm) | lang (3 - 4 cm) |
| Flügel | ringsum breit geflügelt, Ränder kahl | ähnlich Feldulme | klein (max. 15 mm lang) und spitz zulaufend; Ränder deutlich bewimpert |
| Nüsschen | | | |
| Farbe | anfangs grün, später gelblich | graugrün | |
| Lage | exzentrisch, nahe der oberen Einkerbung des Flügels | meist in der Mitte des Flügels (ohne Berührung des Einschnittes am oberen Flügelrand) | |

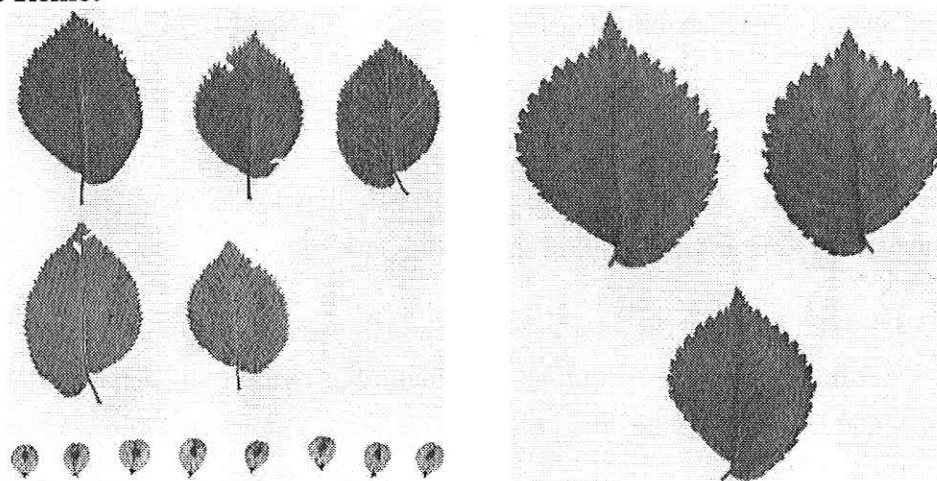
Abb. 3: Erfassungsbogen mit Angaben zu den einzelnen artspezifischen morphologischen Blatt- und Fruchtmerkmalen für die heimischen Ulmen.

Fig. 3: Registration and identification sheet indicating the different species-specific morphological foliage leaves and fruit traits for the indigenous elm species.

obere Reihe:



mittlere Reihe:



untere Reihe:

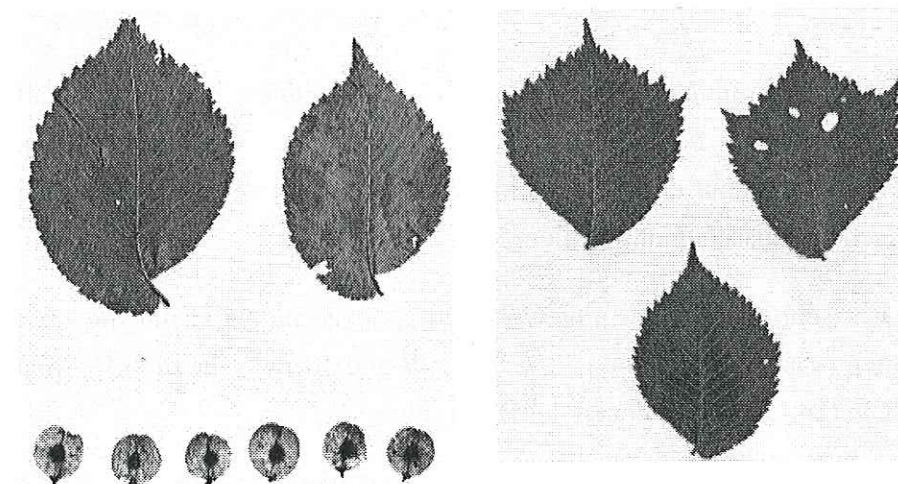


Abb. 4: Typische Blätter und Samen der untersuchten Ulmen. Bergulme (obere Reihe, alle 3 Bilder); Feldulme (mittlere Reihe links) und Flatterulme (mittlere Reihe rechts); mutmaßliche Hybride zwischen Berg- und Feldulme (untere Reihe links) bzw. Berg- und Flatterulme (untere Reihe rechts).

Fig. 4: Typical foliage leaves and seeds of the elms under study. Wych elm (top, all 3 pictures); smooth-leaved elm (center on the left) and fluttering elm (center on the right); presumed hybrids between Wych and smooth-leaved elm (bottom left) and smooth-leaved and fluttering elm (bottom right).

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Bergulmen

Die morphologischen Artmerkmale der einzelnen Bergulmen sind unterschiedlich stark ausgeprägt: Insbesondere die Blattform schwankt zwischen länglich- und breit-eiförmig bis deutlich dreispitzig. Variabel sind auch der Blattgrund und der Ort der größten Blattbreite. Jeder Klon zeigt also ein individuelles Aussehen.

Charakteristisch für alle Bergulmen sind jedoch die Haare auf den Adern der Blattunterseite, die sich stets in Richtung Blattspitze biegen. Es treten nie weniger als 12 Seitennerven (SN) auf, die außerdem sehr häufig gegabelt sind. Die Blätter fühlen sich auf der Oberseite mehr oder weniger rau an, auf der Unterseite eher filzig.

Die Blätter der Reservepflanzen sind in der Regel dünner und weniger rau, die Haare sind feiner, die Achselbärte schwächer ausgeprägt, der Blattrand deutlich schärfer doppelt gesägt als bei den Bergulmen in den übrigen Parzellen. Möglicherweise wirkt sich hier das unterschiedliche Mikroklima auf die Blattdifferenzierung aus.

Doch trotz der Vielgestaltigkeit der Blätter gab es keine Hinweise auf Hybride, beispielsweise aus Berg- und Feldulmen; typische Feldulmenmerkmale wie Drüsen auf der Blattunterseite, ledrige und glänzende Blattoberfläche oder exzentrische Nüsschen waren nicht zu erkennen.

3.2 Feldulmen

Auch bei den Feldulmen ist die Blattform variabel, wenn auch nicht in dem Ausmaß wie bei den Bergulmen. Die typischen Feldulmen-Merkmale sind meist vorhanden: eher kleine und ledrige Blätter, durch Drüsen auf der Blattunterseite teilweise rostrot gefärbt. Die Samen sind klein, mit exzentrischem Nüsschen und kahlem Flügelrand.

Deutlich erkennbar - schon durch die ungewöhnlich großen Blätter - sind die Hybride aus Berg- und Feldulmen (das sind die Klone 28, 29, 38, 49 und 50), welche die Merkmale beider Arten aufweisen. Die Samen ähneln denen der Bergulmen.

Der Samenplantagenbestand ist, wie bereits erwähnt, leider durch den Ulmensplintkäfer befallen.

3.3 Flatterulmen

Die Blätter der Flatterulmen sind einheitlicher als die der anderen beiden Ulmenarten: Der Blattgrund ist nie symmetrisch, die Blätter sind dünn mit nur selten gegabelten Seitennerven.

Junge Johannistrieb-Blätter sind oft nur schwach ausdifferenziert. Dann sind sie ungewöhnlich dunkel grün, sehr stark behaart, teilweise mit schmalen Blättern, nur undeutlich doppelt gesägtem Blattrand und schwach asymmetrischem Blattgrund. Die Übergänge zu voll ausdifferenzierten Blättern sind fließend.

Allein die Blätter des Klons Nr. 40 wiesen häufig doppelt gegabelte Seitennerven auf und sind zum Teil deutlich dreispitzig. Vermutlich handelt es sich hier um eine Hybridform aus Berg- und Flatterulme.

Die Pflöpflinge waren noch nicht alt genug, um Fruchtbehang zu entwickeln. Daher gab es keine Samen für eine Probenahme.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich – auf der Grundlage der hier verwendeten morphologischen Blatt- und Fruchtmerkmale – in den bereits angelegten Erhaltungs-klonsamenplantagen für Bergulme bzw. Feldulme keine artfremden Ulmen befinden. Mögliche Hybridformen zwischen den Ulmenarten lassen sich mit dem erstellten Bestimmungsschlüssel schnell ermitteln. Diese sind dann aus den Samenplantagen zu entfernen bzw. werden vom Einbringen in die Fläche ausgeschlossen.

Allerdings gilt nicht nur für die hier untersuchten Flatterulmen: Je jünger die Blätter, desto schwieriger die Ansprache, je älter, desto deutlicher prägen sich die charakteristischen Artmerkmale aus. Aber auch unabhängig vom Alter weisen Ulmenblätter eine enorme Variabilität auf. Früchte lassen sich zwar leichter unterscheiden, sind jedoch nicht immer vorhanden.

Nichtsdestotrotz ist die Artzugehörigkeit von Feld-, Berg- und Flatterulmen anhand der aufgeführten morphologischer Kriterien ohne allzu großen Aufwand eindeutig feststellbar. Auch eventuell vorhandene Hybride lassen sich so unschwer ermitteln.

4 Ausblick

Da die Feldulme am massivsten einer Gefährdung durch das „Ulmensterben“ ausgesetzt ist, sind als Sicherungsmaßnahme zwischenzeitlich Sekundärreiser von Bäumen der in die Feldulmen-Erhaltungsklonsamenplantage im FA Waldmohr eingebrachten Klone erworben und gepfropft worden. Diese sind nunmehr auch in eine zusätzliche Fläche (sog. „Klonarchiv“) ausgepflanzt worden.

Nach Durchsicht der einzelnen Ulmenklone auf morphologischer Merkmalsebene steht für die jeweilige, als artrein befundene bzw. nunmehr als hybridfrei vorliegende Generhaltungsklonsamenplantage die Überprüfung der mutmaßlichen Kloneschwister (Ramets) zwecks

zweifelsfreier Zuordnung zum entsprechenden Klon an. Eine solche Kontrolle erfolgt am effizientesten mit sog. Genmarkern, hier insbesondere mit Isoenzym-Genmarkern (vgl. hierzu auch die Beiträge in diesem Band von KOWNATZKI & MAURER „Charakterisierung und Identifikation von Vogelkirschenklonen (*Prunus avium* L.) in zwei Erhaltungs-Klonsamenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern“ sowie von LEINEMANN et al. „Genetische Kontrolle von Samenplantagen mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern“). Zum Zeitpunkt der vorliegenden Untersuchungen befanden sich Isoenzym-Genmarker für die Ulmenarten in Entwicklung (TH. GEHLE, mündliche Mitteilung). Nach GEHLE & KRABEL (2001) steht die Bereitstellung von sechs Enzym-Genmarkern für Routineuntersuchungen unmittelbar bevor.

5 Literatur

- ANONYMUS (o. Jg.): Die Ulmen. Faltblatt Nr. 4, Schutzgemeinschaft Deutscher Wald (SDW), Bundesverband e.V. Bonn (Hrsg.), 4 Seiten.
- AMANN, G. (1993): Bäume und Sträucher des Waldes. Naturbuch Verlag Augsburg, 16. Auflage, S.149-151.
- ENDTMANN, J. (1967): Zur Taxonomie der mitteleuropäischen Sippen der Gattung *Ulmus*. *Archiv für das Forstwesen*, 16, S.667-672.
- ENDTMANN, K.J. (1988), zitiert in U. FELLEBERG (1991): ‚Bestimmung der Ulmenarten während des Samenbehangs im Frühjahr‘ Unveröffentlichtes Merkblatt der NFV Abt. Waldgenressourcen Escherode mit Boniturschema für Ulmenfrüchte.
- FITSCHEN, J. (1987): Gehölzflora. Ein Buch zum Bestimmen der in Mitteleuropa wildwachsenden und angepflanzten Bäume und Sträucher (mit Früchteschlüssel). 8., völlig neu bearbeitete und neugestaltete Auflage mit Früchteschlüssel, bearbeitet von F.H. MEYER, U. HECKER, H.R. HÖSTER & F.-G. SCHROEDER. Verlag Quelle und Meyer, Heidelberg Wiesbaden, Abschnitt 33-1 bis 33-4.
- GEHLE, TH. & KRABEL, D. (2001): Unterscheidung von Feld- und Flatterulme mit Hilfe von Isoenzymen. In: H. WOLF (Redaktion): Nachhaltige Nutzung forstgenetischer Ressourcen. Tagungsbericht zur 24. Internationalen Tagung der Arbeitsgemeinschaft für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung vom 14.-16. März 2000 in Pirna, S.229-230.
- GRUBER, H. (1994): Ulmensterben: Eine Baumkrankheit mit verheerenden Folgen. *Naturschutz und Naturparke*, Heft 155, S.18-22.
- GRUBER, H. (1996): Ulmensterben (*Ceratocystis ulmi* / *Ophiostoma novo-ulmi*). *Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft*, 59, S.8-13.
- HAMMES, W. & ARNDT, H.-J. (1985): Die Identifikation verschiedener Buchenarten anhand morphologischer Blattmerkmale. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 45, S.1207-1212.
- KRÜSSMANN, G. (1978): Handbuch der Laubgehölze Band 3: Teil Pru-Z., Verlag Paul Parey, Berlin, S.427-437.

- MAURER, W. (1995):** Isoenzymatische und morphologische Untersuchungen zur Linde. In: W. MAURER & U. TABEL (Hrsg.): Genetik und Waldbau unter besonderer Berücksichtigung der heimischen Eichenarten. *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 34/95, S.234-243.
- MAURER, W.D. & TABEL, U. (1995):** Erhaltung forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 2, S.102-104.
- MAURER, W.D. & TABEL, U. (2002):** Das „Genressourcen-Programm“ – Maßnahmen zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz. *Forst und Holz*, 57.Jg., S.25-29.
- MITCHELL, A. (1979):** Die Wald- und Parkbäume Europas. Ein Bestimmungsbuch für Dendrologen und Naturfreunde, 2. Auflage, Verlag Paul Parey, Hamburg, 419 Seiten.
- NOACK, H. (1986):** Die Flatterulme oder Weißrüster. *Baum-Zeitung*, 20(1), S.23-25.
- RAMISCH, H. (1999a):** Zum Problem der Artidentifizierung reiner Ulmenarten und deren Hybride. *Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft*, 84, S.95-107.
- RAMISCH, H. (1999b):** Artidentifizierung reiner Ulmenarten und deren Hybride anhand qualitativ zu beurteilender Merkmale. *Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft*, 84, S.109-122.
- RÖHRIG, E. (1996):** Die Ulmen in Europa – Ökologie und epidemische Erkrankung. *Forstarchiv*, 67, S.179-198.
- ROTHMALER, W. (1992):** Exkursionsflora von Deutschland, Band 2 Gefäßpflanzen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- ZEITLINGER, H.-J. (1992):** Die Ulmen: Bergulme – Feldulme – Flatterulme. *Österreichische Forstzeitung*, 2, S.31-35.

Anschriften der Autoren:

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Diplom-Biologin Anke Laarz, Friedrichstr. 47, D-67655 Kaiserslautern

Charakterisierung und Identifikation von Vogelkirschklonen (*Prunus avium* L.) in zwei Generhaltungsklonsamenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern

DIERK KOWNATZKI UND WERNER D. MAURER

Keywords: Wild cherry, *Prunus avium*, conservation clonal seed orchard, isozyme gene markers, clone identification

Abstract

Title of the paper: Characterization and identification of wild cherry (*Prunus avium* L.) clones in two conservation clonal seed orchards in Rhineland-Palatinate by means of isozyme gene markers.

Clone identification using morphological traits is often uncertain. Enzyme gene markers, however, are stable under varying environmental conditions and in different plant ages. Thus for identifying 239 clones of wild cherry (*Prunus avium* L.) growing in the two Rhineland-Palatinate clonal conservation seed orchards Lauterecken and Saarburg (formerly Saarburg-West) were analyzed at ten different polymorphic enzyme gene loci. The simultaneous consideration of all enzyme gene loci revealed 122 multilocus genotypes, 89 of which are unique and thus are suitable for differentiating the clonal identity of approximately one third of the trees in both conservation seed orchards.

Schlagwörter: Vogelkirsche, *Prunus avium*, Erhaltungsklonsamenplantage, Isoenzym-Genmarker, Klontifizierung

Zusammenfassung

Gegenüber den Unsicherheiten bei den klassischen Verfahren der Klontifizierung zeichnen sich Enzym-Genmarker durch eine umweltstabile und altersunabhängige Merkmalsvariation aus. Mit Hilfe von zehn polymorphen Enzymsystemen wurden so insgesamt 239 Vogelkirschenklone der rheinland-pfälzischen Erhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg (ehemals Saarburg-West) beschrieben. Durch simultane Betrachtung aller Enzym-Genloci aller Klone konnten 122 Multilocusgenotypen identifiziert werden, von denen 89 jeweils nur einmal vorhanden sind und somit für eine partielle Überprüfung der beiden Plantagen zur Verfügung stehen.

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

Während es in vielen Fällen möglich ist, bestimmte Baum- und andere Gehölzarten anhand einer definierten Morphologie zu bestimmen, bereitet die Identifikation von vegetativem Vermehrungsgut auf der Ebene des Individuums, was in diesem Fall gleichbedeutend mit der

Feststellung der vollständigen Übereinstimmung von vegetativen Abkömmlingen mit dem Ausgangsindividuum ist, hingegen nicht unwesentliche Probleme. Schließlich ist es eine Summe spezifischer Merkmale, welche die Identität eines Individuums ausmachen. Um jedoch Merkmale zur Identifikation nutzen zu können, bedarf es zunächst des Nachweises ihrer Umweltunabhängigkeit und -stabilität sowie ihrer möglichen Variation innerhalb eines Kollektivs verschiedener Individuen. Sind diese Bedingungen erfüllt, ist eine eindeutige Charakterisierung des Individuums möglich, die hiermit allgemein als Kennzeichnung durch Beschreibung seiner spezifischen Eigenschaften verstanden werden soll.

Ein Pflanzenklon stellt ein Kollektiv von Individuen dar, welches auf asexuellem, d.h. vegetativen Weg (Wurzelbrut, Steckling, Pfropfling,...) aus einem Ausgangsindividuum, dem sog. „Mutterbaum“, auf natürliche oder auch künstliche Weise entstanden ist. Bei der Wurzelbrut und beim Steckling sind die Individuen in allen Pflanzenteilen genetisch gleich. Beim Pfropfling hingegen besitzt der Pflanzenteil oberhalb der Pfropfstelle, das sog. „Pfropfreis“, welches vegetativer Abkömmling eines Mutterbaums ist, und der Pflanzenteil unterhalb davon, nämlich die zumeist artgleiche „Pfropfunterlage“, verschiedene genetische Identitäten. Ein Problem bei der Herstellung von Pfropflingen ist das unerkannte Durchwachsen dieser Unterlage, dem jedoch während der Anzuchtphase durch Rückschnitt der Basistriebe unterhalb der Pfropfstelle entgegengewirkt werden kann. Nach der Auspflanzung ins Freiland entstehen dennoch gelegentlich Zweifel, ob sich der Pfropfling in der gewünschten Weise entwickelt hat. Die Frage, ob die Pfropfunterlage nachträglich weitergewachsen bzw. sogar als dominierender Pflanzenteil durchgewachsen ist, lässt sich manchmal kaum mehr auf den ersten Blick beantworten.

Um Pflanzenklone gegeneinander abzugrenzen, bediente man sich noch bis vor kurzem überwiegend solcher Verfahren zur Klonbeschreibung, welche sich auf die Erhebung einer Vielzahl variabler morphologischer Merkmale eines jeden Klons stützen. Diese Vorgehensweise ist praxistauglich. Die Erhebung vegetativer Merkmale erlaubt dabei eine deutlich frühere Beobachtung als die Einbeziehung generativer, bei der die Ausbildung von Blüten- und Samenständen abgewartet werden muss. Bei Pappeln, die hier beispielhaft genannt sind, werden überwiegend morphologische und phänologische Merkmale zur Klonidentifikation herangezogen (FRÖHLICH & BAUMEISTER 1963; FRÖHLICH et al. 1964; BAUMEISTER 1965). Je größer jedoch die Anzahl der Klone eines Kollektivs und je geringer die Variation ihrer Morphologie ist, um so schwieriger ist es, diese Klone eindeutig voneinander zu unterscheiden. Da zudem die beobachteten Merkmale in verschiedenen Altersstadien häufig variieren, sind mögliche Fehlerquellen bei der Identifikation vorgegeben. Mit Ansteigen der Zahl der zu unterscheidenden Klone wird das Sortiment unüberschaubarer, was den Einsatz rechnergestützter biometrischer Methoden erfordert (HATTEMER 1969). Die zunehmende Zulassung von Pappelklonen erfordert weitere Kriterien zur Charakterisierung der einzelnen Pappelklone (BERGMANN 1981).

1.2 Klonidentifizierung mit Isoenzym-Genmarkern

Als qualitative Merkmale für die Klonbeschreibung zeichnen sich die Isoenzyme als biochemisch-genetische Genmarker durch ihre umwelt- und altersunabhängige Reproduzierbarkeit aus (BERGMANN 1981, 1991). Diese werden darüber hinaus von der Forstgenetik als sehr stabile Merkmale vorwiegend für ökologisch-genetische Fragestellungen bei Waldbaumarten eingesetzt (z.B. MÜLLER-STARCK & ZIEHE 1991).

Auf der Grundlage einer genetischen Charakterisierung selbst umfangreicher Klonkollektive lassen sich Individuen mit unbekannter oder fraglicher Herkunft den bekannten Klonen nach dem Ausschlussprinzip mit einer sehr hohen Sicherheit zuordnen. Für einen Pfropfling, dessen Unterlage vom Pfropfreis genetisch unterscheidbar ist, lässt sich sowohl das Durchwachsen der Unterlage feststellen als auch seine genetische Identität mit Pfropfreisern gleicher Abstammung bestätigen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, auf der Basis von biochemisch-genetischen Merkmalen, den sog. Isoenzym-Genmarkern, zwei rheinland-pfälzische Vogelkirschen-Erhaltungsklonsamenplantagen im Hinblick auf die dort eingebrachten Klone genetisch zu charakterisieren. Eine Überprüfung der Identität aller auf den Samenplantagen vorhandenen Pfropflingen ist nachfolgend vorgesehen.

2 Material und Methoden

2.1 Auswahl von Vogelkirschen-Mutterbäumen und Anlage von zwei Erhaltungs-Klonsamenplantagen

Die Selektion der zu erhaltenden Vogelkirschen wurde im Zeitraum von 1986 bis 1990 (ANONYMUS 1987, 1988, 1989, 1990, 1991) von der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz durchgeführt, wobei ein Schwerpunkt zunächst in Lagen bis 400 m ü. NN gesehen wurde, welcher später durch eine Auswahl in Beständen oberhalb 400 m ü. NN ergänzt wurde. Als wesentliche Selektionskriterien wurden die Vitalität, Wipfelschäftigkeit und Wüchsigkeit angesehen. Ziel dieser Auswahl war die Anlage von zwei Samenplantagen dieser Baumart mit jeweils etwa 100 Klonen der Vogelkirsche (ANONYMUS 1987). Die Beurteilung der Ausleseebäume erfolgte im laublosen Zustand. Im zeitgleichen Winter wurden von jedem so erfassten Kirschbaum Reiser für die Frühjahrspfropfungen geworben. Von jedem Mutterbaum wurden anfänglich bis zu 30 Reiser abgepfropft, um kalkulatorischen Ausfallprozenten von bis zu 50% entgegenzuwirken (ANONYMUS 1988).

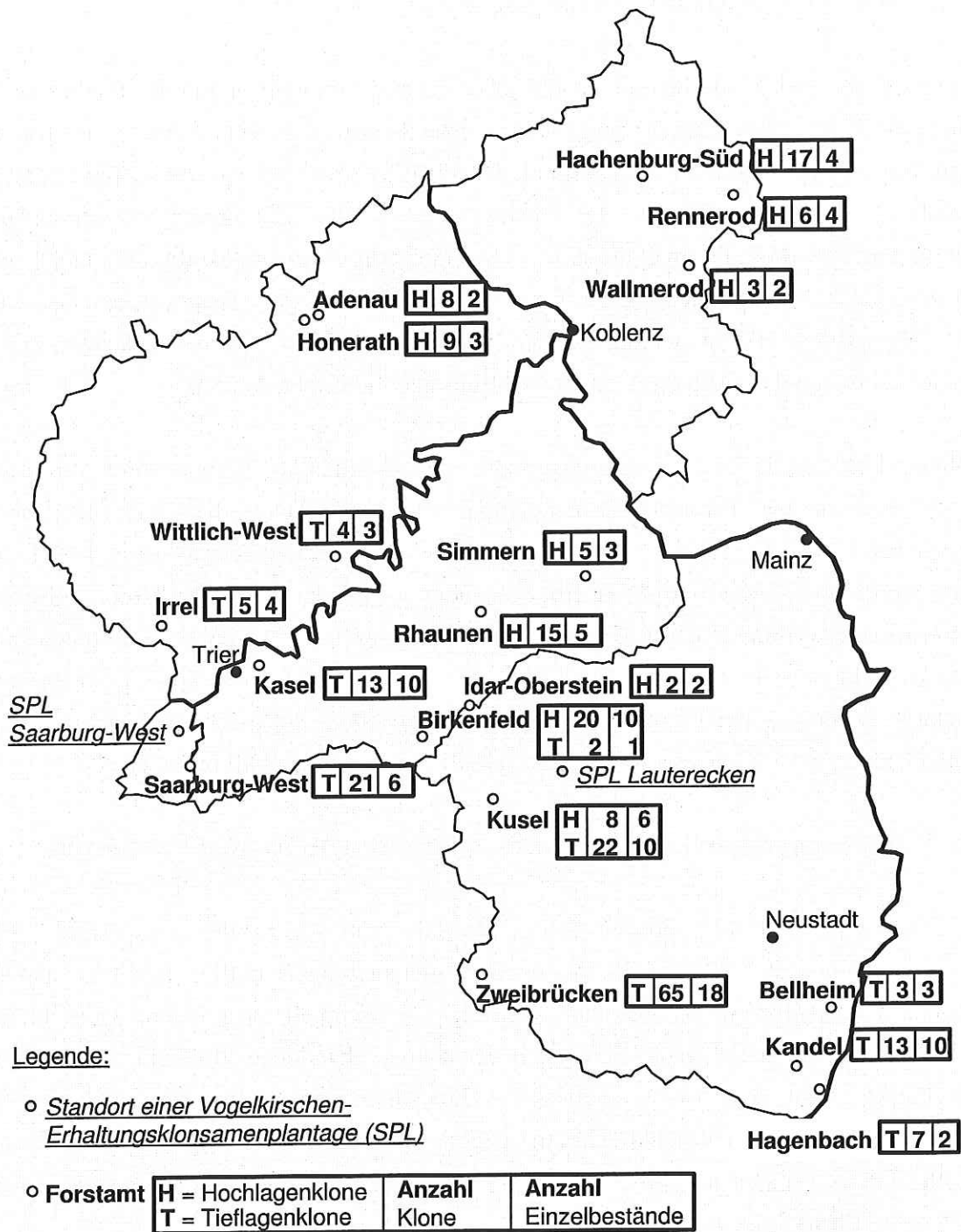


Abb. 1: Übersicht über die rheinland-pfälzischen Forstamtsbereiche, in denen Vogelkirschbäume aus den Höhenlagenbereichen bis 400 m ü. NN (**T**) bzw. oberhalb 400 m ü. NN (**H**) als Mutterbäume zur Begründung von zwei Erhaltungsklonsamenplantagen ausgewählt wurden (Stand der Forstamtsbezeichnung: 1999).

Fig. 1: An overview of the Rhineland-Palatinate forest districts where wild cherry trees were selected as mother trees for establishing two clonal conservation seed orchards comprising clones from elevations up to 400 m a.s.l. (**T**) and above 400 m a.s.l. (**H**).

Bis zum Frühjahr 1990 waren Pflöpfunglinge aller Klone in ausreichender Anzahl zur Auspflanzung auf die Erhaltungsflächen hergestellt (ANONYMUS 1991).

Insgesamt wurden 241 Mutterbäume für die Pflöpfungsfreiergewinnung in 111 Beständen in 18 rheinland-pfälzischen Forstämtern ausgewählt (siehe hierzu Tab. 4 in Anhang I). Davon stammen 148 aus der planaren und kollinen Höhenstufe sowie 93 aus der (sub)montanen Höhenstufe. In Abb. 1 ist für die 18 Forstamtsbereiche die Zuordnung zur Höhenlage [T = Tieflagenklone (bis 400 m ü. NN); H = Hochlagenklone (oberhalb 400 m ü. NN)], die Anzahl der ausgewählten Vogelkirschen-Mutterbäume bzw. der zugehörigen Einzelbestände für die ausgewählten Bäume widergegeben. Details zu den Standorten der ausgewählten Mutterbäume können dem Anhang 1 zu diesem Beitrag entnommen werden.

Im Frühjahr 1990 wurde im FA Lauterecken auf einer ehemals landwirtschaftlich genutzten Fläche die erste von zwei Pflöpfungssamenplantagen im 5 m x 5 m-Verband mit 148 Klonen aus Lagen bis 400 m ü. NN in zehnfacher Wiederholung angelegt (ANONYMUS 1991). Im Folgejahr wurde im FA Saarburg-West (im Folgenden wegen der kürzlichen Umorganisation der Landesforstverwaltung Rheinland-Pfalz als Saarburg bezeichnet) eine ähnliche Fläche mit 93 Vogelkirschklonen aus Lagen oberhalb 400 m ü. NN im 7 m x 7 m-Verband eingerichtet (ANONYMUS 1992). Bei der Pflanzung wurde darauf geachtet, dass sich in jedem der zehn gebildeten Blöcke jeder Klon jeweils in unterschiedlicher Nachbarschaft befindet.

2.2 Klonbeschreibung mit Hilfe biochemisch-genetischer Verfahren

Anfang November 1997 wurde Reisermaterial von 239 der insgesamt 241 Vogelkirschenklone für biochemisch-genetische Untersuchungen mittels Isoenzymanalyse erworben. Zu diesem Zeitpunkt war der Klon Nr. 238 komplett ausgefallen, während der Klon Nr. 141 wegen der Schwachwüchsigkeit der noch vorhandenen Pflöpfunglinge unbeerndet bleiben musste. Mit den isoenzymatischen Untersuchungen sollten in einem ersten Arbeitsschritt die einzelnen Vogelkirschenklone genetisch beschrieben werden, um dann später eine vollständige genetische Überprüfung aller auf den beiden Samenplantagenflächen ausgepflanzten Pflöpfunglinge vorzunehmen.

Für die Untersuchungen wurden aus dem Vegetationskegel der Blattruheknospen eines jeden Baums verschiedene Enzyme mit ihren multiplen molekularen Formen, den sog. „Isoenzymen“, extrahiert. Unter Anwendung des Verfahrens der Stärkegelelektrophorese wurden diese nachfolgend voneinander getrennt und anschließend mittels enzylspezifischer histochemischer Nachweisreaktionen sichtbar gemacht (Einzelheiten hierzu siehe z.B. bei WENDEL & WEEDEN 1989).

2.2.1 Exkurs zur Methodik

Die bleibende Veränderung der genetischen Information bezeichnet man als Mutation, die aus der Sicht der Evolution ein innovativer Prozess ist. Als Folge von Genmutationen können von einem jeden Genort zwei strukturell verschiedene Molekülformen eines Enzyms ausgeprägt werden, welche man als „Isoenzyme“ (bzw. korrekterweise als „Allozyme“) bezeichnet.

Ein Isoenzymmolekül, das mit einer speziellen Extraktionslösung aus seinem natürlichen Milieu in der Pflanzenzelle herausgelöst worden ist, besitzt infolge seiner spezifischen Aminosäuresequenz in Abhängigkeit vom pH-Wert, d.h. dem Säuregrad der es umgebenden Lösung eine bestimmte elektrische Ladung an seiner Oberfläche („Nettoladung“). Es ist also ein elektrischer Ladungsträger und kann in einem elektrischen Feld bei Gleichstrom in Richtung seines Gegenpols wandern. Die Größe der Nettoladung bestimmt seine spezifische Wanderungsgeschwindigkeit in einem elektrischen Feld. Unterscheiden sich Isoenzyme in ihrer jeweiligen Nettoladung, so lassen sie sich im elektrischen Feld voneinander trennen. Das experimentelle Verfahren zur Trennung von Isoenzymen nennt man Elektrophorese. Das Trennmedium, in dem sich die Isoenzyme bewegen, besteht in klassischer Weise aus einem Gel, dessen Porengröße die Beweglichkeit der Isoenzymmoleküle in Abhängigkeit ihrer Größe beeinflusst (sog. Molekularsiebeffekt).

Traditionell spielt das Stärkegel in der Forstgenetik als Trennmedium bei der Elektrophorese eine herausragende Rolle. Mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese lassen sich also Isoenzyme aufgrund ihrer unterschiedlichen Nettoladung sowie auch zum gewissen Teil ihrer Molekülgröße auftrennen.

Die eigentliche Identifizierung der Isoenzyme nach der elektrophoretischen Trennung erfolgt durch enzymespezifische Färbereaktionen, die charakteristische sichtbare Bandenmuster, auch „Zymogramme“ genannt, im Stärkegel für jedes Enzymsystem erzeugen. Jedes Zymogramm stellt zunächst nur den individuellen Isoenzymphänotyp dar, nicht aber den Isoenzymgenotyp; letzteres muss erst noch durch besondere Verfahren der genetischen Analyse festgestellt werden (siehe unten). Für die Beschreibung von Klonmaterial sind jedoch phänotypisch unterscheidbare Isoenzym-Bandenmuster völlig ausreichend. Ohne deren genetische Interpretation, d.h. der Bestimmung der eigentlichen genotypischen Strukturen, lassen sich jedoch keine Aussagen zu genetischer Vielfalt und Variation von Klonegemischen oder Populationen machen.

2.2.2 Exkurs zur genetischen Analyse sowie zur Interpretation von Isoenzym-Bandenmustern

Zur Interpretation der Isoenzym-Bandenmuster ist eine sog. genetische Analyse auf der Grundlage des Vererbungsmodus erforderlich. Hierzu wurden zunächst Hypothesen zur Anzahl der kodierenden Genloci und der Varianten an den Genorten („Allele“) formuliert und überprüft (KOWNATZKI 2001; Daten hier nicht wiedergegeben).

Eine wichtige Voraussetzung ist auch die Kenntnis des molekularen Aufbaus eines Enzyms, da sich dieser im Bandenmuster nach der Gelelektrophorese widerspiegelt. Besteht ein Enzym aus einer Eiweißkette, wird dieses als „monomer“ bezeichnet; setzt es sich aus zwei Eiweißketten, die zumeist identisch sind, zusammen, als „dimer“. Die meisten Enzyme, die bei der Isoenzymanalyse untersucht werden, haben eine monomere bzw. eine dimere räumliche Molekularstruktur, es gibt aber auch einige tetramere (mit 4 Eiweißketten) und noch höherere Enzyme.

Die somatischen Gewebe sind bei höheren Pflanzen mit ganz wenig Ausnahmen diploid, d.h. an jedem Genlocus eines Enzyms sind demzufolge jeweils zwei als Allele bezeichnete Strukturelemente vorhanden.

Aus der Kenntnis sämtlicher Isoenzym-Bandenmuster wird jeder Zone in den Zymogrammen ein kodierender Genort (*syn.* Genlocus) zugeordnet, der letztlich die genetische Information für die Bildung eines spezifischen Isoenzym enthält. In Abhängigkeit von ihrer Lage im Stärkegel und beginnend bei „A“ für die weiteste Laufstrecke werden die Genloci entsprechend einer internationalen Konvention mit Großbuchstaben fortlaufend bezeichnet.

| | homozygot | heterozygot | homozygot |
|----------------|------------|-------------|------------|
| monomer | — | — — | — |
| dimer | — | — — — | — |
| Genotyp | 1 1 | 1 2 | 2 2 |

Abb. 2: Schematische Darstellung der Zymogramme von homozygoten bzw. heterozygoten Genotypen an einem hypothetischen Genort A.

Fig. 2: Schematic illustration of zymograms of homozygous and heterozygous genotypes of a hypothetical gene locus A.

Innerhalb der Zonen wiederum erhalten die durch die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit verschieden weit gewanderten Banden eine entsprechende

Nummerierung. Beginnend mit 1 für das schnellste Band erhält das jeweils nächstlangsamere die fortlaufende Nummerierung 2, 3, etc. (siehe Abb. 2).

Die korrekte Bezeichnung eines Genotyps erfolgt durch Nennung der beiden Bandennummern. Um bei mehreren Genloci eines Enzymsystems die Genotypen mit identischer Bezeichnung unterscheiden zu können, wird bei jedem Band zunächst die zugehörige Zone und in deren Index die Bandennummer genannt (z.B. A₁A₂, B₃B₃). Sind diese in ihrer Struktur und Wanderungsgeschwindigkeit identisch, spricht man von homozygoten Genotypen, weisen diese Unterschiede auf, dann ist der Genotyp heterozygot. In Abb.2 sind die homozygoten und heterozygoten Genotypen am Beispiel eines hypothetischen Genorts A schematisch dargestellt.

Wegen der Vielzahl der Enzyme werden diese nach den Empfehlungen des „Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry“ (ANONYMUS 1979a) zur eindeutigen Unterscheidung entsprechend ihrer biokatalytischen Funktion in Klassen eingeteilt und mit sog. Enzym-Klassifizierungsnummern, EC-Nr.) bezeichnet.

Tab. 1: Übersicht über die bei den Vogelkirschklonen analysierten Enzymsysteme mit Genorten sowie Angaben zur Quartärstruktur und Bandenmustertypen.

An overview of the enzyme systems and gene loci analyzed for the wild cherry clones as well as details on the quaternary structure and banding types.

| Enzym | Abk. | EC-Nr. | Genort | Quartärstruktur | Bandenmuster |
|---------------------------------|-------|-----------|---------------|-----------------|---|
| Aconitase | ACO | 4.2.1.3 | ACO-A, -B | monomer | Genort homozygot: <i>Einfachbande</i> |
| Leucinaminopeptidase | (L)AP | 3.4.11.1 | AP-A | | |
| Phosphoglucomutase | PGM | 2.7.5.11. | PGM-A, -B | | |
| Polyphenoloxidase | PPO | 1.10.3.2 | PPO-A | | Genort heterozygot: <i>Doppelbande</i> |
| Shikimatdehydrogenase | SKDH | 1.1.25 | SKD-A, -B | dimer | Genort homozygot: <i>Einfachbande</i> |
| Isocitratdehydrogenase | IDH | 1.1.1.42 | IDH-A, -B | | |
| Glutamatoxalacetat-transaminase | GOT | 2.6.1.1 | GOT-A, -B, -C | | |
| Malatdehydrogenase | MDH | 1.1.1.37 | MDH-A, -B | | Genort heterozygot: <i>Dreifachbande</i> |
| 6-Phosphogluconatdehydrogenase | 6PGDH | 1.1.1.44 | 6-PG-A, -B | | |
| Phosphoglucoseisomerase | PGI | 5.3.1.9 | PGI-A, -B | | |

In der Tab. 1 sind die bei der vorliegenden Untersuchung analysierten Enzymsysteme mit ihren gebräuchlichen Abkürzungen und den EC-Nummern sowie die kodierenden Genloci

aufgeführt. Zudem sind die Quartärstruktur sowie die daraus resultierenden Bandenmustertypen angegeben. Die Dreierbande, die beim heterozygoten Genotyp auftritt, besteht aus den beiden Einzelbanden der homozygoten Genotypen sowie einer sog. Hybridbande, die im Zymogramm optisch zwischen den Einzelbanden zu liegen kommt. Sie setzt sich aus je einer Eiweißkette der korrespondierenden Einzelbanden zusammen und nimmt hinsichtlich ihres elektrophoretischen Wanderungsverhaltens im Gel eine intermediäre Stellung ein. Solche Hybridbanden werden jedoch nicht beziffert.

3 Ergebnisse

3.1 Darstellung der Zymogramme

In Abb.3 sind alle bei Vogelkirsche soweit nachgewiesenen Isoenzym-Bandenmuster der zehn untersuchten Enzymsysteme schematisch wiedergegeben, für die das untersuchte Klonmaterial der beiden Vogelkirschen-Samenplantagen genetische Variation besitzt, d.h. es wurden mindestens zwei unterschiedliche Genotypen am jeweiligen Enzymgenort nachgewiesen. Mit Ausnahme des Enzymsystems PPO sind in allen Zymogrammen neben dem variablen Enzymgenlocus auch eine oder mehrere invariable Zonen dargestellt, die nur für die Bezeichnung der Zonen innerhalb der Zymogramme eine Rolle spielen; diese sind mit „A“ oder „B“ gekennzeichnet.

Im folgenden werden die untersuchten Enzymsysteme anhand der Abb. 3 erläutert.

- IDH:** Während die obere A-Zone des dimeren Enzymsystems IDH nicht variiert, finden sich in der B-Zone (**IDH-B**) zwei allelische Varianten, welche die drei dargestellten Genotypen B_1B_1 , B_1B_2 und B_2B_2 kodieren.
- 6PGDH:** Das ebenfalls dimere Enzymsystem 6PGDH weist zwei Zonen auf, von denen nur die A-Zone (**6PG-A**) mit zwei Allelen variabel ist. Im untersuchten Klonmaterial lassen sich die drei Genotypen A_1A_1 , A_1A_2 und A_2A_2 nachweisen.
- ACO:** Das monomere Enzymsystem ACO besitzt in der B-Zone (**ACO-B**) zwei Allele, die wie bei IDH-B die drei Genotypen B_1B_1 , B_1B_2 und B_2B_2 erzeugen.
- GOT:** In der C-Zone (**GOT-C**) des dimeren Enzymsystems GOT sind Drei- und Fünffachbanden nachweisbar, die nicht den in Abb.1 wiedergegebenen Mustern homozygoter bzw. heterozygoter Genotypen entsprechen. Es handelt sich hier vielmehr um zwei streng gekoppelte (d.h. streng miteinander verbundene) Genloci mit sog. Interlocushybridbanden, die sich wie ein einziger Genlocus darstellen. Die Dreifachbanden unterschiedlicher Lage entsprechen daher den homozygoten Genotypen C_1C_1 bzw. C_2C_2 und das Fünferbandmuster dem heterozygoten Genotyp C_1C_2 .

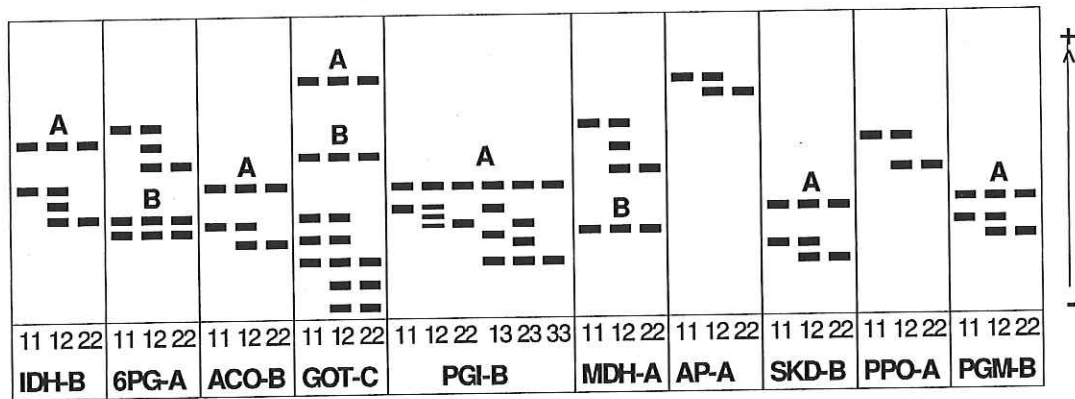


Abb. 3: Schematische Darstellung der Isoenzym-Bandenmuster aller untersuchten Enzymsysteme.

Fig. 3: Schematic illustration of the isozyme banding patterns found for the enzyme systems analyzed.

- PGI:** Die A-Zone des dimeren Enzymsystems PGI ist ohne Variation. Dagegen sind drei unterschiedliche Allele in der B-Zone (**PGI-B**) nachweisbar, die hypothetisch sechs verschiedene Genotypen kodieren. Von diesen ließen sich im Untersuchungsmaterial die fünf Genotypen B_1B_1 , B_1B_2 , B_2B_2 , B_1B_3 und B_2B_3 wiederfinden. Der Genotyp B_3B_3 , der bei der Vogelkirsche als sehr selten eingestuft wird (KOWNATZKI 2001), konnte bei diesen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden.
- MDH:** Das dimere Enzymsystem MDH weist zwei Zonen auf, von denen nur die A-Zone (**MDH-A**) mit zwei Allelen variabel ist. Im untersuchten Klonmaterial lassen sich die drei Genotypen A_1A_1 , A_1A_2 und A_2A_2 nachweisen.
- (L)AP:** Beim monomeren Enzymsystem LAP variiert die A-Zone (**AP-A**) mit zwei Allelen, die in den untersuchten Vogelkirschklonen nur mit den beiden Genotypen A_2A_2 und A_1A_2 ausgeprägt sind. Der ebenfalls mögliche Genotyp A_1A_1 wurde nicht gefunden.
- SKD:** Das monomere Enzymsystem SKDH besitzt in der B-Zone (**SKD-B**) zwei Allele, welche die drei Genotypen B_1B_1 , B_1B_2 und B_2B_2 erzeugen.
- PPO:** Ähnlich wie beim Enzymsystem (L)AP ließen sich beim Enzym PPO (**PPO-A**) nur zwei der drei möglichen Genotypen nachweisen, im Untersuchungsmaterial kommt der Genotyp A_2A_2 nicht vor.
- PGM:** Das monomere Enzymsystem PGM besitzt in der B-Zone (**PGM-B**) zwei Allele. Es kommen die beiden Genotypen B_2B_2 und B_1B_2 vor, wogegen bei dieser Untersuchung der allgemein seltene Genotyp B_1B_1 (KOWNATZKI 2001) jedoch nicht nachgewiesen werden konnte.

3.2 Betrachtung der Häufigkeitsverteilung der Genotypen an den einzelnen untersuchten Enzym-Genloci

In Tab. 2 sind die absoluten und relativen Genotyphäufigkeiten für die zehn untersuchten Enzym-Genloci, getrennt für die beiden Vogelkirschen-Samenplantagen Lauterecken und Saarburg, aufgelistet.

Tab. 2: Absolute (obere Zeilenwerte, fett), und relative (untere Zeilenwerte) Genotyphäufigkeiten der verschiedenen untersuchten Enzym-Genloci der Vogelkirschkclone in den beiden Erhaltungsklonsamenplantagen (N, Anzahl der Klone).

Absolute (upper value in the line, bold letters) and relative (lower value in the line) genotype frequencies of the different enzyme gene loci under study as found in the wild cherry clones growing in the two conservation seed orchards (N, number of the clones).

| Erhaltungsklonsamenplantage | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----|-------------------|
| Lauterecken (N = 147) | | | | | | Saarburg (N = 92) | | | | |
| Genotyp | 1 1 | 1 2 | 2 2 | 1 3 | 2 3 | 1 1 | 1 2 | 2 2 | 1 3 | 2 3 |
| IDH-B | 47 0.320 | 25 0.170 | 75 0.510 | | | 30 0.326 | 12 0.130 | 50 0.544 | | |
| 6PGDH-A | 81 0.551 | 58 0.395 | 8 0.054 | | | 47 0.511 | 32 0.348 | 13 0.141 | | |
| ACO-B | 104 0.708 | 40 0.272 | 3 0.020 | | | 45 0.490 | 35 0.380 | 12 0.130 | | |
| GOT-C | 3 0.020 | 26 0.177 | 118 0.803 | | | 3 0.032 | 34 0.370 | 55 0.598 | | |
| PGI-A | 1 0.007 | 21 0.143 | 114 0.775 | 1 0.007 | 10 0.068 | 82 0.0891 | 9 0.098 | | | 1 0.011 |
| MDH-A | 122 0.830 | 22 0.150 | 3 0.020 | | | 69 0.750 | 23 0.250 | | | |
| LAP-A | | 6 0.041 | 141 0.959 | | | | 18 0.196 | 74 0.804 | | |
| SKDH-B | 132 0.898 | 12 0.082 | 3 0.020 | | | 90 0.978 | 2 0.022 | | | |
| PPO-A | 133 0.905 | 14 0.095 | | | | 92 1.0 | | | | |
| PGM-B | | 3 0.020 | 144 0.980 | | | | | 92 1.0 | | |

In der Samenplantage Saarburg variieren die Enzym-Genloci PPO-A und PGM-B nicht. Die seltenen Genotypen A_1A_2 bzw. B_1B_2 der Enzym-Genloci PPO-A und PGM-B sind nur in der Samenplantage Lauterecken nachweisbar. Maximal ließen sich fünf unterschiedliche Genotypen am Enzymgenlocus PGI-B auf der Samenplantage Lauterecken identifizieren. Die beiden Genotypen B_1B_1 und B_1B_3 treten insgesamt nur einmal (unikat) auf und sind daher direkt für die eindeutige Identifikation von Klonen verwendbar, während der Genotyp B_1B_2 , welcher zwar in der Samenplantage Saarburg nur einmal auftritt, im Untersuchungskollektiv

der beiden Samenplantagen aber insgesamt elf Mal vorhanden ist. Die Genotypen A_2A_2 bzw. B_2B_2 der beiden Enzym-Genloci MDH-A und SKD-B sind ebenfalls nur auf der Plantage Lauterecken präsent.

Insgesamt prägen 25 Klone der Erhaltungssamenplantage Lauterecken (d.h. 17% der Klone des Untersuchungskollektivs) Genotypen aus, die in der Samenplantage Saarburg nicht vorhanden sind und sich somit der Gruppe der Tieflagenklone zuordnen lassen. Diese sind (1) PGI-B mit B_1B_3 und B_1B_1 ; (2) MDH-A mit A_2A_2 ; (3) SKD-B mit B_2B_2 ; (4) PPO-A mit A_1A_2 sowie (5) PGM-B mit B_1B_2 . Muster, die spezifisch für die Hochlagenklone sind, konnten nicht nachgewiesen werden.

Für eine eindeutige Klonbeschreibung ist in der vorliegenden Untersuchung die Betrachtung ausschließlich von individuellen Enzym-Genorten wegen ihrer insgesamt geringen Variation mit nur zwei bis fünf Genotypen je Genort nicht vollständig ausreichend. Daher erfolgte die Charakterisierung eines jeden Klons auf der Basis des sog. „Multilocusgenotyps“, d.h. einer simultanen Betrachtung aller identifizierten Enzym-Genloci eines jeden Individuums.

Unabhängig von der vorliegenden genetischen Struktur und den damit verbundenen Häufigkeiten lässt sich bei zehn Enzymgenlocus mit jeweils drei Genotypen (d.h. der Kombination von zwei Allelen) theoretisch eine potentielle genotypische Vielfalt M_2 von $3^{10} = 59.049$ denkbarer Multilocusgenotypen errechnen (HATTEMER et al. 1993). Tatsächlich realisiert sind bei der vorliegenden Betrachtung der beiden Vogelkirschen-Samenplantagen als Gesamtpopulation nur 122 Multilocusgenotypen, wie dies in Tab. 2 dargestellt ist. Unter diesen sind 89 Multilocusgenotypen, die jeweils nur einmal (d.h. unikat) im Gesamtkollektiv vorkommen (vgl. hierzu Tab. 5 in Anhang II).

Unabhängig von der vorliegenden genetischen Struktur und den damit verbundenen Häufigkeiten lässt sich bei zehn Enzym-Genloci mit jeweils drei Genotypen (d.h. der Kombination von zwei Allelen) theoretisch eine potentielle genotypische Vielfalt M_2 von $3^{10} = 59\,049$ denkbarer Multilocusgenotypen errechnen (HATTEMER et al. 1993). Tatsächlich realisiert sind bei der vorliegenden Betrachtung der beiden Vogelkirschen-Samenplantagen als Gesamtpopulation 122 Multilocusgenotypen, wie dies in Tab. 3 dargestellt ist. Unter diesen sind 89 Multilocusgenotypen, die nur einmal (d.h. unikat) im Gesamtkollektiv vorkommen.

Von den 89 unikatigen Multilocusgenotypen lassen sich 51 den Tieflagenklonen der Samenplantage Lauterecken und 38 den aus höheren Lagen stammenden Klonen in der Samenplantage Saarburg zuordnen. Im Klonkollektiv Lauterecken sind noch weitere zehn tieflagenspezifische Multilocusgenotypen mit absoluten Häufigkeiten zwischen 2 und 5 vorhanden.

Tab. 3: Verteilung der Multilocusgenotypen nach ihren absoluten Häufigkeiten in den beiden Wildkirschen-Erhaltungssamenplantagen als eine Gesamteinheit (linke Tabellenhälfte) sowie als zwei getrennte Kollektive (rechte Tabellenhälfte).

Distribution of multilocus genotypes classified according to their absolute frequencies in the two wild cherry seed orchards and presented as a pooled unit (left section of the table) and as two distinct collectives (right section of the table).

| absolute Häufigkeit eines ML-Genotyps | Anzahl der Multilocus(ML)-Genotypen | | | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|---|--|-----------------------|-------------------|
| | gesamt (N = 239) | | | Lauterecken (N = 147) | Saarburg (N = 92) |
| | Lauterecken (N = 76) | davon ausschließlich in Saarburg (N = 57) | davon beiden Kollektiven gemeinsam (N = 106) | | |
| 1 | 89 | 51 | 38 | 58 | 45 |
| 2 | 12 | 7 | 1 | 4 | 11 |
| 3 | 7 | 2 | 1 | 4 | 3 |
| 4 | 5 | | 2 | 3 | 2 |
| 5 | 2 | 1 | | 1 | 2 |
| 6 | 1 | | 1 | | 1 |
| 8 | 1 | | | 1 | 1 |
| 9 | 1 | | | 1 | 1 |
| 10 | | | | 1 | |
| 11 | 1 | | | 1 | 1 |
| 12 | 1 | | | 1 | |
| 13 | 1 | | | 1 | 1 |
| 16 | 1 | | | 1 | |
| Summe | 122 | 61 | 43 | 18 | 79 |

Dem stehen fünf Multilocusgenotypen im Klonkollektiv Saarburg gegenüber, die mit absoluten Häufigkeiten zwischen zwei und sechs nur in Klonen aus höheren Lagen nachgewiesen wurden. Für eine Differenzierung zwischen Tief- und Hochlagenklonen stehen somit insgesamt 104 Multilocusgenotypen (61 in Lauterecken und 43 in Saarburg) zur Verfügung, die durch 133 Individuen repräsentiert werden. In beiden Erhaltungsklonsamenplantagen sind 18 Multilocusgenotypen identisch, die in 106 Individuen nachgewiesen wurden und die sich somit nicht für eine Differenzierung nach der Höhenlage einsetzen lassen.

Werden die Erhaltungssamenplantagen Lauterecken und Saarburg als zwei getrennte Klonkollektive betrachtet, so lassen sich in Lauterecken (N = 147) 79 Multilocusgenotypen, davon 58 mit der Häufigkeit 1, und in Saarburg (N = 92) 61 Multilocusgenotypen, davon 43 einmalige nachweisen. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv ergibt sich somit nach der Trennung eine höhere Anzahl eindeutig identifizierbarer Multilocusgenotypen innerhalb der Kollektive.

4 Diskussion

Die Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) ist in Rheinland-Pfalz trotz ihrer interspezifischen Konkurrenzschwäche auf einer Vielzahl von unterschiedlichen Standorten und Höhenlagen vorhanden. Da sie fast ausschließlich in Mischung in einem Grundbestand meist von Eiche oder Buche vorkommt und kaum einen Baumartenanteil von mehr als 15% einnimmt, kann sie zu den selteneren Baumarten gezählt werden. Eine eigenständige Verjüngung ist nur in wenigen Fällen als gesichert anzusehen. Ob sich die Vogelkirsche ohne stützende Maßnahmen in der nächsten Waldgeneration einfinden wird, erscheint eher fraglich. Spezielle Erhaltungsprogramme (MELCHIOR et al. 1989; BEHM et al. 1997; WEISGERBER 1998; PAUL et al 2000) sollen dazu dienen, den Bestand aller Baumarten in Abhängigkeit von deren spezifischem Gefährdungspotential zu sichern. Auf die in heutigen Wirtschaftswäldern vorhandenen konkurrenzschwächeren Mischbaumarten richtet sich hierbei ein besonderer Augenmerk. Soweit die Verjüngung dieser Baumarten für die Waldfolgegeneration vor Ort nicht gesichert ist, sind steuernde Maßnahmen erforderlich.

So stufen MELCHIOR et al. (1989) die Vogelkirsche, die zu diesem Zeitpunkt noch nicht dem FSaatG (ANONYMUS 1979b) unterlag, jedoch forstliche Bedeutung besitzt, hinsichtlich ihrer Dringlichkeit für Erhaltungsmaßnahmen zwar mit geringer Priorität ein, wenngleich die Autoren eine solche in absehbarer Zeit jedoch für notwendig erachten.

Da mit der steten Verringerung der vorhandenen Vogelkirschen durch Nutzung oder natürliches Absterben neben dem Verlust an genetischer Variation auch der mögliche Untergang einer wirtschaftlich wertvollen Mischbaumart einhergehen könnte, wurden in Rheinland-Pfalz vorausschauend zwei Generhaltungssamenplantagen der Vogelkirsche als Klonsamenplantagen angelegt. Sie dienen in erster Linie der Generhaltung und sollen mit Erreichen ihres Fruktifikationsalters langfristig zur Samenproduktion genutzt werden. Nachzuchten aus Saatgut von Klonsamenplantagen, die mit einer geringen Klonzahl (siehe auch GREGORIUS 1983) begründet wurden, stellen eine genetische Einengung gegenüber Naturverjüngung oder Saat und Pflanzung dar, so dass dieses Material nicht für großflächige Aufforstungen verwendet werden sollte (MELCHIOR et al. 1989). Bei der Vogelkirsche, die als Mischbaumart überwiegend in geringer Dichte vorhanden ist, stellt der Hauptbestand ein Reproduktionshindernis dar. Die Kombination vormals isolierter Vorkommen in speziellen Erhaltungsamenplantagen restauriert daher vielfach den unterbrochenen Paarungskontakt zwischen den vereinzelt Populationen. Somit trägt dies zur Sicherung der vorhandenen genetischen Vielfalt der Vogelkirsche auch bei der Saatgutproduktion bei. Die Verbreitung der Vogelkirsche auf unterschiedlichen Standorten und Höhenlagen in Rheinland-Pfalz lässt eine spezifische Anpassung an die diversen Standortsbedingungen vermuten. Diese Anpassung spiegeln auch die 122 verschiedenen Multilocusgenotypen wieder.

Mit den derzeit verfügbaren Isoenzym-Genmarkern ist es soweit nicht abschließend gelungen, jeden einzelnen Vogelkirsch-Klon in den beiden Erhaltungsklonsamenplantagen mit sehr hoher Sicherheit genetisch eindeutig zu charakterisieren. Berücksichtigt man jedoch, dass sich die Vogelkirsche auch aus Wurzelbrut regenerieren kann und demzufolge einzelne Trupps in einem Bestand aus einem Ausgangsindividuum entstanden sein können, so kann es bei der Auswahl der zu erhaltenden Vogelkirschen zur vermehrten Auswahl genetisch identischer Klone kommen. FERNANDEZ et al. (1996) weisen mit Hilfe biochemisch-genetischer Methoden nach, dass so geartete Wurzelbruttrupps der Vogelkirsche mit gleicher Abstammung eine Ausdehnung im Durchmesser von bis zu 100 Metern haben können. Ehemalige Mittel- und Niederwälder stellten Refugien für die Vogelkirsche dar, da sie mit ihrer vegetativen Potenz und ihrem ausgeprägten Lichtwuchsverhalten dauerhaft in der Lage war, mit der Stockausschlagswirtschaft zu leben.

Für die in Rheinland-Pfalz zur Etablierung der beiden Samenplantagenflächen selektierten Vogelkirschen ist zwar der Standort des Ausgangsmaterials teilweise bis zur Unterfläche dokumentiert, jedoch sind nur in wenigen Fällen, in denen mehrere Vogelkirschen einer Untereinheit ausgewählt wurden, Entfernungsangaben zwischen den selektierten Einzelbäumen festgehalten worden. Auf der Basis der vorhandenen Angaben konnten insgesamt 19 Gruppen zu zwei bis vier Bäumen mit jeweils identischen Multilocusgenotypen rekonstruiert werden. Für sieben dieser Gruppen wurden Baumabstände von weniger als 15 m dokumentiert. Daraus ergeben sich deutliche Hinweise auf eine mögliche Abstammung aus Wurzelbrut unter diesen selektierten Vogelkirsch-Klonen. Die tatsächliche Anzahl der mittels isoenzymatischer Charakterisierung zu identifizierenden Einzelklone ist demzufolge vermutlich geringer als deren Gesamtzahl von 239. Die Anzahl von 122 identifizierten Multilocusgenotypen bilden somit die untere Grenze einer Schätzung der tatsächlichen vorhandenen Anzahl an Einzelklonen, die aus den o.a. Gründen derzeit nicht exakt zu ermitteln ist. Bei Verwendung zusätzlicher, allerdings für die praktische Anwendung noch zu entwickelnder Enzymsysteme mit zumindest jeweils einem variablen Genort lässt sich erfahrungsgemäß eine weitere Differenzierung der scheinbar genetisch identischen Bäume erreichen. Darüber hinaus lassen sich für eine weitere Unterscheidung innerhalb dieser Gruppen ergänzend Merkmale wie Frucht- oder Herbstblattfarbe (siehe auch KOWNATZKI 2001) nutzen, soweit deren Ausprägung umweltstabil ist.

Gegenüber der einzelloocusweise vorgenommenen Bewertung ergibt die Multilocusbetrachtung eine deutliche Verbesserung der Aussagerelevanz bezüglich einer differenzierenden Klonzugehörigkeit. Auf dieser Basis ist zum einen eine Überprüfung aller vorhandenen mutmaßlichen Abkömmlinge eines jeden Klons in den Erhaltungsklonsamenplantagen, zum anderen ein Vergleich mit dem noch existierenden Ausgangsmaterial in den Fällen möglich, in denen eine eindeutig differenzierende Charakterisierung von Einzelklonen bereits vorliegt. Diese Bedingung erfüllen 89 von 122 Multilocustypen für beide Erhaltungsklonsamen-

plantagen zusammen und bei separater Betrachtung der Kollektive insgesamt 103 Klone. Mit den Ergebnissen einer Teilüberprüfung unter Verwendung dieser Information lassen sich zumindest vorhandene Fehlerquellen für das Gesamtkollektiv abschätzen.

Danksagung

Die Arbeiten wurden durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Georg-August-Universität Göttingen „Klonbeschreibung und -identifizierung bei Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern: 1. Feststellung vorhandener Variation in Klonsammlungen und 2. Prüfung der genetischen Differenzierung nach Höhenlage“ finanziell gefördert. Weiterhin sei der Baumschule A. Hüttner in Altenweddingen für die Freistellung von Dierk Kownatzki zur Durchführung der hier vorgestellten Arbeiten gedankt.

5 Literatur

ANONYMUS (1979a): Enzyme Nomenclature. Recommendations (1978) of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry. Academic Press New York, San Francisco, London, 606 pages.

ANONYMUS (1979b): Gesetz über forstliches Saat- und Pflanzgut (FSaatG). Bundesgesetzblatt Teil I, Nr. 47, S.1242-1262; zuletzt geändert durch Gesetz vom 28.06.1990 (BGBl I, S.1221).

ANONYMUS (1987): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 1/87, Jahresbericht 1984-86, S.20ff.

ANONYMUS (1988): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 6/88, Jahresbericht 1988, S.36.

ANONYMUS (1989): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 9/89, Jahresbericht 1988, S.37ff.

ANONYMUS (1990): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 12/90, Jahresbericht 1989, S.49ff.

ANONYMUS (1991): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 15/91, Jahresbericht 1990, S.22ff.

ANONYMUS (1992): *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 20/92, Jahresbericht 1991, S.32ff.

BAUMEISTER, G. (1965): Einige Ergebnisse zu Identifikationsuntersuchungen bei anerkannten *P. x canescens*-Klonen. *Die Holzzucht*, 19, S.30-36.

BEHM, A.; BECKER, A.; DÖRFLINGER, H.; FRANKE, A.; KLEINSCHMIT, J.; MELCHIOR, G.H.; MUHS, H.-J.; SCHMITT, H.P.; STEPHAN, B.R.; TABEL, U.; WEISGERBER, H. & WIDMAIER, TH. (1997): Concept for the conservation of forest genetic resources in the Federal Republic of Germany (revised version). *Silvae Genetica*, 46(1), pp.24-34.

BERGMANN, F. (1981): Unterscheidung von Pappelklonen mit Hilfe von Isoenzym-Mustern. *Die Holzzucht*, 35, S.24-27.

BERGMANN, F. (1991): Isozyme gene markers. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (eds.): Genetic variation of European populations of forest trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp.67-78.

- FERNANDEZ, R.; SANTI, F. & DUFOUR, J. (1996):** Ausgewähltes Vermehrungsgut der Vogelkirsche in Frankreich. *Allgemeine Forstzeitschrift / Der Wald*, 6, S.290-294.
- FRÖHLICH, H.J. & BAUMEISTER, G. (1963):** Methoden zur Identifizierung von *Leuce-Pappeln*. *Forstarchiv*, 34, S.245-252.
- FRÖHLICH, H.J.; BAUMEISTER, G.; LINDEMANN, W. & VAUPEL, E. (1964):** Identifikationsmerkmale von Pappeln der Sektion *Leuce*. Merkblatt 1, Forschungsinstitut für Pappelwirtschaft.
- GREGORIUS, H.-R. (1983):** Klonzahl in Samenplantagen und genetische Vielfalt. In: Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft. Verhandlungen der 2. Arbeitstagung 1982, Göttingen, S.58-62.
- HATTEMER, H.H. (1969):** Unterscheidung von Pappelklonen. *Silvae Genetica*, 18, S.167-172.
- HATTEMER, H.H.; BERGMANN, F. & ZIEHE, M. (1993):** Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft, 2. Aufl., J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, 492 Seiten.
- KOWNATZKI, D. (2001):** Asexuelle und sexuelle Reproduktion bei der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.). Dissertation der Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie der Georg-August-Universität Göttingen, 119 Seiten.
- MELCHIOR, G. H.; BECKER, A.; BEHM, A.; DÖRFLINGER, H.; KLEINSCHMIT, J.; MUHS, H.-J.; SCHMITT, H.-P.; STEPHAN, B.R.; TABEL, U.; WEISGERBER, H. & WIDMAIER, T. (1989):** Konzept zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland. *Forst und Holz*, 44(15), S.379-404.
- MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M. (1991):** Genetic variation in populations of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., and *Q. petraea* Liebl. in Germany. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE, (eds.): Genetic variation of European populations of forest trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp.125-140.
- PAUL, M.; HINRICHS, A.; JANSSEN, A.; SCHMITT, H.-P.; SOPPA, B.; STEPHAN, B.R. & DÖRFLINGER, H. (2000):** Konzept zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland (Neufassung 2000) (Sächsische Landesanstalt für Forsten Pirna, Hrsg.). ISBN 3-932967-25-9, 66 Seiten.
- WEISGERBER, H. (1998):** Das Konzept zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland, Stand der Arbeiten und Perspektiven nach zehn Jahren. *LÖBF-Mitteilungen*, 3, S.35-40.
- WENDEL, J.F. & WEEDEN, N.F. (1989):** Visualization and interpretation of plant isozymes. In: D.E. SOLTIS & P.S. SOLTIS (eds.): Isozymes in plant biology. *Advances in Plant Sciences Series*, vol. 4, Dioscorides Press, Portland (Oregon) USA, pp.5-45.

Anschriften der Autoren:

Dr. Dierk Kownatzki, Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität, Büsgenweg 2, D-37099 Göttingen

Dr. Werner D. Maurer, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenzüchtung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

6 Anhang I

Tab. 4: Übersicht über die Herkunft der Vogelkirsch-Mutterbäume, die in die beiden rheinland-pfälzischen Generhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg als Klone eingebracht wurden.

An overview of the origin of the wild cherry mother-trees transferred as grafted clones into the clonal gene conservation seed orchards Lauterecken and Saarburg.

Lauterecken

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|------------|---------------|-------------------|------------------------|
| 1 | Bellheim | Sondernheim | Heuweg | VI 13b ⁴ |
| 2 | | Sondernheim | Holländerschlag | VI 16b |
| 3 | | Sondernheim | Petersbach | VI 3b |
| 4 | Birkenfeld | Birkenfeld | | 3 b ² |
| 5 | | Birkenfeld | | 3 b ² |
| 6 | Hagenbach | Neuburg | Schlauch | XXX 3c ³ |
| 7 | | Neuburg | Schlauch | XXX 3c ³ |
| 8 | | Neuburg | Schlauch | XXX 3c ³ |
| 9 | | Neuburg | Schlauch | XXX 3c ³ |
| 10 | | Neuburg | Breitwiese | XXXI 1b ^{2/3} |
| 11 | | Neuburg | Breitwiese | XXXI 1b ^{2/3} |
| 12 | | Neuburg | Breitwiese | XXXI 1b ^{2/3} |
| 13 | Irrel | Niederweis | Odendell | 401a |
| 14 | | Dockendorf | Ingbach | 3a |
| 15 | | Dockendorf | Ingbach | 3a |
| 16 | | Dockendorf | Großbüsch | 4 |
| 17 | | Ernsen | Im Bus, Im Panz | 3a ¹ |
| 18 | Kandel | Maximiliansau | Affelderle-Ost | XXVII 1b |
| 19 | | Maximiliansau | Affelderle-Ost | XXVII 1b |
| 20 | | Maximiliansau | Affelderle-Ost | XXVII 1b |
| 21 | | Maximiliansau | Affelderle-Ost | XXVII 1b |
| 22 | | Maximiliansau | Affelderle | XXVII 2b ¹ |
| 23 | | Wörth | Eschensuppe | VIII 5c ¹ |
| 24 | Kasel | Trier - Euren | | 3 |
| 25 | | Trier - Staat | Am Römersprudel | 8a ¹ |
| 26 | | Trier - Staat | Am Römersprudel | 8a ¹ |
| 27 | | Trier - Euren | Geisheck | 9c |
| 28 | | Trier - Euren | Geisheck | 9c |
| 29 | | Trier - Euren | Geisheck | 9a ² |
| 30 | | Trier - Euren | Am Mohrenkopf | 12 |
| 31 | | Trier - Euren | | ? |
| 32 | | Welschbillig | Gem. Welschbillig | 63c ¹ |
| 33 | | Welschbillig | Gem. Welschbillig | 68b ¹ |
| 34 | | Welschbillig | Gem. Welschbillig | 14a |

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand | |
|----------|---------------|------------------|--------------------|---------------------|-----|
| 35 | Kasel | Welschbillig | Gem. Welschbillig | 36c ² | |
| 36 | (Fortsetzung) | Welschbillig | Gem. Welschbillig | 36c ² | |
| 37 | Kusel | Bosenbach | Schlaggraben | IX 1a ² | |
| 38 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 39 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 40 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 41 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 42 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 43 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 44 | | Bosenbach | Staubusch | I 1c ² | |
| 45 | | Bosenbach | Wittelsborn | I 4 ² | |
| 46 | | Bosenbach | Wittelsborn | I 4 ² | |
| 47 | | Glan-Münchweiler | Buchwald | VII a ³ | |
| 48 | | Glan-Münchweiler | Buchwald | VII a ³ | |
| 49 | | Glan-Münchweiler | Lochwäldchen | VIII | |
| 50 | | Glan-Münchweiler | Köpfchen | VII 3a ³ | |
| 51 | | Glan-Münchweiler | Köpfchen | VII 3a ² | |
| 52 | | Glan-Münchweiler | Köpfchen | VII 3a ² | |
| 53 | | Kusel | Felsenroth | II a ² | |
| 54 | | Kusel | Felsenroth | II a ² | |
| 55 | | Altenglan | Herrmanns Forst | II b ¹ | |
| 56 | | Altenglan | Horst | VI | |
| 57 | | Altenglan | Horst | VI | |
| 58 | | Altenglan | Gimbsweiler Löcher | II 4 | |
| 59 | | Saarburg | Nittel | | 12b |
| 60 | | | Nittel | | 12b |
| 61 | | | Nittel | | 12b |
| 62 | | | Nittel | | 12b |
| 63 | | | Nittel | | 12b |
| 64 | | | Nittel | | 12b |
| 65 | Nittel | | | 12b | |
| 66 | Nittel | | | 12a ² | |
| 67 | Palzem | | | 20a | |
| 68 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 69 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 70 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 71 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 72 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 73 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 74 | Palzem | | Wittholz | 3 | |
| 75 | Palzem | | Wittholz | 3 | |

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|---------------------|-------------|-----------------|--------------------|
| 76 | Saarburg | Palzem | Wittholz | 3 |
| 77 | | Trassem | An den Teichen | 2 |
| 78 | | Trassem | An den Teichen | 2 |
| 79 | | Nittel | Lumbüsch | 11 |
| 80 | Wittlich (-West) | Haardt | | 17a |
| 81 | | Failz | Franzosenschlag | 114a |
| 82 | | Failz | Bruderbach | 118b ² |
| 83 | | Failz | Bruderbach | 118b ² |
| 84 | Zweibrücken | Ixheim | Wüstheckerklamm | IV |
| 85 | | Ixheim | Wüstheckerklamm | IV |
| 86 | | Ixheim | Wüstheckerklamm | IV |
| 87 | | Bechhofen | Schlagberg | I 7a ² |
| 88 | | Bechhofen | Schlagberg | I 7a ² |
| 89 | | Bechhofen | Schlagberg | I 7a ² |
| 90 | | Bechhofen | Schlagberg | I 7a ² |
| 91 | | Ixheim | Immenheck | XV 11 |
| 92 | | Ixheim | Immenheck | XV 11 |
| 93 | | Ixheim | Immenheck | XV 11 |
| 94 | | Ixheim | Immenheck | XV |
| 95 | | Ixheim | Immenheck | XV 11 |
| 96 | | Ixheim | Stürzenbirken | XXXIX 4 |
| 97 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 98 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 99 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 100 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 101 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 102 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 103 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 104 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 105 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 106 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 107 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 108 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 109 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 110 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 111 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 112 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 113 | | Hornbach | Silters | V |
| 114 | | Hornbach | Sitters | V |
| 115 | | Ixheim | Immeneck | XV 11- |

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|----------|-----------------|-----------------|--------------------|
| 116 | | Ixheim | Immeneck | XV 11- |
| 117 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 118 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 119 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 120 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 121 | | Hornbach | Hohlbacher Hang | IX 1a ² |
| 122 | | Hornbach | Gerstel | V 2 |
| 123 | | Hornbach | Gerstel | V 2 |
| 124 | | Hornbach | Gerstel | V 2 |
| 125 | | Hornbach | Gerstel | V 2 |
| 126 | | Hornbach | Gerstel | V 2 |
| 127 | | Hornbach | Gauschberg | IV 1 |
| 128 | | Hornbach | Gauschberg | IV 1 |
| 129 | | Hornbach | Gauschberg | IV 1 |
| 130 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 131 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 132 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 133 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 134 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 135 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 136 | | Zweibrücken | Am Türck | XVII |
| 137 | | Ixheim | Am Türck | XXVII |
| 138 | | Ixheim | Am Türck | XXVII |
| 139 | | Ixheim | Am Türck | XXVII |
| 140 | | Hornbach | Lettenkaul | I 1 ² |
| 141 | | Hornbach | Lettenkaul | I 1 ² |
| 142 | | Hornbach | Holzwald | II 1 ² |
| 143 | | Hornbach | Holzwald | II 1 ² |
| 144 | | Thaleischweiler | Hundsstall | V 2 ¹ |
| 145 | | Thaleischweiler | Hinterer Auberg | XXI 4 |
| 146 | | Thaleischweiler | Rodsteig | XXI 2a |
| 147 | | Thaleischweiler | Rodsteig | XXI 2a |
| 148 | | Thaleischweiler | Fährendell | V |

Saarburg

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|----------------------|--------------|----------------------|------------------|
| 201 | Adenau | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 202 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 203 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 204 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 205 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 206 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 207 | | Nürburg | Willscheid | 52b |
| 208 | | Nürburg | Goldene Busch | 41e |
| 209 | Birkenfeld | Berschweiler | Hohr | 13b |
| 210 | | Berschweiler | Hohr | 13b |
| 211 | | Berschweiler | Hohr | 13b |
| 212 | | Berschweiler | Mettholz | 12a ¹ |
| 213 | | Berschweiler | Mettholz | 12a ¹ |
| 214 | | Berschweiler | Mettholz | 12a ¹ |
| 215 | | Berschweiler | Bornberg | 8 |
| 216 | | Berschweiler | Bornberg | 8 |
| 217 | | Berschweiler | In der Sang | 9c |
| 218 | | Berschweiler | In der Sang | 9c |
| 219 | | Berschweiler | In den hohen Kiefern | 2a ² |
| 220 | | Berschweiler | Junges Föhrholz | 12b ¹ |
| 221 | | Berschweiler | Junges Föhrholz | 12b ¹ |
| 222 | | Berschweiler | Junges Föhrholz | 12b ¹ |
| 223 | | Berschweiler | | 4a ³ |
| 224 | | Berschweiler | | 4a ³ |
| 225 | | Berschweiler | | 4a ³ |
| 226 | | Birkenfeld | Hundsheck | 6a ¹ |
| 227 | | Birkenfeld | Palmsberg | 4b ⁴ |
| 228 | | Buhlenberg | Etsberg | 2a ⁴ |
| 229 | Hachenburg (-Süd) | Alpenrod | | 15 |
| 230 | | Alpenrod | | 15 |
| 231 | | Alpenrod | | 15 |
| 232 | | Alpenrod | | 15 |
| 233 | | Alpenrod | | 15 |
| 234 | | Alpenrod | | 15 |
| 235 | | Alpenrod | | 15 |
| 236 | | Schenkelberg | | 3b |
| 237 | | Schenkelberg | | 3b |
| 238 | | Schenkelberg | | 3a' |

Klon-Nr. 238: Totalausfall 1998

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|--|--------------|-----------------------|-------------------|
| 239 | Hachenburg (-Süd) ...(Fortsetzung) | Schenkelberg | | 3a' |
| 240 | | Schenkelberg | | 3a' |
| 241 | | Schenkelberg | | 3a' |
| 242 | | Schenkelberg | | 3a' |
| 243 | | Schenkelberg | | 3a' |
| 244 | | Schenkelberg | | 27 |
| 245 | | Schenkelberg | | 27 |
| 246 | Honerath | Honerath | Judenloch | 158b ¹ |
| 247 | | Honerath | Judenloch | 158b ¹ |
| 248 | | Honerath | Judenloch | 158b ¹ |
| 249 | | Honerath | Judenloch | 158b ¹ |
| 250 | | Honerath | Judenloch | 157a ¹ |
| 251 | | Honerath | Judenloch | 157a ¹ |
| 252 | | Honerath | Judenloch | 156a ¹ |
| 253 | | Honerath | Judenloch | 156a ¹ |
| 254 | | Honerath | Judenloch | 156a ¹ |
| 255 | Idar-Oberstein | | | (K 20) |
| 256 | | | | 38 |
| 257 | Kusel | Kusel | Buchwald | I b ² |
| 258 | | Kusel | Hennroth | V I |
| 259 | | Kusel | Jungwald | I 8a ¹ |
| 260 | | Kusel | Jungwald | I 8a ¹ |
| 261 | | Kusel | Dreisnitz | I 4 ² |
| 262 | | Kusel | Jungwald | I 8a ¹ |
| 263 | | Kusel | Jungwald | I 8b ² |
| 264 | | Altenglan | Hinter dem Bruderwald | III 1 |
| 265 | Rennerod | Großseifen | | 21 |
| 266 | | Großseifen | | 21 |
| 267 | | Großseifen | | 21 |
| 268 | | Weierhof | | 29 |
| 269 | | Weierhof | | 25 |
| 270 | | Weierhof | | Privatwald |
| 271 | Rhaunen | Rhaunen | Sang | 14 |
| 272 | | Rhaunen | | 9 |
| 273 | | Rhaunen | | 9 |
| 274 | | Rhaunen | | 9 |
| 275 | | Rhaunen | | 9 |
| 276 | | Rhaunen | | 12 |
| 277 | | Rhaunen | | 12 |
| 278 | | Rhaunen | | 10 |

| Klon-Nr. | Forstamt | Forstrevier | Forstort | Abt./Bestand |
|----------|---------------|---------------|----------|------------------|
| 279 | Rhaunen | Rhaunen | | 10 |
| 280 | (Fortsetzung) | Rhaunen | | 10 |
| 281 | | Breitenthal | | Privat |
| 282 | | Breitenthal | | Privat |
| 283 | | Breitenthal | | Privat |
| 284 | | Breitenthal | | Privat |
| 285 | | Breitenthal | | Privat |
| 286 | Simmern | Kisselbach | | 2b |
| 287 | | Pleisenhausen | | 3 |
| 288 | | Pleisenhausen | | 3 |
| 289 | | Pleisenhausen | | 3 |
| 290 | | Pleisenhausen | | 9 |
| 291 | Wallmerod | Höhn | | 19a ⁷ |
| 292 | | Höhn | | 19a ⁷ |
| 293 | | Höhn | | 12 |

7 Anhang II

Tab. 5: Nach Häufigkeiten der Multilocusgenotypen aufgelistete Vogelkirsch-Klone in den beiden Erhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg.

List of the wild cherry clones in the two clonal seed orchards Lauterecken and Saarburg ordered according to the frequencies of the respective multilocus genotypes.

| Absolute Häufigkeit der identifizierten Multilocus-Genotypen | Lauterecken Klon-Nr. | Saarburg Klon-Nr. |
|--|---|---|
| 1 | 1, 2, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 22, 26, 28, 29, 32, 35, 36, 38, 44, 49, 50, 51, 58, 59, 63, 64, 65, 66, 69, 71, 72, 73, 77, 80, 81, 82, 84, 85, 86, 91, 92, 93, 95, 125, 129, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 140, 144, 147 | 201, 202, 204, 206, 207, 208, 211, 212, 213, 217, 218, 219, 223, 225, 226, 227, 228, 236, 237, 242, 244, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 264, 269, 270, 271, 273, 276, 278, 284, 286, 289, 293 |
| 2 | 20 + 30 | 203 + 266 |
| | 34 + 89 | 205 + 277 |
| | 37 + 39 | 210 + 222 |
| | 47 + 48 | 215 + 290 |
| | 54 + 78 | 220 + 262 |
| | 60 + 96 | 224 + 281 |
| | 67 + 83 | 252 + 254 |
| | 68 + 107 | 268 + 287 |
| | 75 + 117 | 274 + 285 |
| | 113 + 130 | |
| | 122 + 146 | |
| 3 | 27 + 33 + 126 | 209 + 214 + 275 |
| | 42 + 55 + 142 | 235 + 245 + 267 |
| | 109 + 110 + 111 | 282 + 283 + 288 |
| 4 | | 231, 232, 233, 234 |
| | | 239, 240, 241, 243 |
| 5 | 8, 103, 104, 114, 119 23, 87, 99, 145, 148 | |
| 6 | 4, 19, 62, 76, 98, 101 | 216, 221, 229, 230, 253, 265 |
| | | 263, 272, 279, 280, 291, 292 |
| 8 | 3, 52, 102, 112, 124, 128, 131, 134 | |
| 10 | 24,, 56, 57, 61, 88, 94, 115, 116, 120, 139 | |
| 11 | 31, 43, 53, 70, 74, 90, 97, 106, 118, 123, 127 | |
| 13 | 12, 21, 25, 40, 41, 45, 46, 79, 100, 105, | |
| | 108, 121, 143 | |

Hinweis:

Klon Nr. 238 fehlt infolge Komplettausfalls; Klon Nr. 141 konnte wegen Schwachwüchsigkeit der auf der Fläche noch vorhandenen Pflöfinge nicht beprobt werden.

Genetische Kontrolle von Samenplantagen mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern

LUDGER LEINEMANN, BERNHARD HOSIUS, UWE TABEL UND WERNER D. MAURER

Keywords: Seed orchards, Douglas-fir, *Pseudotsuga menziesii*, Scots pine, *Pinus sylvestris*, isozyme gene markers, control of clonal ramets

Abstract

Title of the paper: Genetic control of seed orchards by using isozyme gene markers.

The objective of this paper is to present the possibilities and advantages arising from the application of isozyme gene markers in managing seed orchards. Examples are given that demonstrate how faults in seed orchards can be identified and corrected. On the base of comparing genetic structures, conclusions may be drawn on the completeness of passing on genetic information as well as on the genetic efficiency of seed orchards.

Schlagwörter: Samenplantagen, Douglasie, *Pseudotsuga menziesii*, Kiefer, *Pinus sylvestris*, Isoenzym-Genmarker, Klonüberprüfung

Zusammenfassung

Ziel des vorliegenden Berichtes ist es, die Möglichkeiten und Vorteile der Verwendung von Isoenzym-Genmarkern beim Management von Samenplantagen darzustellen. An Beispielen wird erläutert, wie Fehler in Samenplantagen identifiziert und behoben werden können. Anhand von Vergleichen genetischer Strukturen können Rückschlüsse auf die Vollständigkeit der Weitergabe genetischer Information sowie der genetischen Effizienz von Samenplantagen hergeleitet werden.

1 Einleitung

In den vergangenen Jahren wurden mehrere Samenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern inventiert. In der vorliegenden Arbeit soll dargestellt werden, welche Informationen auf der Basis dieser Untersuchungen in Samenplantagen zur Verfügung stehen und wie diese Informationen für das Management von Samenplantagen genutzt werden können.

1.1 Der Begriff der Samenplantage

Über eine effektivere Saatgutproduktion hinaus werden vielfältige Ziele mit der Anlage von Samenplantagen verfolgt. Nach ROHMEDER (1972) können unter anderem Erhaltungs- und

Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49/02, S.45-58.

Plusbaumsamenplantagen unterschieden werden. Diesen beiden Kategorien sind auch die Samenplantagen zuzuordnen, die in den Jahren 1996 bis 1998 in Rheinland-Pfalz untersucht wurden.

Bei den **Erhaltungssamenplantagen** steht allgemein eine Konservierung *ex situ* von Beständen oder Populationen einer bestimmten Baumart im Vordergrund. Der neuere Terminus „Generhaltungsplantage“ betont insbesondere die Notwendigkeit der Erhaltung der genetischen Vielfalt, da sie die Grundlage für Angepaßtheit und/oder Anpassungsfähigkeit darstellt (HATTEMER 1994).

Plusbaumsamenplantagen haben die Erzeugung von Saatgut mit überdurchschnittlicher Anbaueignung zum Ziel. Die Beteiligung möglichst vieler Klone bzw. Familien trägt auch einer hohen genetischen Vielfalt Rechnung. Hier besteht die Erwartung, dass hinsichtlich Qualität, Vitalität und Ertrag phänotypisch hervorragende Bäume, die in einer Samenplantage zusammengeführt werden, diese Eigenschaften an ihre Nachkommen (d.h. die Samen) weitergeben. Ob diese Erwartung realisiert werden kann, hängt jedoch von vielen Faktoren wie z.B. dem realisierten Paarungssystem (Inzucht), dem Beitrag der einzelnen Klone im Saatgut oder den unterschiedlichen Blühterminen einzelner Klone ab, deren Auswirkungen sind bereits in anderen Arbeiten ausführlich behandelt wurde (GREGORIUS et al. 1979; HATTEMER et al. 1982; MÜLLER-STARCK 1982).

1.2 Zielsetzungen der Inventuren mit Isoenzym-Genmarkern

Unter der Voraussetzung, dass an den der Beobachtung zugänglichen Isoenzym-Genmarkern ausreichende Variation (Anmerkung: Variation bedeutet in diesem Zusammenhang, dass eine genügende Anzahl von Merkmalen zur Verfügung steht, um Individuen eindeutig zu charakterisieren) innerhalb einer Art beobachtet werden kann, stellen Isoenzym-Genmarker ein effizientes Hilfsmittel dar, die Zusammenstellung und die Anlage von Samenplantagen bezüglich des jeweils gesetzten Ziels zu kontrollieren und Empfehlungen im Hinblick auf ihre weitere Behandlung, z.B. für Durchforstungen zu geben.

Wesentliches Ziel ist es, die Effizienz der Samenplantage im Hinblick auf das gesetzte Ziel zu beurteilen und gegebenenfalls durch entsprechende Maßnahmen zu steigern.

1.2.1 Klontifizierung und Klonzuordnung

Im Mittelpunkt der hier vorgestellten Untersuchungen steht das Problem, dass bereits bei der Anlage von Samenplantagen Fehler durch Verwechslungen von Klonen, Fehlnummerierungen oder einem Durchwachsen der Unterlagen von einzelnen Pfropfreisern

möglich bzw. wahrscheinlich sind. Bleiben diese Fehler unentdeckt, entspricht bereits die Zusammenstellung der Samenplantage nicht den Zielvorgaben.

Mit morphologischen Merkmalen wie z.B. Blattmerkmalen sind diese Fehler nicht zweifelsfrei festzustellen. Auf der Basis von Isoenzym-Genmarkern ist eine Erkennung aber sehr wohl möglich. Fehler können so identifiziert, quantifiziert und durch geeignete Maßnahmen behoben werden. So können z.B. durchgewachsene Unterlagen mit allergrößter Sicherheit ermittelt und im Rahmen von Pflege- und Durchforstungsmaßnahmen entnommen werden. Mit Isoenzym-Genmarkern im nachhinein durchgeführte Untersuchungen zeigen, dass solche Fehler in Samenplantagen durchaus erheblich sein können (WHEELER & JECH 1992).

Ungeachtet dessen, ob es sich um Generhaltungs- oder um Plusbaumsamenplantagen handelt, muss daher die Kontrolle der Integrität einer Samenplantage als grundlegend angesehen werden.

Hierzu ist die Abstammungsidentität der einzelnen Klone bzw. der Kloneschwister (Ramet) im Rahmen einer **Klonidentifizierung** bzw. einer **Klonzuordnung** zu kontrollieren. Isoenzym-Genmarker stellen für diese Fragestellung ein hervorragend geeignetes Hilfsmittel dar (WHEELER & JECH 1992; CHELIAK 1993).

1.2.2 Monitoring der Veränderungen genetischer Strukturen zwischen Beständen, Samenplantagen und ihren Nachkommenschaften

Samenplantagen werden zum Zweck der Saatguterzeugung angelegt. Die *Eigenschaften des in einer Samenplantage produzierten Saatguts stehen daher im Mittelpunkt des Interesses*. Mit einer Generhaltungssamenplantage wird in der Regel das Ziel verfolgt, die genetische Variation innerhalb einer Art bzw. Population möglichst umfassend zu erhalten.

Für Generhaltungssamenplantagen können aus diesem Grund Untersuchungen mit Isoenzym-Genmarkern wichtiger Bestandteil des Auswahlverfahrens von Bäumen und Beständen, welche in einer Generhaltungssamenplantage zusammengestellt werden sollen, sein.

Die Auswahl von Individuen für eine Plusbaumsamenplantage erfolgt in erster Linie selektiv nach phänotypischen Gesichtspunkten. Dies schließt ausdrücklich das Risiko einer gerichteten Veränderung genetischer Strukturen ein. Hier kann mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern untersucht werden, ob negative Auswirkungen etwa durch eine Verringerung der genetischen Vielfalt nachzuweisen sind und inwieweit die Phänotypenauslese durch eine geringere Anpassungsfähigkeit in den Nachkommen erkaufte wird.

In der Generhaltungssamenplantage mag die Erwartung bestehen, dass die dort erzeugten Nachkommen (Samen) identische oder ähnliche genetische Strukturen zeigen wie die Samenplantage selbst, während von Nachkommenschaften aus Plusbaumsamenplantagen ähnliche phänotypische Merkmale im Vergleich zu ihren Eltern erwartet werden.

Neben anderen Qualitätsmerkmalen, wie etwa der Abwesenheit von Inzuchtstrukturen in den Nachkommenschaften, kann daher die Vollständigkeit der Weitergabe bestimmter erwünschter Eigenschaften der Samenpflanze an ihre Nachkommenschaft als Kriterium für die Qualität des produzierten Saatgutes Verwendung finden.

Durch den Vergleich der genetischen Strukturen von Samenpflanzen und ihren Nachkommenschaften (d.h. der Saatgutproduktion verschiedener Erntejahre) kann präzise ermittelt werden, in welchem Ausmaß die genetischen Strukturen von Samenpflanzen an ihre Nachkommenschaften weitergegeben werden. Hinsichtlich der Schlußfolgerungen, die aus diesen Vergleichen gezogen werden können, unterscheiden sich Generhaltungs- und Plusbaumsamenpflanzen.

Bei der Generhaltungssamenpflanze steht die Erhaltung bestimmter genetischer Strukturen im Vordergrund. Der Grad der Übereinstimmung zwischen Eltern und Nachkommen kann mit den geeigneten Parametern leicht gemessen werden und direkt als Qualitätsmaßstab Verwendung finden, um Aussagen über die "genetische Effizienz" (ADAMS & JOLY 1980) einer Samenpflanze zu treffen.

Für das Saatgut von Plusbaumsamenpflanzen gilt dies eher eingeschränkt. In der Regel kann kein Zusammenhang zwischen einer bestimmten Variation an Isoenzym-Genorten und der Ausprägung bestimmter phänotypischer Eigenschaften nachgewiesen werden. So könnte eine nahezu vollständige Weitergabe der genetischen Strukturen an Isoenzym-Genorten lediglich als Indiz dafür gesehen werden, dass sich möglicherweise auch die gewünschten phänotypischen Eigenschaften in ähnlich vollkommener Weise auf die nächste Generation übertragen. Wirklich aussagekräftige Qualitätskriterien für die Nachkommenschaften von Plusbaumsamenpflanzen sind daher allein über Nachkommenschaftsprüfungen zu erwarten.

Aus den hier genannten Untersuchungen können gegebenenfalls Empfehlungen für das Management von Samenpflanzen abgeleitet werden. Treten deutliche Abweichungen zwischen den genetischen Strukturen von Samenpflanzen und ihren Nachkommenschaften auf, so kann dies verschiedene Gründe haben, wie z.B.:

- unterschiedliche Samenbeiträge (oder unterschiedlich starke Beerntung) einzelner Klone;
- Inzuchteffekte aufgrund der räumlichen Nähe von Bäumen einer Klonfamilie;
- zeitlich unterschiedliche Blüte einzelner Klone.

Maßnahmen, die solchen Effekten entgegenwirken könnten, sind:

- Kronenpflege durch Beschneiden und Freistellen von Bäumen bestimmter Klone, die bislang nur einen geringen Samenansatz zeigten, sowie Düngungsmaßnahmen;
- Stimulation der Blühintensität einzelner Klone (WHEELER & JECH 1992);
- Gruppen räumlich benachbarter Individuen eines Klons, die womöglich die Ursache für Inzuchteffekte sind, könnten im Zuge von Durchforstungen aufgelöst werden;

- Mehraufwand bei der Beerntung, um eine möglichst repräsentative Beerntung aller Klonfamilien sicherzustellen;
- Umsetzung der Möglichkeit, Saatgut aus verschiedenen Erntejahren mit allgemein oder teilweise geringem Fruchtansätzen zu mischen, um Unterschiede zwischen den einzelnen Erntejahren zu nivellieren und so eine Homogenisierung der Eigenschaften des Saatgutes zu erreichen.

Die Untersuchungen zu dieser Studie wurden u.a. ermittelt im Rahmen der Werkverträge „Genetische Charakterisierung der Kiefern-Samenplantage Börrstadt mittels Isoenzym-Genmarkern“ sowie „Biochemisch-genetische Charakterisierung der Douglasien-Samenplantage Bremerhof (Forstamt Kaiserslautern) mittels Isoenzym-Genmarkern.“

2 Material und Methoden

2.1 Klonidentifizierung und Klonzuordnung

Da die Klonidentifizierung und Klonzuordnung mit Hilfe von Isoenzymen im Mittelpunkt der hier vorgestellten Untersuchungen stand, soll hier im wesentlichen dieses Verfahren dargestellt werden.

Isoenzymanalysen können als ein effizientes Hilfsmittel betrachtet werden, phänotypische Unterschiede zwischen Individuen zu beobachten. Handelt es sich dabei um sog. Genmarker, so haben diese zwei entscheidende Vorteile gegenüber den üblichen, im Bestand ermittelten Merkmalen (*Anmerkung*: Falls im Rahmen einer Vererbungsanalyse nachgewiesen werden kann, dass die Ausprägung dieser Phänotypen ausschließlich von einem Genort kontrolliert werden, so bezeichnet man diese Phänotypen als „Genmarker“.). Sie sind umweltunabhängig und über die gesamte Lebensspanne eines Individuums konstant.

Die Merkmale, die mit dem Verfahren der Isoenzymanalyse in einzelnen Individuen beobachtet werden können, prägen sich als sog. „Isoenzymbandenmuster“ aus. Diese Bandenmuster können bei einzelnen Individuen unterschiedlich etwa bezüglich der Anzahl und Lage der Banden in einem Trennmedium wie z.B. Stärkegel sein. Mit dieser Methode ist es möglich, die einzelnen Klone einer Samenplantage so genau zu charakterisieren, dass jeder Klon von allen anderen Klonen unterschieden werden kann. Dies ist die Grundlage der Zuordnung einzelner Bäume zu einer Klonfamilie in einer Samenplantage, da nur Bäume, bei denen alle Merkmale übereinstimmen, vom selben Klon stammen können.

In Abb.1 wird diese Verfahrensweise kurz dargestellt. In der darin enthaltenen Schemazeichnung 1a sind die Varianten (d.h. Isoenzymbanden) von Bäumen dreier Klone für das hypothetische Merkmal „Enzymsystem A“ aufgeführt. Offensichtlich ist, dass Klon 3

deutlich von Klon 1 und Klon 2 verschieden ist. Die beiden Klone 1 und 2 zeigen dagegen die gleiche Variante. Sie können daher bezüglich dieses Merkmals nicht unterschieden werden.

Um auch bei den Klonen 1 und 2 einen möglichen Unterschied aufzudecken, bedarf es also eines weiteren Merkmals, an dem diese Klone unterschiedliche Varianten zeigen. In Schemazeichnung 1b der Abb.1 können Unterschiede zwischen Bäumen der beiden Klone 1 und 2 für ein zweites Merkmal, nämlich ein hypothetisches Enzymsystem B beobachtet werden, denn die beiden Klone zeigen unterschiedliche Varianten auf.

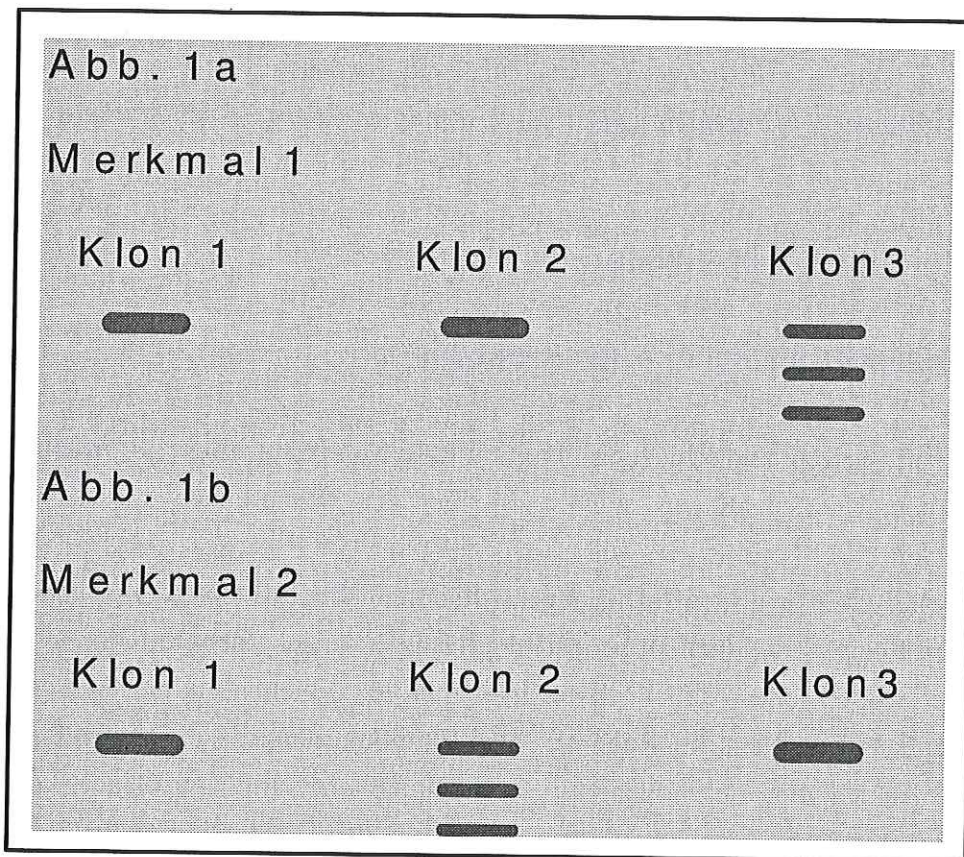


Abb. 1: Schemazeichnung zur Vorgehensweise bei der Klonidentifizierung in Samenplantagen am Beispiel von zwei Merkmalsausprägungen (hypothetische Enzymsysteme A und B).

Fig. 1: Schematic illustration of the procedure identifying clones in seed orchards as exemplified by two traits marked differently (hypothetical enzyme systems A and B).

In der Kombination der Merkmale 1 und 2 können so alle drei Klone eindeutig voneinander unterschieden und so auch eindeutig genetisch charakterisiert werden. Würde eine Samenplantage nur aus Wiederholungen dieser drei Klone bestehen, könnten alle Kloneschwister zweifelsfrei einem der drei Klone zugeordnet werden. Merkmalskombinationen, die nachgewiesenermaßen nicht mit einem der drei Klone übereinstimmen, deuten z.B. auf Fehler bei der Anlage der Samenplantage oder auf ein nicht erkanntes Durchwachsen der Unterlage hin. Diese Bäume können dann im Zuge von Durchforstungsmaßnahmen entnommen werden. In einer realen Samenplantage sind natürlich

sehr viel mehr Klone vorhanden. Um hier jeden Klon eindeutig zu beschreiben, bedarf es daher auch einer wesentlich größeren Anzahl von Merkmalen oder Merkmalsvarianten, um alle Klone eindeutig zu charakterisieren. Da hier sehr umfangreiche Datensätze die Regel sind, erfolgt die Auswertung der einzelnen Isoenzym-Bandenmuster zwecks Zuordnung der mutmaßlichen Ramets zu Klonen routinemäßig mit Hilfe spezieller Datenbankprogramme.

2.2 Beschreibung von genetischen Strukturen

Die genetischen Strukturen von Beständen, Samenplantagen und ihren Nachkommen werden mit verschiedenen genetischen Parametern wie Vielfalt, Diversität und dem Heterozygotiegrad beschrieben. Der Grad der Übereinstimmung zwischen den genetischen Strukturen verschiedener Kollektive wird mit Hilfe des genetischen Abstands gemessen und mittels statistischer Tests auf signifikante Unterschiede geprüft.

3 Anwendungsbeispiele aus bisherigen Untersuchungen

3.1 Beispiele der Klonidentifizierung aus Untersuchungen in Plusbaumsamenplantagen der Kiefer und der Douglasie

Die hier vorgestellten Ergebnisse beziehen sich auf Untersuchungen, die im Jahr 1996 an der Kiefern Samenplantage Börstadt (zu diesem Zeitpunkt FA Ramsen, heute FA Winnweiler) und im Jahr 1997 an der Douglasiensamenplantage Bremerhof (FA Kaiserslautern) durchgeführt wurden.



Foto: W.D. Maurer

Abb. 2: Einblick in die Kiefern Samenplantage Börstadt (Foto: April 1994).

Fig. 2: A view into the Scots pine seed orchard Börstadt (photo taken in April 1994).

Die Kiefersamenplantage enthielt insgesamt 216 Bäumen, d.h. mutmaßliche Klonschwister aus 34 Klonfamilien.

In der Douglasiensamenplantage Bremerhof stand die Teilfläche D mit 124 Individuen aus 58 Klonfamilien im Mittelpunkt der isoenzymatischen Untersuchungen zur Klonidentifizierung. Diese Überprüfung erfolgte bei der Kiefer an 20 und bei der Douglasie an 15 variablen Merkmalen, d.h. Enzymsystemen.

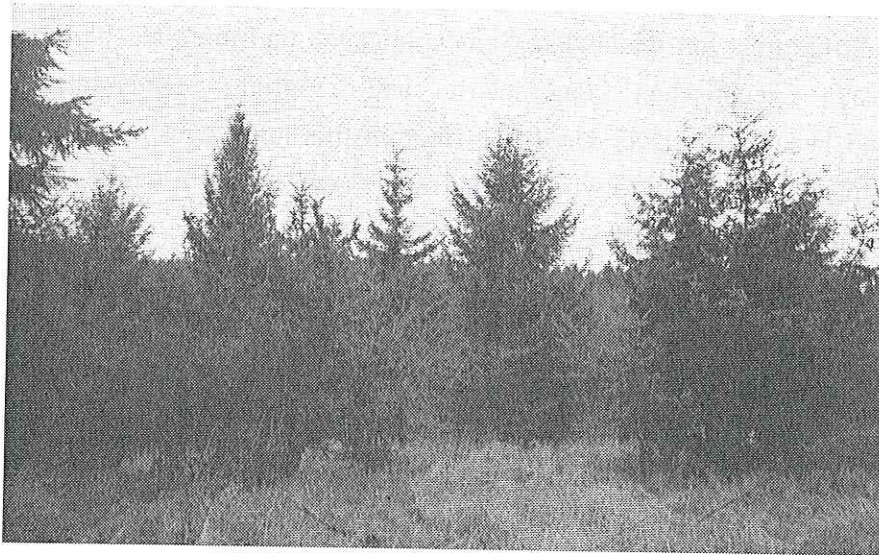


Foto: W.D. Maurer

Abb. 3: Einblick in die Douglasiensamenplantage Bremerhof (Foto: März 2001)

Fig. 3: A view into the Douglas-fir seed orchard Bremerhof (photo taken in March 2001)

Die Ergebnisse machten deutlich, dass alle Klone in den beiden Samenplantagen auf der Basis der untersuchten Merkmale eindeutig zu charakterisieren waren. Für den Fall, dass ein Klon durch mehr als zwei Ramets vertreten war, wurde davon ausgegangen, dass die Mehrzahl der Ramets eines Klons mit übereinstimmenden Merkmalen den tatsächlichen Klon repräsentieren.

Es konnten folgende Gruppen gebildet werden:

- Gruppe A:** Identische Klonfamilien, d.h. die Klone stimmen bezüglich aller untersuchten Merkmale überein, die Klonfamilie gilt als korrekt nummeriert, ihre Identität kann testiert werden.
- Gruppe B:** Ein Baum stimmt nicht in allen Merkmalen mit den Klonschwistern derselben Klonnummer überein, kann aber einer anderen Klonfamilie zugeordnet werden. Wahrscheinliche Ursache ist eine Fehlnummerierung.
- Gruppe C:** Zu keiner Klonfamilie gehörende Bäume besitzen Merkmalskombinationen, die keiner Klonfamilie in der Samenplantage zugeordnet werden können.

Hierfür sind mehrere Ursachen denkbar: zum einen ist womöglich nach der Pflanzung die Unterlage durchgewachsen, zum anderen bei der Werbung der Pflanzfreier oder bei der Pflanzung selbst unachtsam gearbeitet worden.

Solche Fehler, die mit Hilfe der Klonidentifizierung und Klonzuordnung auf der Basis der Isoenzymuntersuchungen ermittelt werden konnten, sind in Tab.1 aufgelistet. Gleichfalls sind in dieser Tabelle die jeweiligen Ergebnisse aus ähnlichen Untersuchungen anderer Autoren aufgeführt.

Tab. 1: Auf der Basis von Isoenzymuntersuchungen ermittelte Fehler bei der Anlage von Samenplantagen in Rheinland-Pfalz und von anderen Samenplantagen.
Faults as determined by isozyme investigations for seed orchards in Rhineland-Palatinate and for some other seed orchards.

| Rheinland-Pfalz | Fehlnummerierungen | falsche Bäume |
|--|---------------------------|----------------------|
| Kiefern Samenplantage Börstadt | 6% | 8% |
| Douglasiensamenplantage Bremerhof | 4% | 12% |
| ähnliche Untersuchungen | Fehlnummerierungen | |
| Kiefer (HARJU & MUONA 1989) | 10% | |
| Douglasie (ADAMS 1983) | 13% | |
| <i>Pinus taeda</i> (WHEELER & JECH 1992) | 10% | |

Da es sich bei den hier angesprochenen rheinland-pfälzischen Samenplantagen um Plusbaumsamenplantagen handelt, sind insbesondere die sog. "falschen Bäume" von Bedeutung. Es ist davon auszugehen, dass es sich hier um Bäume handelt, die ihrem Phänotyp nach nicht für eine Plusbaumsamenplantage geeignet sind und damit einen Züchterfolg der Samenplantage insgesamt erheblich einschränken können. Lediglich falsch nummerierte Bäume stellen diesbezüglich keine schwerwiegende Fehlerquelle dar.

3.1.1 Schlussfolgerungen

- Auch aus dem Vergleich mit anderen Untersuchungen geht hervor, dass Fehler bei der Anlage von Samenplantagen infolge Verwechslungen etc. meist nicht vollständig zu vermeiden sind.
- Fehler in einer Größenordnung von 10-15% scheinen die Regel zu sein.
- Mit Isoenzymanalysen können diese Fehler aufgedeckt und behoben werden:
 - Fehlnummerierungen können korrigiert werden,
 - falsche Bäume können im Zuge von Durchforstungsmaßnahmen entnommen werden.

- Diese Maßnahmen sollten bei neu angelegten Samenplantagen möglichst vor der ersten Ernte durchgeführt werden. Fehler in älteren Samenplantagen können auf der Grundlage solcher Untersuchungen im Zuge normaler Durchforstungen behoben werden.

3.2 Beschreibung genetischer Strukturen von Samenplantagen im Vergleich zu Beständen am Beispiel der Douglasiensamenplantage Bremerhof

Ziel dieses Vergleichs war es, einen Vergleich der genetischen Strukturen zwischen der Douglasiensamenplantage Bremerhof und soweit isoenzymatisch charakterisierten Douglasienbeständen in Rheinland-Pfalz vorzunehmen. Unterschiede könnten durch das Auswahlverfahren der Bäume, die in der Samenplantage aufgenommen wurden, bedingt sein und wären dann möglicherweise auf Selektion zurückzuführen. Negative Effekte im Sinne einer genetischen Verarmung könnten gegebenenfalls durch eine Nachbesserung mit Trägern fehlender Allelvarianten ausgeglichen werden.

Gleichzeitig sollte untersucht werden, ob sich Anhaltspunkte finden lassen, die auf eine Beimischung von Bäumen aus dem Verbreitungsgebiet der Inlandsdouglasie in der Samenplantage schließen lassen. Diese könnte sich nach dem heutigen Kenntnisstand negativ auf die Qualität des Saatgutes auswirken (LEINEMANN 1997, 1998, 1999).

In Tab.2 wird die Samenplantage Bremerhof an Hand der Parameter „Vielfalt“ und „Diversität“ zu Ergebnissen von isoenzymatischen Untersuchungen an Douglasien-Waldbeständen in Beziehung gesetzt. Die Vielfalt ergibt sich direkt aus der Summe aller verschiedenen Allelvarianten, die in einem Kollektiv beobachtet werden konnten. Die Diversität berücksichtigt hingegen auch die Häufigkeiten der einzelnen Allelvarianten. Grundsätzlich kann gesagt werden, je höher die jeweiligen Werte für Vielfalt und Diversität sind, um so größer ist die genetische Variabilität eines Kollektivs und damit letztlich sein ökologisches Anpassungsvermögen.

Der Vergleich zeigt, dass die Samenplantage Bremerhof eine genetische Diversität im Bereich anderer soweit untersuchter Douglasienbestände aufweist. Bezüglich der genetischen Vielfalt übertrifft sie jedoch alle bisher untersuchten Waldbestände.

Auf der Grundlage der hier untersuchten Merkmale kann eine genetische Verarmung dieser Samenplantage als Folge einer Phänotypenselektion klar verneint werden. In dieser Hinsicht besteht absolut kein Handlungsbedarf.

Tab. 2: Vergleich der genetischen Strukturen der Douglasien-Samenplantage Bremerhof mit anderen Beständen anhand der Parameter Vielfalt und Diversität.
Comparison of the genetic structures of the Douglas-fir seed orchard Bremerhof with different forest stands by regarding the parameters absolute and relative diversity.

| <i>Douglasienpopulationen</i> | <i>Vielfalt</i> | <i>Diversität</i> |
|-----------------------------------|-----------------|-------------------|
| Douglasiensamenplantage Bremerhof | 53 | 1,27 |
| andere Douglasienbestände | 39–45 | 1,24-1,31 |

Aufgrund ihrer hohen genetischen Vielfalt könnte sie sogar als wertvoll für die Generhaltung eingestuft werden.

Die Frage, ob sich Hinweise finden, die eine wesentliche Beteiligung von Klonen aus dem Bereich der Inlandsdouglasie vermuten lassen, wird anhand von Abb. 4 behandelt.

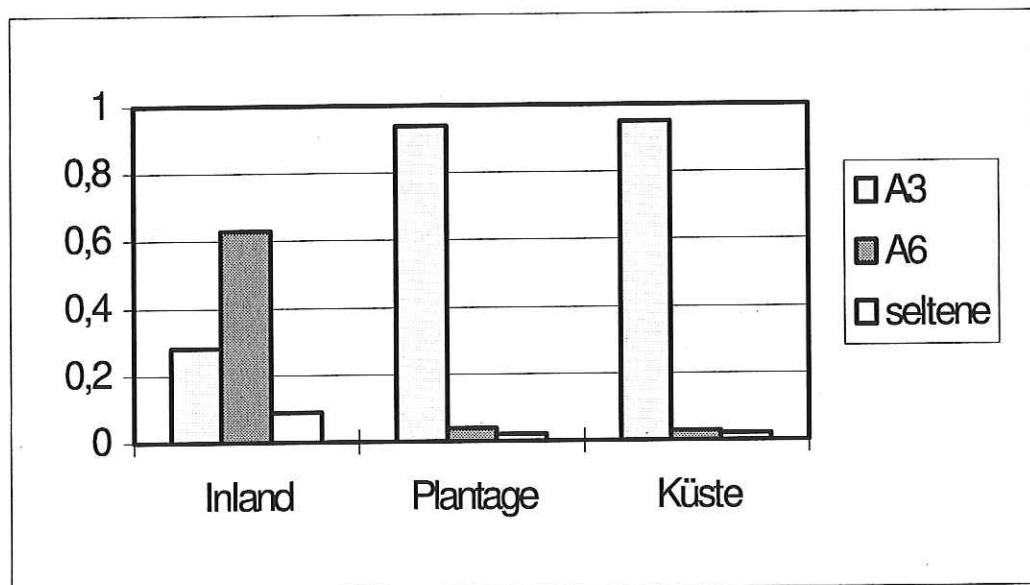


Abb. 4: Allelhäufigkeiten für den Genort 6-PGDH-A in der Douglasien-Samenplantage Bremerhof sowie in typischen Vergleichsbeständen aus dem Bereich der Küsten- und der Inlandsrasse.

Fig. 4: Allele frequencies as determined for gene locus 6-PGDH-A in the Douglas-fir seed orchard Bremerhof and in typical reference stands originating from the regions of the coastal and interior races, respectively.

Der Vergleich zeigt, dass eine wesentliche Beteiligung von Douglasien aus dem Bereich der Inlandsrasse in der Samenplantage Bremerhof nicht zu erwarten ist, da sonst der Anteil des Allels A₆ in der Samenplantage deutlich höher sein müsste. Auch in dieser Hinsicht sind keine

negativen Auswirkungen auf die Anbaueignung des in dieser Samenplantage gewonnenen Saatguts bzw. der daraus angezogenen Pflanzen zu erwarten.

3.3 Vergleiche zwischen den genetischen Strukturen von Samen und Samenplantage am Beispiel der Kiefern Samenplantage Börrstadt

In dieser Studie wurden die genetischen Strukturen der Samenplantage im Jahr 1996 mit den genetischen Strukturen von Absaaten aus den Jahren 1988 und 1992 mit Hilfe eines Homogenitätstests verglichen (ISOGEN 1996, 1997). Sowohl die allelischen als auch die genotypischen Strukturen beider Absaaten unterscheiden sich an mehreren Genorten signifikant bis höchstsignifikant von den Strukturen der Samenplantage. Besonders hohe Signifikanzen ergeben sich übereinstimmend bei beiden Absaaten an den Genorten GOT-B und GOT-C; 6-PGDH-A, PGI-B sowie ACO-A.

Als Ursache für diese Abweichungen kommen sowohl der Beerntungsmodus als auch die Fruktifikation selbst in Frage. Werden bestimmte Klone bevorzugt beerntet, kommt es zu einer Überrepräsentativität ihrer genetischen Strukturen in dieser Saatgutcharge. Sinngemäß gilt dies auch bei überdurchschnittlich starker Fruktifikation.

Mit großer Wahrscheinlichkeit sind jedoch Durchforstungsmaßnahmen in der Samenplantage, die nach 1992, jedoch vor der genetischen Untersuchung der Samenplantage durchgeführt wurden, für dieses Ergebnis verantwortlich. Dies hat zur Folge, dass in dieser Hinsicht der Vergleich zwischen Samenplantage und Saatgut bezüglich der Vollständigkeit der Weitergabe nicht gezogen werden kann. Möglicherweise zeichneten sich einzelne Klone bzw. ihre Ramets durch relativ geringe Vitalität aus und wurden daher im Zuge einer Durchforstung bevorzugt entnommen. Auch ist es möglich, dass Durchforstungseingriffe in Samenplantagen, die ohne die Kenntnis der genauen Klonzuordnung einzelner Ramets durchgeführt werden, die Gefahr in sich bergen, so ungewollt ganze Klonfamilien aus einer Samenplantage zu entnehmen.

Aus dem Gesagten ist die Schlussfolgerung zu ziehen, dass in Samenplantagen genetische Inventuren per Isoenzymanalyse so früh wie möglich durchgeführt werden sollten, wenn möglich, bevor die ersten Eingriffe erfolgen.

4 Literatur

- ADAMS, W.T. & JOLY, R.J. (1980):** Allozyme studies in loblolly pine seed orchards: Clonal variation and frequency of progeny due to self-fertilization. *Silvae Genetica*, 29, pp.1-4.
- ADAMS, W.T. (1983):** Application of isozymes in tree breeding. In: S.D. TANKSLEY & T.J. ORTON (eds.): *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam - New York, Part A, pp.381-400.
- BERGMANN, F. (1975):** Herkunfts-Identifizierung von Forstsaatgut auf der Basis von Isoenzym-Genhäufigkeiten. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 146.Jg., S.191-195.
- CHELIAK, W.M. (1993):** Clone identification. In: M.R. AHUJA. & W.J. LIBBY (eds.): *Clonal forestry. I. Genetics and biotechnology*: Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, pp.101-109.
- GREGORIUS, H.-R., BERGMANN, F., MÜLLER-STARCK, G. & HATTEMER, H.H. (1979):** Genetische Implikationen waldbaulicher und züchterischer Maßnahmen. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 150.Jg., S.30-41.
- HARJU, A. & MUONA, O. (1989):** Background pollination in *Pinus sylvestris* L. seed orchards. *Scandinavian Journal of Forestry Research*, 4, pp.513-520.
- HATTEMER, H.H., GREGORIUS, H.-R., ZIEHE, M. & MÜLLER-STARCK, G. (1982):** Klonzahl forstlicher Samenplantagen und genetische Vielfalt. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 153.Jg., S.183-191.
- HATTEMER, H.H. & GREGORIUS, H.-R. (1993):** Genetische Anforderungen an Maßnahmen zur Arterhaltung. *Forstarchiv*, 64, S.44-49.
- HATTEMER, H.H. (1994):** Die genetische Variation und ihre Bedeutung für Wald und Waldbäume. *Schweizer Zeitung für Forstwesen*, 145(12), S.953-975.
- ISOGEN (1996):** Genetische Charakterisierung der Kiefern-Samenplantage Börstadt mittels Isoenzym-Genmarkern. Interner Abschlussbericht FVA Trippstadt, 32 Seiten.
- ISOGEN (1997):** Biochemisch-genetische Charakterisierung der Douglasien-Samenplantage Bremerhof (Forstamt Kaiserslautern mittels Isoenzym-Genmarkern. Interner Abschlussbericht FVA Trippstadt, 18 Seiten + 21 Seiten Tabellen- und Bildanhang.
- LEINEMANN, L. (1997):** Genetische Strukturen gesunder und geschädigter Douglasienbestände in Rheinland-Pfalz. In: W. MAURER & U. TABEL (Hrsg.): *Stand der Ursachenforschung zu Douglasienschäden – derzeitige Empfehlungen für die Praxis. Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 41/97, S.145-160.
- LEINEMANN, L. (1998):** Genetische Untersuchung an Rassen der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) am Beispiel gesunder und geschädigter Bestände. *Göttingen Research Notes in Forest Genetics*, vol. 23, 140 Seiten.
- LEINEMANN, L. & MAURER, W. (1999):** Bedeutung von Isoenzym-Genmarkern für den Anbau der Douglasie. *AFZ / Der Wald*, 5, S.242-243.
- MÜLLER-STARCK, G. (1982):** Reproductive systems in conifer seed orchards. I. Mating probabilities in a seed orchard of *Pinus sylvestris* L.. *Silvae Genetica*, 31, pp.188-197.

ROHMEDER, E. (1972): Das Saatgut in der Forstwirtschaft. Verlag Paul Parey Hamburg und Berlin, 273 Seiten.

WHEELER, N.C. & JECH, K.S. (1992): The use of electrophoretic markers in seed orchard research. *New Forests*, pp.311-328.

Anschriften der Autoren:

Dr. Bernhard Hosius und Dr. Ludger Leinemann, ISOGEN Arbeitsgemeinschaft am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität Göttingen. Büsgenweg 2, D-37077 Göttingen

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Die Anlage von Generhaltungssamenplantagen für Weißtanne (*Abies alba* MILL.) in Rheinland Pfalz: Isoenzymuntersuchungen als effiziente Entscheidungshilfen

WERNER D. MAURER, UWE TABEL, BERNHARD HOSIUS, LUDGER LEINEMANN,
FRITZ BERGMANN, VELITCHKO GAGOV UND WALTER EDER

Keywords: European silver fir, *Abies alba*, clonal conservation seed orchards, isozyme gene markers, phenotypic traits, race affiliation, selection of mother trees

Abstract

Title of the paper: The establishment of European silver fir (*Abies alba* L.) gene conservation seed orchards in Rhineland-Palatinate: isozymic investigations used as efficient decision making tools.

In the framework of a genetic inventory on European silver fir (*Abies alba* MILL.) growing in the Federal State of Rhineland-Palatinate (Germany), the occurrences present could be assigned to the race descending from the postglacial West Alpine remigration route by using area-specific isozyme gene markers.

For the silver fir occurrences present at the colline (up to 350 m a.s.l.) and the (sub)montaneous altitudinal range (above 500 m a.s.l.), no genetic differentiation could be proved.

On this basis, 266 fir trees of excellent phenotypic appearance were selected all over the country by including also the northern part of the Federal State of the Saarland and analyzed by isozyme gene markers in order to use the sampled trees as mother-trees for establishing two clonal gene conservation seed orchards. The so-called "clone archive" will comprise the complete collection of graftings of the selected plus-trees. In the so-called "elite seed orchard" graftings of 110 silver fir trees that had been selected according to especially high demands on vitality and quality, will be included. For the latter trees a high level of individual heterozygosity was taken additionally into consideration.

It is confirmed by the employed isozyme gene markers that all the selected silver fir trees belong to the race of the postglacial West Alpine remigration route. Assuming that principally the dominating trees contribute decisively to the progenies, the isozymic inventory becomes the reference for the occurrences in our country, both seed orchards. While the clone archive represents the silver fir occurrences in a country-wide extent, the elite seed orchard rather reflects elite trees that exhibit a particularly valuable phenotype and genotype of high heterozygosity.

Schlagwörter: Weißtanne, *Abies alba*, Generhaltungsklonsamenplantagen, Isoenzym-Genmarker, phänotypische Merkmale, Rassenzugehörigkeit, Mutterbaumauswahl

Zusammenfassung

Im Rahmen einer genetischen Inventur für Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Rheinland-Pfalz konnte mit Hilfe von arealspezifischen Isoenzym-Genmarkern eine Herkunftszugehörigkeit der Vorkommen im Lande zur Rasse des postglazialen Westalpen-Rückwanderungswegs festgestellt werden. Eine mögliche Höhenstufendifferenzierung zwischen kollinen (bis 350 m ü. NN) und (sub)montanen (oberhalb von 500 m ü. NN) Vorkommen ließ sich jedoch nicht nachweisen.

Auf dieser Grundlage wurden nachfolgend landesweit sowie zusätzlich im Norden des Saarlandes 266 phänotypisch hervorragende Plusbäume als Mutterbäume für zwei Generhaltungssamenplantagen ausgewählt und isoenzymatisch untersucht. Das sog. „Klonarchiv“ umfasst die vollständige Sammlung der abgepfropften Plusbäume. In die sog. „Eliteplantage“ werden aus der Sammlung Pflöpfung von 110 Bäumen mit besonders hohen Anforderungen an Vitalität und Qualität eingebracht. Darüber hinaus wurde bei letzteren Bäumen ein hoher individueller Heterozygotiegrad als zusätzliches Kriterium berücksichtigt.

Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49/02, S.59-74.

Die verwendeten Isoenzym-Genmarker bestätigen, dass die ausgewählten Mutterbäume alle der nacheiszeitlichen Westalpenweg-Rasse angehören. Unter der Annahme, dass grundsätzlich die herrschenden Bäume die entscheidende Quelle für die Nachkommenschaften sind, wird die isoenzymatische Inventur als Referenz für die Vorkommen im Lande verwendet. Hierbei repräsentiert das Klonarchiv mit seinen 266 Klonen verständlicherweise das landesweite Weißtannenvorkommen in seiner ganzen Breite. Demgegenüber beinhaltet die Eliteplantage die zusätzliche Auslese hinsichtlich besonders wertvoller Phänotypen sowie Genotypen mit höherem Heterozygotiegrad.

1 Einleitung

Seit Beginn der Umsetzung des Konzepts zur nachhaltigen Sicherung der forstlichen Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland (ANONYMUS 1989) Ende der 80er Jahre in die Praxis werden in Rheinland-Pfalz im Rahmen des regionalspezifischen Genressourcenprogramms eine Reihe von Generhaltungsmaßnahmen durchgeführt. Dabei liegt ein Schwerpunkt bei der Erhaltung und Förderung von seltenen Baumarten (MAURER & TABEL 1995), deren Anteile an der Gesamtwirtschaftswaldfläche jeweils weniger als 1% beträgt. Hierzu zählt auch die Weißtanne (*Abies alba* MILL.) (ANONYMUS 1998).

Insbesondere im Hinblick auf die im Lande angestrebten Maßnahmen eines standortgerechten Waldumbaus, bei der neben der Hauptbaumart Buche der Weißtanne wegen ihrer ökologischen und waldbaulich vorteilhaften Eigenschaften eine wesentliche Rolle zukommen soll, ist daher eine effiziente Grundlage für das Ausgangsmaterial zu schaffen, das bestmöglich zur Einbringung in die waldbaulich umzugestaltenden Flächen geeignet ist.

Auch wenn sich die Weißtanne in Rheinland-Pfalz überwiegend außerhalb ihres eigentlichen natürlichen Verbreitungsgebiets befindet (vgl. KONNERT & BERGMANN 1995), weist sie doch vielfach ein hervorragendes Erscheinungsbild auf. Aus diesen Beobachtungen lässt sich eine gute Verträglichkeit mit den jeweiligen Standorten (Angepasstheit) bzw. ein hohes Maß an Anpassungsfähigkeit herleiten. Diese vitalen Vorkommen stellen daher eine geeignete Quelle für das in Zukunft geforderte Ausgangsmaterial dar.

Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Weißtanne in der Vergangenheit aus den verschiedensten Quellen zur Ergänzung der Vorkommen in die rheinland-pfälzischen Wälder verbracht worden ist (EDER 1987). Somit ist die Herkunftsfrage angesprochen, d.h. welchen Rassen, die sich aufgrund der unterschiedlichen nacheiszeitlichen Rückwanderungswege der Weißtanne nach Mitteleuropa differenziert haben, die heutigen rheinland-pfälzischen Vorkommen zuzuordnen sind. Weiterhin stellt sich die Frage nach einer möglichen Höhenstufendifferenzierung, da sich die Weißtanne im Lande sowohl in kollinen als auch in (sub)montanen Bereichen vielfach als gutwüchsig zeigt. Schließlich kommt der Frage nach dem Ausmaß der genetischen Vielfalt in den rheinland-pfälzischen Weißtannenvorkommen

ein weiterer hoher Stellenwert zu, denn dieses bedingt letztlich die ökologische Anpassungsfähigkeit aller langlebigen Waldbaumpopulationen.

Für die Weißtanne sind solche Untersuchungen bereits andernorts mit Isoenzym-Genmarkern erfolgreich durchgeführt worden, z.B. in Österreich von BREITENBACH-DORFER et al. (1993); in Bayern von KONNERT (1993); in der Schweiz von HUSSENDÖRFER & MÜLLER-STARCK (1994); von BERGMANN (1995) für mittel- und osteuropäische Herkünfte oder von KONNERT & BERGMANN (1995) für den natürlichen Verbreitungsbereich.

Zur Bereitstellung von qualitativ besonders wertvollem Vermehrungsmaterial sind Samenplantagen bestens geeignet, wobei die Anlage von Generhaltungssamenplantagen für die rheinland-pfälzischen Weißtannenvorkommen den gestellten Anforderungen in zweierlei Hinsicht gerecht wird:

- (1) Die Erhaltung der Genressourcen, welche dem nach bestimmten Kriterien ausgewählten Pflanzenmaterial zugrunde liegt, werden gesichert (*ex situ*-Maßnahme im Rahmen des Genressourcenprogramms).
- (2) Die Zusammenführung der zahlreichen Genotypen in der Samenplantage führt zu genetischen Neukombinationen höherer Vielfalt in den Nachkommenschaften, was auch ein erhöhtes Maß an ökologischer Anpassungsfähigkeit zur Folge hat.

Die Konzeption solcher Samenplantagen setzt immer eine gewisse Kenntnis der Genetik der betreffenden Baumart voraus (vgl. hierzu HATTEMER et al. 1993). In diesem Zusammenhang kommen wiederum den Isoenzymen eine große Bedeutung als Entscheidungshilfe dergestalt zu, dass mit diesen relativ einfach zu handhabenden Genmarkern das Ausmaß der genetischen Variation und Differenzierung solcher Flächen von vorneherein bestimmt werden kann (HOSIUS et al. 2000).

Unter Berücksichtigung der genannten Aspekte wird im folgenden über die Vorgehensweise, den derzeitigen Stand des Projekts sowie die bis dato vorliegenden vorläufigen Ergebnisse berichtet.

Diese Untersuchungen wurden u.a. im Rahmen von zwei Werkverträgen durchgeführt: „Isoenzymatische Charakterisierung von ausgewählten Weißtannen (*Abies alba*) (potentielle Plusbäume) in 31 rheinland-pfälzischen Beständen“ sowie „Isoenzymatische Untersuchung an ausgewählten rheinland-pfälzischen Weißtannen (*Abies alba*) zur Etablierung von zwei Erhaltungs-Klonsamenplantagen“.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

2.1.1 Auswahl von Weißtannen für eine genetische Inventur des Weißtannenvorkommens in Rheinland-Pfalz

Die Auswahl der zur genetischen Inventur geeigneten Weißtannenvorkommen mit Beständen oberhalb 500 m ü. NN [(sub)montane Höhenstufe] bzw. Beständen bis 350 m ü. NN (kolline Höhenstufe) wurde auf der Grundlage des Forsteinrichtungswerks mit Stand 1996 vorgenommen, als Vorgabe diente ein Bestandesmindestalter von 100 Jahren. Die im Herbst 1997 durchgeführte Auswahl der Bäume berücksichtigte die jeweils vitalsten Exemplare eines jedes Bestandes, die dann nachfolgend beprobt und per Isoenzymanalyse an 16 verschiedenen Genorten genetisch charakterisiert wurden (ISOGEN 1997). Insgesamt wurden 311 Bäume ausgewählt. In der Tabelle 1 sind die betroffenen Forstamtsbereiche sowie die Anzahlen der forstamtsweise ausgewählten Bäume aufgelistet.

Tab. 1: Übersicht über die Anzahl der 1997 ausgewählten Weißtannen in den Forstämtern mit Beständen oberhalb 500 m ü. NN bzw. Beständen bis 350 m ü. NN.

An overview of the number of European silver fir trees selected 1997 in the forest districts containing stands above 500 m a.s.l. and stands up to 350 m a.s.l. (above sea level: a.s.l.).

| Forstamt | Anzahl ausgewählter Weißtannen | Forstamt | Anzahl ausgewählter Weißtannen |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Bestände bis 350 m ü. NN | | Bestände oberhalb 500 m ü. NN | |
| Bad Bergzabern | 10 | Bad Bergzabern | 10 |
| Bernkastel | 10 | Bernkastel | 18 |
| Cochem | 10 | Hermeskeil | 20 |
| Dahn | 19 | Hillesheim | 11 |
| Elmstein | 24 | Johanniskreuz | 23 |
| Eppenbrunn | 10 | Kempfeld | 33 |
| Kirn | 10 | Landau | 20 |
| Landau | 11 | Mayen | 10 |
| Osburg | 4 | Osburg | 6 |
| Quint | 11 | Prüm | 11 |
| St. Goar | 10 | | 10 |
| Traben-Trarbach | 11 | | |
| Zell | 10 | | |
| | S = 149 | | S = 162 |
| S (gesamt) = 311 | | | |

2.1.2 Auswahl von Weißtannen zur Etablierung von Generhaltungssamenplantagen


Der Auswertung der genetischen Inventur der rheinland-pfälzischen Vorkommen von Weißtannen und der Bewertung der Ergebnisse folgte im Frühjahr 1998 - ebenfalls auf der

Grundlage des Forsteinrichtungswerks mit Stand 1996 - die landesweite Auswahl von 266 Plusbäumen unmittelbar nach.

Hierzu wurden die Bäume aufgrund ihrer überdurchschnittlichen Vitalität, hervorragenden Schaftformen und anderen phänotypischen Merkmalen wie Feinastigkeit bonitiert. Es ist davon auszugehen, dass auch in den Beständen gerade diese Bäume wegen ihrer dominierenden sozialen Stellung einen besonders großen Beitrag zur Pollen- und Samenproduktion leisten. Im einzelnen wurden bei der Auswahl folgende Merkmale berücksichtigt: Schaftform, Astreinigung, Kronenform, Ästigkeit, Wasserreiser, Rinde, Kronenzustand, Färbung der Nadeln, Frostrisse, Mistelbefall sowie Zapfenbehang. Je Bestand wurden dabei zwischen einem und 31 Plusbäumen ausgewählt.

Mutterbaum/Plusbaum - Aufnahmebogen

Baum Nr. 63 Ausgewählt durch: Prof. Gagov am: 20.02.1997



Baum Abkürzung: Abies alba Mill. Baumart: _____

1 Baum-Abkürzung: _____

2 Baumart: Waldkiefer

Forstamt: Daun

Betriebsbezirk: Forstrevier 08

Forstort: _____

Abteilung: 10 c Wallenborn

Eigentümer: Gemeindewald

Lage im Bestand: elche Kartonskizze

3 Alter: 124 Jahre

4 Höhe: 30,0 m

5 Höhe Kronenansatz: 17,0 m

6 Kronenlänge: 22,0 m

7 Durchmesser in 1,3 m: 20,0 cm

8 Bonität: 92,3 cm

9 Wertklasse: _____

10 Auswahlgründe: Vitalität, Qualität ++

11 Schaftform: 1 zweischneig 2 einischneig 3 keilförmig 4 dreieckig 5 ohne Baden 6 mit Baden 7 vollbedigt 8 abtollig

12 Astreinigung: 1 gut 2 mittel 3 schlecht

13 Kronenform: 1 pyramidal 2 waagrecht 3 hufelförmig 4 kornförmig 5 kopfglat 6 zylindrisch 7 kegelförmig 8 abgerundet 9 eiförmig 10 Stocherkraut 11 dicke Krone 12 lockere Krone 13 schmale Krone 14 braue Krone

14 Ästigkeit: 1 fein 2 mittel 3 grob

15 Wasserreiser: 1 ohne 2 einzeln 3 mit

16 Rinde: 1 hell 2 dunkel 3 glatt 4 ritzig (Risse) 5 plattf. 6 erzf. 7 festsf.

17 Gesundheitszustand: 1 gesund 2 leicht geschäd. 3 stark geschäd. 4 ohne 5 gering 6 stark 7 ohne 8 einzeln 9 massenhaft 10 ohne 11 kurze, einzeln 12 zahlreich

18 Farbe Blüten G: 1 gelb 2 rot

19 Farbe Samen: 1 hellgrün 2 braun 3 grünlich 4 violettbraun

20 Zapfenbehang: 1 schwach 2 gut 3 sehr gut 4 verzorjelt

21 Isoenzymanalyse

| Genort | Genotyp | homozygot | heterozygot |
|---------|---------|-----------|-------------|
| 1 ACOA | 22 | (X) | () |
| 2 APA | 22 | (X) | () |
| 3 GOT-A | 22 | (X) | () |
| GOT-B | 23 | () | (X) |
| GOT-C | 22 | (X) | () |
| 4 EHA | 12 | () | (X) |
| 5 BHA | 12 | (X) | () |
| 6 NHA | 33 | (X) | () |
| 7 MHA | 19 | () | (X) |
| 8 MHC | 23 | () | (X) |
| 9 PMA | 22 | (X) | () |
| 10 PMA | 22 | (X) | () |
| 11 PGDA | 33 | (X) | () |
| 12 PGDA | 22 | (X) | () |
| 13 PGB | 22 | (X) | () |
| 14 PGB | 22 | (X) | () |
| 15 PGB | 22 | (X) | () |
| 16 PGB | 22 | (X) | () |
| 17 PGB | 22 | (X) | () |
| 18 PGB | 22 | (X) | () |
| 19 PGB | 22 | (X) | () |
| 20 PGB | 22 | (X) | () |
| 21 PGB | 22 | (X) | () |
| 22 PGB | 22 | (X) | () |
| 23 PGB | 22 | (X) | () |
| 24 PGB | 22 | (X) | () |
| 25 PGB | 22 | (X) | () |
| 26 PGB | 22 | (X) | () |
| 27 PGB | 22 | (X) | () |
| 28 PGB | 22 | (X) | () |
| 29 PGB | 22 | (X) | () |
| 30 PGB | 22 | (X) | () |
| 31 PGB | 22 | (X) | () |
| 32 PGB | 22 | (X) | () |
| 33 PGB | 22 | (X) | () |
| 34 PGB | 22 | (X) | () |
| 35 PGB | 22 | (X) | () |
| 36 PGB | 22 | (X) | () |
| 37 PGB | 22 | (X) | () |
| 38 PGB | 22 | (X) | () |
| 39 PGB | 22 | (X) | () |
| 40 PGB | 22 | (X) | () |
| 41 PGB | 22 | (X) | () |
| 42 PGB | 22 | (X) | () |
| 43 PGB | 22 | (X) | () |
| 44 PGB | 22 | (X) | () |
| 45 PGB | 22 | (X) | () |
| 46 PGB | 22 | (X) | () |
| 47 PGB | 22 | (X) | () |
| 48 PGB | 22 | (X) | () |
| 49 PGB | 22 | (X) | () |
| 50 PGB | 22 | (X) | () |
| 51 PGB | 22 | (X) | () |
| 52 PGB | 22 | (X) | () |
| 53 PGB | 22 | (X) | () |
| 54 PGB | 22 | (X) | () |
| 55 PGB | 22 | (X) | () |
| 56 PGB | 22 | (X) | () |
| 57 PGB | 22 | (X) | () |
| 58 PGB | 22 | (X) | () |
| 59 PGB | 22 | (X) | () |
| 60 PGB | 22 | (X) | () |
| 61 PGB | 22 | (X) | () |
| 62 PGB | 22 | (X) | () |
| 63 PGB | 22 | (X) | () |
| 64 PGB | 22 | (X) | () |
| 65 PGB | 22 | (X) | () |
| 66 PGB | 22 | (X) | () |
| 67 PGB | 22 | (X) | () |
| 68 PGB | 22 | (X) | () |
| 69 PGB | 22 | (X) | () |
| 70 PGB | 22 | (X) | () |
| 71 PGB | 22 | (X) | () |
| 72 PGB | 22 | (X) | () |
| 73 PGB | 22 | (X) | () |
| 74 PGB | 22 | (X) | () |
| 75 PGB | 22 | (X) | () |
| 76 PGB | 22 | (X) | () |
| 77 PGB | 22 | (X) | () |
| 78 PGB | 22 | (X) | () |
| 79 PGB | 22 | (X) | () |
| 80 PGB | 22 | (X) | () |
| 81 PGB | 22 | (X) | () |
| 82 PGB | 22 | (X) | () |
| 83 PGB | 22 | (X) | () |
| 84 PGB | 22 | (X) | () |
| 85 PGB | 22 | (X) | () |
| 86 PGB | 22 | (X) | () |
| 87 PGB | 22 | (X) | () |
| 88 PGB | 22 | (X) | () |
| 89 PGB | 22 | (X) | () |
| 90 PGB | 22 | (X) | () |
| 91 PGB | 22 | (X) | () |
| 92 PGB | 22 | (X) | () |
| 93 PGB | 22 | (X) | () |
| 94 PGB | 22 | (X) | () |
| 95 PGB | 22 | (X) | () |
| 96 PGB | 22 | (X) | () |
| 97 PGB | 22 | (X) | () |
| 98 PGB | 22 | (X) | () |
| 99 PGB | 22 | (X) | () |
| 100 PGB | 22 | (X) | () |

Anzahl polymorphe Genorte: 11 Heterozygotengrad: 30%

Sonstige typische Merkmale: _____

Höhe über NN: _____ m Niederschlag: _____ mm/Jahr mm/Veg. Temperatur: _____ °C/Jahr °C/Veg.

Wuchsgelände: _____ Wuchzonen: Waldzone Waldzone

Grundgestein: Unterkalke (Tonsteine)

Abb. 1: Beispiel eines Mutterbaum/Plusbaum-Aufnahmebogens (Baum-Nr. 63, Abt. 10c, Gemeindewald Wallenborn im FA Daun).

Fig. 1: An example of a passport sheet for registering mother trees resp. plus-trees (tree no. 63, Compartment 10c, community forest Wallenborn in the forest district Daun).

Aus den 266 Plusbäumen, die für eine Klonsammlung mit Generhaltungscharakter (nachfolgend „Klonarchiv“ genannt) aufgenommen werden sollten, wurden in einem weiteren Schritt 110 besonders herausragende Plusbäume selektiert, um diese in einer sog. „Elite-Erhaltungsklonsamenplantage“ (im folgenden als „Eliteplantage“ bezeichnet) zusammenzuführen. Bei der Auswahl dieser Bäume wurden nochmals sehr hohe

Anforderungen an ihre Vitalität und Schaftqualität wie auch an den Zapfenbehang gestellt. Darüber hinaus wurde z.T. auch der individuelle Heterozygotiegrad berücksichtigt.

Tab. 2: Übersicht über die Lage der Ursprungsbestände [Forstamtsbereich (Wuchsgebiet)] sowie Anzahl der ausgewählten Weißtannen-Plusbäume.

An overview of the origin of the stands [forest district (growing area)] and the number of selected European silver fir plus-trees.

| <i>Forstamt</i> | <i>Anzahl Plusbäume</i> | <i>Forstamt</i> | <i>Anzahl Plusbäume</i> |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| Bad Dürkheim (Pfälzerwald) | 13 | Bad Bergzabern (Pfälzerwald) | 16 |
| Daun (Osteifel) | 31 | Bernkastel (Hunsrück) | 6 |
| Elmstein (Pfälzerwald) | 22 | Dahn (Pfälzerwald) | 1 |
| Gerolstein (Westeifel) | 20 | Hochwald (Saarbergland) * | 1 |
| Hermeskeil (Hunsrück) | 20 | Kirchberg (Hunsrück) | 2 |
| Hillesheim (Westeifel) | 19 | Kirchen (Siegerland) | 1 |
| Hinterweidenthal (Pfälzerwald) | 29 | Osburg (Hunsrück) | 10 |
| Kelberg (Osteifel) | 18 | Saar-Mosel (Hochwald und Vorland) * | 3 |
| Lambrecht (Pfälzerwald) | 22 | Schönau (Pfälzerwald) | 26 |
| | | Simmern (Hunsrück) | 6 |
| | S = 194 | | S = 72 |
| S (gesamt) = 266 | | * Saarland | |

Wie in Tab. 2 aufgeführt, entstammen die ausgewählten Bäume 17 in Rheinland-Pfalz sowie außerdem noch zwei im nördlichen Saarland gelegenen Forstamtsbereichen (ISOGEN 1998).

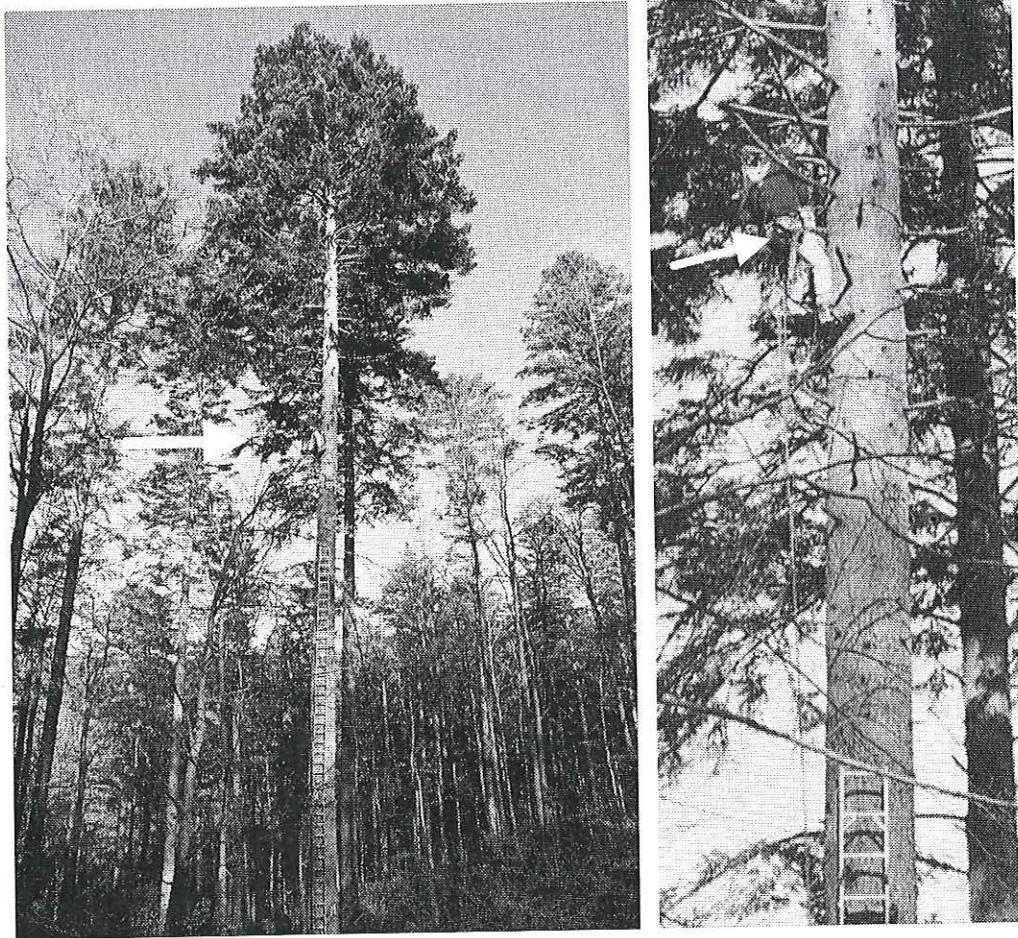
2.1.3 Untersuchungsmaterial für die Isoenzymanalyse

Als Untersuchungsmaterial dienten Ruheknospen, welche durch Abschneiden von Ästen der ausgewählten Bäume gewonnen wurden. Diese wurden frisch verarbeitet, die Enzymproben nach Standardmethoden aufbereitet und nach der elektrophoretischen Auftrennung enzyspezifisch angefärbt.

2.1.4 Pfpfreisergewinnung für die Anlage der Generhaltungssamenplantagen

Die Pfpfreiser, durch Baumsteiger aus der Lichtkrone der ausgewählten Bäume entnommen, wurden für die Etablierung der Eliteplantage im Frühjahr 1999, die zusätzlichen Pfpfreiser für die Einrichtung des Klonarchivs im Frühjahr 2000 geworben (siehe Abb. 2).

Im April/Mai des jeweiligen Jahres erfolgte die Pfpfung auf der entsprechenden Fläche auf dort 1998 bzw. 1999 eingebrachten Unterlagen („Freilandpfpfung“) (siehe hierzu Abb. 3).



Fotos: P. Heintzen

Abb. 2: Pfröpfisergewinnung per Baumsteiger mit Leitereinsatz am Beispiel des Mutterbaums Nr. 63 (siehe hierzu auch Abb. 1). Der Pfeil deutet auf den Baumsteiger am Stamm unterhalb des Kronenbereichs hin (vergrößerter Bildausschnitt rechtes Bild).

Fig. 2: Sampling of scions by a tree climber using a special ladder as exemplified by the sampling action on mother tree no. 63 (cf. also Fig. 1). The arrow points to the tree climber on the bole below the crown area (details given in the right photo).

2.2 Die verwendeten Isoenzym-Genmarker

Für die Weißtanne haben sich die in Tab. 3 aufgeführten Enzymsysteme mit den entsprechenden Genorten als Isoenzym-Genmarker geeignet erwiesen (HUSSENDÖRFER et al. 1995). Bei den hier vorgenommenen Untersuchungen waren allerdings fünf durchgängig monomorph, d.h. invariabel.

2.3 Datenregistrierung und -auswertung

Die gemessenen und bonitierten Daten wurden für jeden Einzelbaum in einem individuellen Mutterbaum/Plusbaum-Aufnahmebogen („Passportblatt“) festgehalten; in diesen wurden

ebenso die Daten der genetischen Untersuchung (Genorte und Heterozygotiegrad) eingetragen (vgl. hierzu Abb. 1 mit dem Beispiel Baum Nr. 63).

Tab. 3: Übersicht über die untersuchten Enzymsysteme (EC Referenznummern) und kodierende Genorte.
A list of the enzyme systems analyzed (EC reference numbers) and coding gene loci.

| <i>Enzymsystem (Abk.)</i> | <i>EC Ref.</i> | <i>Genort</i> |
|---|----------------|--|
| Aconitase (ACO) | 4.2.1.3 | ACO-A |
| Alaninaminopeptidase (AP) | 3.4.11.1 | AP-A |
| Glutamatoxalacetat-Transaminase (GOT) | 2.6.1.1 | GOT-A GOT-B GOT-C |
| Isocitratdehydrogenase (IDH) | 1.1.1.42 | IDH-A IDH-B |
| Malatdehydrogenase (MDH) | 1.1.1.37 | MDH-A MDH-C |
| Menadionreductase (MNR) | 1.6.99.2 | MNR-A |
| Phosphoglucomutase (PGM) | 2.7.5.1 | PGM-A (monomorph) PGM-B (monomorph) |
| 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH) | 1.1.1.44 | 6-PGDH-A 6-PGDH-B (monomorph) |
| Phosphoglucose Isomerase (PGI) | 5.3.1.9 | PGI-A (monomorph) PGI-B (monomorph) |

Die angefallenen genetischen Daten der 266 Weißtannen wurden nachfolgend dahingehend verwendet, um

- (1) die genetische Strukturierung der ausgewählten Mutterbäume mit den Daten der im Vorjahr durchgeführten Inventur zu vergleichen sowie
- (2) Entscheidungshilfen für die in die Eliteplantage einzubringenden Klone auf genetischer Grundlage zu erarbeiten.

Die Berechnung der populationsgenetischen Maße erfolgte nach dem populationsgenetischen Statistikprogramm GSED nach GILLET (1994).

2.4 Anlage der Flächen der Generhaltungssamenplantagen

2.4.1 Die Eliteplantage

Die 3 ha große Eliteplantage wurde im Frühjahr 1998 mit der Aussaat von jeweils 3 Unterlagenpflanzen (2+3-jährige Weißtannen aus der Baumschule) an jedem Pflanzplatz im

7 x 7 m-Verband im FA Kusel angelegt. Als Beschattungspflanzen wachsen dort Bergahorn und Winterlinde. Im darauffolgenden Frühjahr 1999 wurden an den insgesamt 692 Pflanzplätzen die Freilandpfropfung unter der fachlichen Leitung von V. Gagov mit den ausgewählten Weißtannenklonen vorgenommen.

2.4.2 Das Klonarchiv

Das 3 ha große Klonarchiv im FA Kusel wurde im Frühjahr 1998 mit der Auspflanzung von jeweils 3 Unterlagenpflanzen (2+3-jährige Weißtannen aus der Baumschule) an jedem Pflanzplatz ebenfalls im 7 x 7 m-Verband angelegt. Insgesamt sind 798 Pflanzplätze vorhanden, so dass für die 266 ausgewählten Plusbäume im Mittel 3 Wiederholungen je Klon möglich sind. Die Freilandpfropfung wurde im Frühjahr 2000 unter der Anleitung von V. Gagov eingeleitet.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Die Rassenzugehörigkeit der ausgewählten Weißtannen

In der 1997 durchgeführten Inventur wurden 311 Plusbäume aus 32 rheinland-pfälzischen Weißtannenbeständen mit Hilfe arealspezifischer Allele hinsichtlich ihrer Rassenzugehörigkeit mit den Befunden von KONNERT & BERGMANN (1995) zu den glazialen Refugialräumen bzw. postglazialen Rückwanderungswegen nach Mitteleuropa verglichen. (siehe Abb. 4). Die rheinland-pfälzischen Bestände zeigen dabei typische Isoenzym-Verteilungsmuster des Schwarzwaldes und der Vogesen. Die genetischen Strukturen der tiefer gelegenen Bestände (bis 350 m ü. NN) unterscheiden sich dabei nicht von denen der oberhalb von 500 m ü. NN gelegenen Bestände.

Die 1998 für die Einrichtung der Weißtannen-Erhaltungssamenplantagen ausgewählten Plusbäume zeigen ebenfalls eindeutig die Häufigkeitsverteilungen der arealspezifischen Allele der über den Westalpenweg eingewanderten Weißtannenrasse, hingegen keine Strukturen der Rassen des Ostalpenwegs bzw. des Balkans (vgl. Abb. 4).

Somit ist mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass sich unter den für Samenplantagenflächen ausgewählten Plusbäumen nur Individuen der Rasse des westlichen Rückwanderwegs befinden. Damit ist auch gewährleistet, dass nur vegetativ vermehrte Abkömmlinge von solchen Individuen in die Samenplantagenflächen aufgenommen werden, die an die rheinland-pfälzischen Umweltbedingungen angepasst sind und ein entsprechendes Spektrum an genetischer Vielfalt in sich tragen.

Tab. 4: Vergleich arealspezifischer Allele verschiedener autochthoner Weißtannenvorkommen mit den rheinland-pfälzischen Plusbaumkollektiven von 1997 und 1998 (Angaben der Allelhäufigkeiten in Prozent, letzte Spalte: W = Westalpenweg, O = Ostalpenweg, B = Balkan).

Comparison of area-specific alleles of different autochthonous European silver fir occurrences with the Rhineland-Palatinate plus-trees sampled in 1997 and 1998 allele frequencies in %, right column, W: West Alpine postglacial remigration route; O: East Alpine route; Balkan refugium

| Diskriminierende Allele | AP A ₁ | AP A ₃ | GOT B ₁ | GOT B ₃ | MNR A ₁ | 6PGDH B ₃ | Zuordnung |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------|
| Populationen | | | | | | | |
| Westalpenweg (W) | | | | | | | |
| Vogesen | | 15 | | 13 | 17 | | W |
| Südschwarzwald | | 18 | | 16 | 8 | | W |
| Ostalpenweg (O) | | | | | | | |
| Nordostbayern | | 6 | | 3 | | | O |
| Lauter Erzgebirge | | 7 | | 2 | | | O |
| Balkanrefugium (B) | | | | | | | |
| Westkarpaten Rumänien | 3 | | 2 | | | 2 | B |
| Rhodopen Bulgarien | 7 | | | | | 7 | B |
| Rheinland-Pfalz / Saarland | | | | | | | |
| ausgewählte Bäume 1997 | | 18,5 | | 14,5 | 11,6 | 0,2 | W |
| ausgewählte Bäume 1998 | | 20,9 | | 13,3 | 10,2 | | W |

3.2 Die Generhaltungssamenplantagen

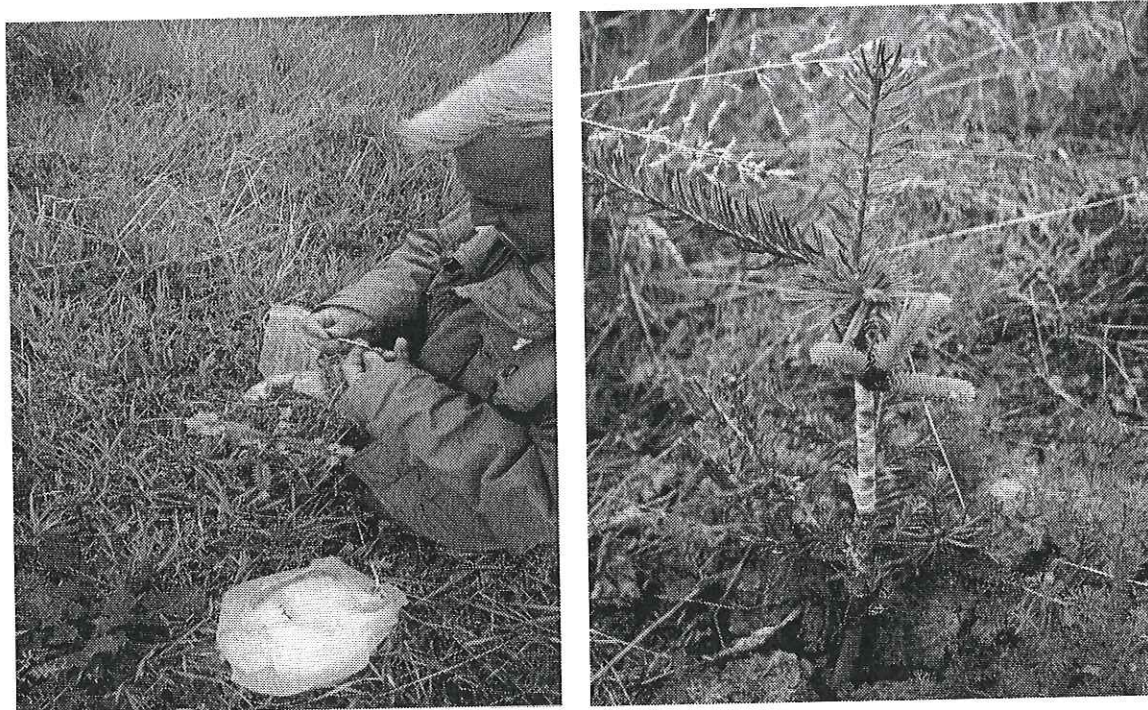
Die Einrichtung der Weißtannen-Erhaltungssamenplantagen dienen in erster Linie der Generhaltung, eine praktische Nutzung, d.h. die Gewinnung von qualitativ hochwertigem Saatgut kann erfahrungsgemäß nach Ablauf von etwa einem Jahrzehnt nach ihrer Einrichtung erfolgen (TABEL & HEINTZEN 1999).

3.2.1 Die Eliteplantage

Bei der Auswahl der 110 Plusbäume/Mutterbäume für die Eliteplantage waren an diese Bäume besonders hohe Anforderungen bezüglich ihrer Vitalität und Schaftqualität wie auch an den Zapfenbehang gestellt worden. Als genetisches Merkmal fand auch der individuelle Heterozygotiegrad Berücksichtigung.

Entsprechend dieser Kriterien ergaben sich dann unterschiedliche Anzahlen von Plusbäumen je Weißtannenvorkommensbereich mit einer Spanne von 1 Plusbaum im FA Dahn bis 15 Plusbäume im FA Schönau. Um die Mutterbaumvorkommen ausgeglichener in der

Samenplantage zu repräsentieren, wurde daher die Anzahl der Ramets je Klon differenziert gewählt. So ist z.B. der im FA Dahn ausgewählte Mutterbaum als Klon mit 16 Ramets vertreten, die 15 im FA Schönau ausgewählten Mutterbäume jeweils durch 4-6 Ramets. Im Durchschnitt ist jeder Klon mit 6-7 Ramets vertreten.



Fotos: P. Heintzen

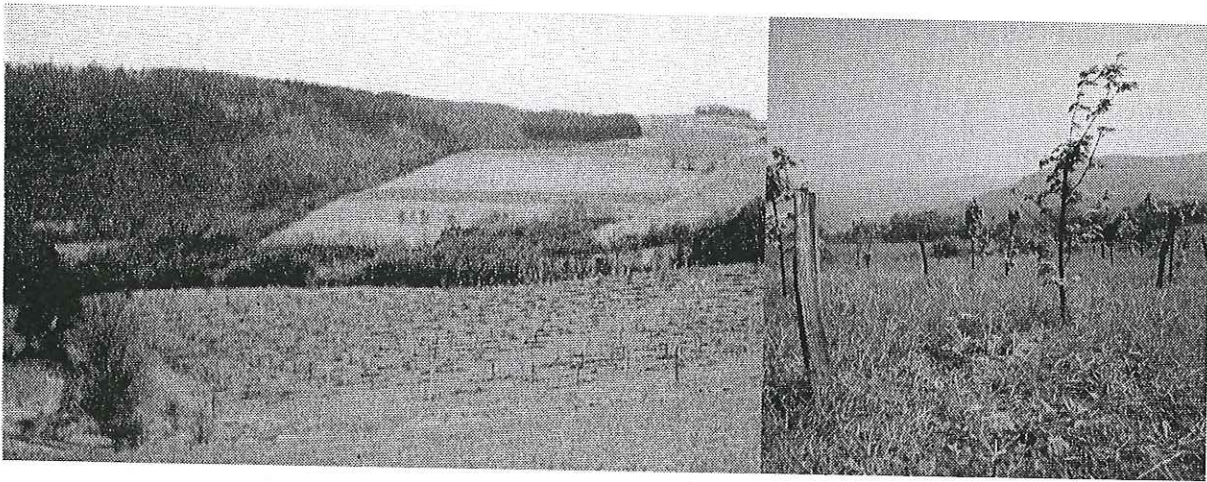
Abb. 3: Foto links: Freilandpfropfung der ausgewählten Weißtannen-Pfropfreiser durch V. Gagov (im Vordergrund: Beutel mit Plastikwundverbänden).
Foto rechts: Gepfropfte Pflanze mit Plastikwundverband an der Pfropfstelle.

Fig. 3: *Left photo: Field grafting of the selected European silver fir scions in the seed orchards by V. Gagov (in the front of the photo: bag containing plastic bandages).
Right photo: Grafted plant secured by a plastic bandage at the graft union.*

Bei der Erstellung des Pflanzplans wurde eine gänzliche Zufallsverteilung für die insgesamt 692 Individuen bewusst vermieden, da durch Zufall manchmal Vertreter desselben Klons eng benachbart stehen. Aus diesem Grund wurden Nachbarschaftsverhältnisse besonders berücksichtigt und ggf. Korrekturen vorgenommen, um die unmittelbare Nachbarschaft von Ramets eines Klons zu vermeiden und zudem jede Wiederholung eines Klons verschiedenen Nachbarn zuzuordnen.

Bei den ursprünglich an jeder Pflanzstelle gepfropften drei Klonpflanzen ist vorgesehen, nur die bestwüchsigste stehen und diese sich für die Zukunft entwickeln zu lassen.

Unter Berücksichtigung des individuellen Vitalitätszustands wird ein Teil der restlichen Pflopflinge zum gegebenen Zeitpunkt in das Klonarchiv umgepflanzt.



Fotos: P. Heintzen

Abb. 4: Blick in einen Teil der Weißtannen-Elitesamenplantagenfläche im FA Kusel mit Beschattungspflanzen Bergahorn und Winterlinde (vergrößerter Ausschnitt Bild rechts).

Fig. 4: A view into the elite seed orchard for European silver fir in the forest district Kusel with shading plants (sycamore maple and small-leaved linden) present (enlarged section in the photo on the right).

3.2.2 Das Klonarchiv

Mit insgesamt 798 vorhandenen Pflanzplätzen ist diese Samenplantagenfläche dafür vorgesehen, alle 266 ausgewählten Plusbäume als Klone in (theoretisch) 3-facher Wiederholung aufzunehmen. In dieser Fläche befinden sich mittlerweile die Pflopflinge aller Mutterbäume, welche in die Eliteplantage nicht aufgenommen worden waren. Zudem sind bereits einige gutwüchsige Pflopflinge aus der Eliteplantage in diese Fläche verbracht worden, was nunmehr nach und nach bis zur Komplettierung der Fläche fortgesetzt wird.

3.3 Die genetischen Strukturen in den beiden Weißtannen-Erhaltungsklonsamenplantagen

3.3.1 Heterozygotiegrad

Höhere Heterozygotiegrade in einer Gehölzpopulation werden in der Forstgenetik im allgemeinen dahingehend positiv bewertet, dass damit für die Nachkommenschaft ein größeres genetisches Potential für die physiologische Anpassungsfähigkeit zur Verfügung steht.

Für die Erzeugung von ökologisch angepasstem und genetisch vielfältigem Vermehrungsgut ist es somit unerlässlich, eine große Anzahl an allelischen Varianten in die Samenplantage einzubringen. Die Heterozygotie in der Elternpopulation ist insofern von Bedeutung, als diese in unter Zufallspaarung entstandenen natürlichen Populationen auch Ausdruck hoher Vielfalt und Diversität ist. So sind im Wesentlichen Vielfalt und Diversität der Elternpopulation die Grundlage für Vielfalt und Diversität in der Nachkommenschaft. Darüber hinaus sind die Resultate hinsichtlich des mittleren Heterozygotiegrades im Saatgut abhängig von der Verteilung der Allele in den Samenern und in der Pollenwolke sowie vom realisierten Paarungssystem.

Um für die beiden Samenplantagenflächen eine diesbezügliche Einschätzung zu gewinnen, wurden die mittleren Heterozygotiegrade des Klonarchivs und der Eliteplantage mit den Referenzdaten aus der Inventur 1997 verglichen.

Die Abb. 5 gibt die Verteilung der mittleren Heterozygotiegrade für die drei Untersuchungskollektive wider. Die meisten Bäume im Klonarchiv sind an zwei bzw. drei der 16 analysierten Genorten und die meisten der 1997 inventierten Bäume an drei Genloci heterozygot besetzt. Die Verteilungen der heterozygot besetzten Genorte des Klonarchivs und der 1997 untersuchten Plusbäume gleichen sich ansonsten weitgehend. Die Kurve der Eliteplantage ist dagegen nach rechts hin zu höheren Heterozygotiegraden verschoben. An den untersuchten Genorten wurde dafür kein absolut homozygot besetzter Plusbaum ausgewählt, und nur ein einziger Baum mit einem einzigen heterozygot besetzten Genort wurde in die Eliteplantage eingebracht. Da bei der Auswahl der Plusbäume für die Eliteplantage der individuelle Heterozygotiegrad als ein der Vitalität, Kronen- und Schaffform nachgeordnetes Auswahlkriterium gewertet wurde, ist zu vermuten, dass ein über dem Durchschnitt liegender Heterozygotiegrad für einen besonders vitalen Phänotyp durchaus mitverantwortlich sein könnte.

Im Mittel beträgt der mittlere Heterozygotiegrad über alle untersuchten Genorte im Klonarchiv 20,8%; bei den 1997 untersuchten Bäumen ist er mit 20,3% nur unwesentlich geringer. Die Eliteplantage besitzt mit 25,4% einen etwas höheren Heterozygotiegrad. Dieser Umstand ist besonders erwähnenswert, da mit PGM-A und PGM-B, 6-PGDH-B sowie PGI-A und PGI-B fünf der in den drei Kollektiven untersuchten 16 Genorte durchgängig monomorph sind und an diesen Genorten demzufolge keine Heterozygoten auftreten können.

3.3.2 Die genetische Diversität und Differenzierung

In Tab. 5 sind als Beispiel für die genetische Diversität und Differenzierung die berechneten Werte der allelischen Variationsmaße der beiden Samenplantagenflächen im Vergleich zur Inventur 1997 dargestellt.

Demzufolge gleichen sich das Klonarchiv und die landesweite Inventur von 1997, wohingegen sich für die Eliteplantage geringfügig erhöhte Werte ergeben.

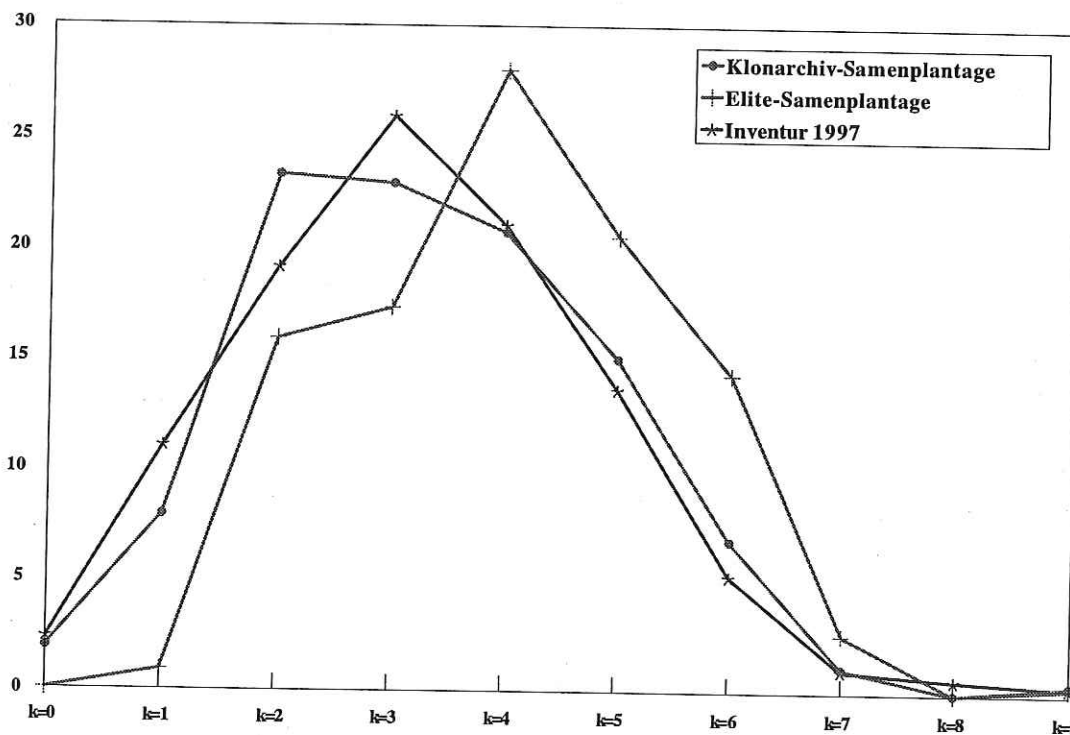


Abb. 5: Prozentuale Verteilung der Heterozygotiegrade in den Kollektiven Klonarchiv, Eliteplantage und „Inventur 1997“

Fig. 5: Proportion (%) of the heterozygosities in the pooled samples Clone archive, elite seed orchard and "inventory 1997".

Bei der Auswahl der Plusbäume für die Eliteplantage war der besonders vitale Phänotyp das wichtigste Entscheidungsmerkmal. Neben der Schaftqualität und der Ausformung der Krone wurde die Feinstastigkeit sowie der Zapfenbehang berücksichtigt.

Tab. 5: Maße der genetischen Variation in den Kollektiven Klonarchiv, Eliteplantage und "Inventur 1997".
Measures of genetic variation in the pooled samples clone archive, elite seed orchard and "inventory 1997".

| Variationsmaße | Klonarchiv | Eliteplantage | Inventur 1997 |
|---|------------|---------------|---------------|
| Genpool-Diversität ? | 1,278 | 1,315 | 1,275 |
| Gesamtdifferenzierung des Gen-Pools d_T | 21,8% | 24,0% | 21,6% |

Erst in einem weiteren Selektionsschritt fand der Genotyp Beachtung. So wurden beispielsweise an den untersuchten Genorten absolut homozygot besetzte Bäume aus der Eliteplantage *a priori* ausgeschlossen. Auch Bäume mit sehr hohen Heterozygotiegraden blieben unberücksichtigt, wenn ihr Phänotyp nicht angemessen wertvoll erschien.

Es kann aufgrund der Auswahlkriterien und Ergebnisse der Genpooluntersuchung vermutet werden, dass die Besetzung von Genorten mit unterschiedlichen Allelen im Genotyp eines Baumes mit dazu beigetragen hat, dass sich der Baum mit höheren Heterozygotiegraden phänotypisch besonders gut entwickeln konnte.

Dieser Umstand kann auch damit begründet werden, dass ein hoher individueller Heterozygotiegrad als sicheres Indiz dahingehend gewertet werden kann, dass das Individuum nicht aus Verwandtenpaarung oder Inzucht hervorgegangen ist.

4 Ausblick

Mit der Einrichtung der beiden Generhaltungsklonsamenplantagen mit einer großen Zahl an abgepfropften, genetisch identifizierten Weißtannen schwerpunktmäßig aus den rheinland-pfälzischen Vorkommen wurde ein umfangreiches Projekt im Rahmen von *ex situ*-Maßnahmen hinsichtlich der Förderung und Sicherung der genetischen Ressourcen dieser Baumart durchgeführt. Es ist zu erwarten, dass nach etwa einem Jahrzehnt aus diesen Samenplantagen ökologisch angepasstes und genetisch vielfältiges, d.h. sehr wertvolles Vermehrungsgut für die Wälder in Rheinland-Pfalz zur Verfügung stehen wird.

5 Literatur

ANONYMUS (1989): Konzept zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland (erarbeitet von der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Erhaltung forstlicher Genressourcen“). *Forst und Holz*, 44, S.379-404.

ANONYMUS (1998): Landtag Rheinland-Pfalz, Drucksache 13/3296, In: Ministerium für Umwelt und Forsten Rheinland-Pfalz (Hrsg.): Nachhaltige Waldbewirtschaftung – Nachhaltigkeitsbericht, S.48.

BERGMANN, F. (1995): Genetische Untersuchungen an mittel- und osteuropäischen Weißtannen im Hinblick auf ihre historische Verbreitung. In: Schriftenreihe der Sächsischen Landesanstalt für Forsten „Genetik und Waldbau der Weißtanne, Teil 1 Beiträge zum Kolloquium, S.28-35.

BREITENBACH-DORFER, M.; MÜLLER, F.; HACKER, R. & PINSKER, W. (1993): Genetische Untersuchungen heimischer Tannenherkünfte. *Österreichische Forstzeitung*, 2, S.9-11.

EDER, W. (1987): Überlegungen zum Anbau der Weißtanne in Rheinland-Pfalz (Bundesrepublik Deutschland. In: L. PAULE & S. KORPEL (Zusammenstellung): Ergebnisse des 5. IUFRO-Tannensymposiums in Zvolen (Slowakische Republik) am 3.-5.9.1987, S.401-409.

GAGOV, V. & MAURER, W.D. (2002): Die Weißtanne (*Abies alba* Mill.) – eine Schlüsselbaumart für den Waldumbau in Rheinland-Pfalz. *Forst und Holz*, 57.Jg., S.16-19.

- GILLET, E. (1994):** Genetic structures from electrophoresis data – GSED computer program, User's Manual, 49 Seiten.
- HATTEMER, H.H., BERGMANN, F. & ZIEHE, M. (1993):** Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft. 2., neubearbeitete und erweiterte Auflage. J.D. Sauerländer's Verlag Frankfurt am Main, S. 195ff.
- HOSIUS B., BERGMANN F., KONNERT, M. & HENKEL W. (2000):** A Concept for seed orchards based on isoenzyme gene markers. *Forestry, Ecology and Management*, 131, S.143-152.
- HUSSENDÖRFER, E. & MÜLLER-STARCK, G. (1994):** Genetische Inventuren in Beständen der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) – Aspekte der nacheiszeitlichen Wanderungsgeschichte. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen*, 145, Heft 12, S.1021-1029.
- HUSSENDÖRFER, E. KONNERT, M. & BERGMANN, F. (1995):** Inheritance and linkage of isozyme variants of silver fir (*Abies alba* Mill.). *Forest Genetics*, 2(1), S.29-40.
- ISOGEN (1997):** Isoenzymatische Charakterisierung von ausgewählten Weißtannen (*Abies alba* - potentielle Plusbäume) in 31 rheinland-pfälzischen Beständen. Interner Abschlußbericht FVA Trippstadt, 17 Seiten + Anhang.
- ISOGEN (1998):** Isoenzymatische Charakterisierung von ausgewählten rheinland-pfälzischen Weißtannen (*Abies alba*) zur Etablierung von zwei Erhaltungs-Klonsamenplantagen. Interner Abschlußbericht FVA Trippstadt, 13 Seiten + Anhang.
- KONNERT, M. (1993):** Untersuchungen über die genetische Weißtanne (*Abies alba* MILL.) in Bayern. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 164.Jg., 9/10, S.162-169.
- KONNERT, M. & BERGMANN, F. (1995):** The geographical distribution of genetic variation of silver fir (*Abies alba*, *Pinaceae*) in relation to its migration history. *Plant Systematics and Evolution*, 196, S.19-30.
- MAURER, W.D. & TABEL, U. (1995):** Erhaltung forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 2, S.102-104.
- TABEL, U. & HEINTZEN, P. (1999):** Die Weißtanne in Rheinland-Pfalz. *Forst-Info Rheinland-Pfalz*, 3/99, S.7.

Anschriften der Autoren:

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Dr. Bernhard Hosius, Dr. Ludger Leinemann und Dr. Fritz Bergmann, ISOGEN Arbeitsgemeinschaft am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität Göttingen. Büsgenweg 2, D-37077 Göttingen

Prof. Dr. Velitchko Gagov, Bereich Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Forstliche Fakultät der Forsttechnischen Universität Sofia, BG-1756 Sofia (Bulgarien)

Dr. Walter Eder, Abt. Forsten im Ministerium für Umwelt und Forsten Rheinland-Pfalz, Kaiser-Friedrich-Str. 1, D-55116 Mainz

Genetische Untersuchungen an Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) unterschiedlichen Gesundheitszustands im Lennebergwald und im benachbarten NSG Mainzer Sand

WERNER D. MAURER, WALTER EDER UND UWE TABEL

Keywords: Scots pine, *Pinus sylvestris*, Lennebergwald, strict nature reserve Mainzer Sand, Scots pine decline, isozyme gene marker,

Abstract

Title of the paper: A genetic study on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations of differing health status growing in the Lennebergwald and the adjacent strict nature reserve Mainzer Sand by using isozyme gene markers.

In the 1990's Scots pine stands of younger age were observed in the Lennebergwald near the city of Mainz to exhibit increasingly damage symptoms followed by dye-back. However, this phenomenon did not occur for the so-called "Sand-Kiefer" in the adjacent strict nature reserve "NSG Mainzer Sand" as well as for the old trees growing in the Lennebergwald. This Scots pine decline was explained to happen due to the complex impact of excessive multiplication of bark and borer beetles as a consequence of the wind-throw of 1990, the years 1991/92 of extreme drought, the input of acidic deposition and nitrogen as well as a strong infestation by mistletoe (*Viscum*).

With respect to the reforestation measures required this study followed the question, whether the old Scots pine trees growing in the Lennebergwald differ genetically from the dying Scots pine trees and whether a close relationship exists between these old trees and the Sand-Kiefer. The data obtained indicate a highly probable diverseness between the trees of the dying stand studied and the old trees in the Lennebergwald as well as a close relationship between these old trees and the "Sand-Kiefer". In connection with this study, the State Kiln in Elmstein harvests seeds from the "Sand-Kiefer" and supplies plant material for reforesting relevant areas.

Schlagwörter: Kiefer, *Pinus sylvestris*, Lennebergwald, NSG Mainzer Sand, Sand-Kiefer, Kiefernsterben, Isoenzym-Genmarker

Zusammenfassung

Während in den 1990er Jahren zunehmend Kiefernbestände jüngeren Alters im Lennebergwald bei Mainz Schadsymptome auswiesen und nachfolgend abstarben, wurde dieses Phänomen bei den sog. „Sand-Kiefern“ im direkt angrenzenden Naturschutzgebiet „NSG Mainzer Sand“ und den Altbäumen im Lennebergwald fast nicht beobachtet. Dieses Kiefernsterben wurde mit einer komplexen Einwirkung verschiedener Stressoren wie der Massenvermehrungen von Borken- und Prachtkäfern nach dem Windwurf von 1990, extremen Trockenjahren 1991/92, dem Eintrag von sauren Niederschlägen und Stickstoff sowie einem starker Befall von Kiefernkronen durch Misteln (*Viscum*) erklärt.

Mit Blick auf erforderliche Wiederaufforstungsmaßnahmen wurde mit der vorliegenden isoenzymatischen Studie daher der Frage nachgegangen, inwieweit die im Lennebergwald stockenden Altkiefern sich genetisch von den absterbenden Kiefern unterscheiden und ob sich für diese Altkiefern eine verwandtschaftlich Beziehung mit den Sand-Kiefern erkennen lässt. Aus den erhaltenen Daten ist auf eine durchaus wahrscheinliche Unterschiedlichkeit zwischen den Bäumen des untersuchten abgehenden Bestandes und den Altbäumen im Lennebergwald zu schließen wie auch darauf, dass diese Altbäume und die Sand-Kiefern miteinander verwandt sind. In Verbindung mit dieser Untersuchung werden durch die Klänge Elmstein Beerntungen der Mainzer Sand-Kiefern durchgeführt und das daraus resultierende Pflanzenmaterial zum gegebenen Zeitpunkt zur Bepflanzung entsprechender Flächen zur Verfügung gestellt.

1 Einleitung

Ein Blick aus der Satellitenperspektive lässt den Lennebergwald westlich von Mainz als einen im Schwarzweißbild dunklen Farbklecks (weiß umrahmt) erscheinen, der sich deutlich von der schachbrettartigen helleren Musterung des für Obst-, Wein-, Gemüse- und Feldfrüchteanbaus genutzten rheinhessischen Umlands wie auch von den Siedlungsbereichen der Stadt Mainz und den auf der westlichen Seite des Rheins gelegenen Dörfern abhebt (Abb. 1). Gelegen in einem der wärmsten und trockensten Gebiete Deutschlands stockt er auf einem Teilbereich des Flugsandgebietes zwischen Mainz und Gau-Algesheim, und er stellt mit etwa 700 ha Fläche eines der größten geschlossenen Waldgebiete im waldarmen Rheinhessen dar (HANKE & MAQSUD 1985). Im Norden grenzen die offenen Flächen der Sandgebiete an, wobei das Naturschutzgebiet NSG Mainzer Sand nordöstlich gelegen ist (weißer Pfeil in der Abb. 1). Mit einer Größe von ca. 33 ha umfasst es ein Teilgebiet des welligen, aus holozänen Flugsanden entstandenen Dünengeländes. Wegen seiner überregionalen Bedeutsamkeit hinsichtlich der wenigen erhaltenen Florenelemente aus der Steppenzeit war es 1939 unter dem zunehmenden Siedlungs- und Nutzungsdruck unter Schutz gestellt wurde (Details hierzu siehe bei JUNGBLUTH 1987).

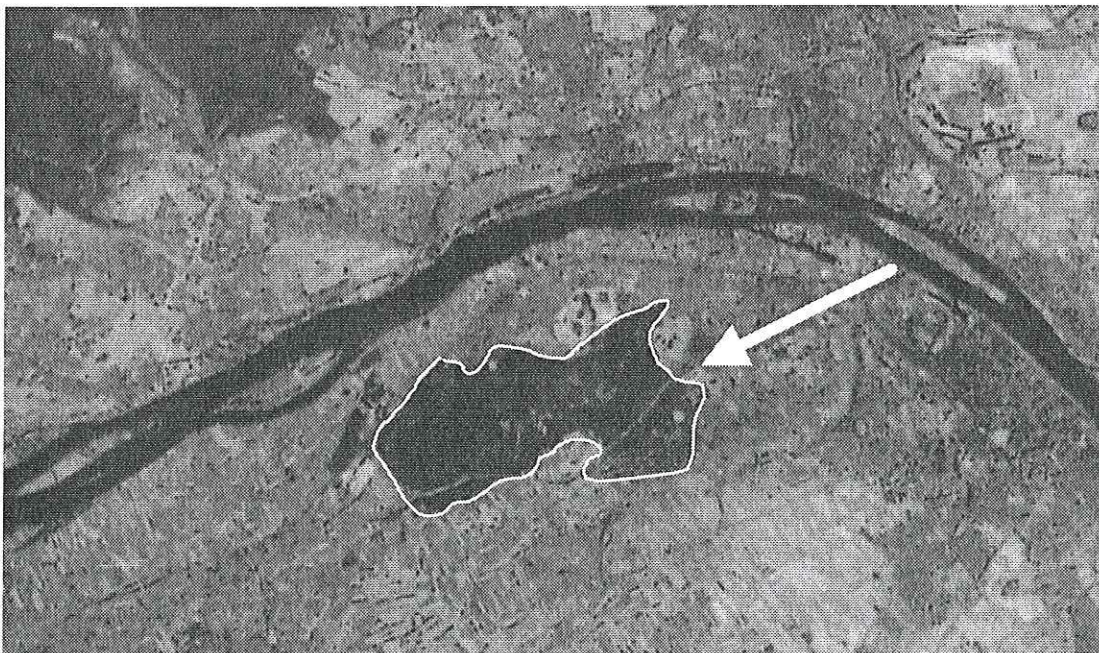


Abb. 1: Satellitenaufnahme des Mainz / Wiesbadener Raums mit dem (in schwarzweiß) dunkel erscheinenden Lennebergwald (Bildmitte) und dem sich im Nordosten anschließenden hellen Bereich des NSG Mainzer Sand (Pfeil). Der Bereich Lennebergwald / Mainzer Sand wird von der Autobahn BAB 643 zerschnitten.

Fig. 1: *Satellite photo of the Mainz / Wiesbaden area showing (in black/white) the Lennebergwald (center) as dark double spot and the light area of the strict nature reserve NSG Mainzer Sand adjacent to the north-east (arrow). The area Lennebergwald / Mainzer Sand is cut by the motorway BAB 643.*

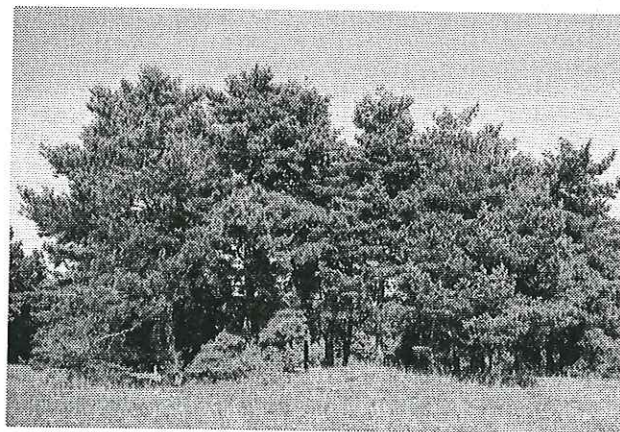
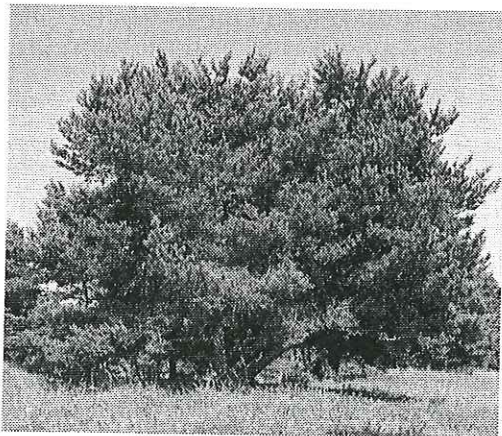
In Mitteleuropa gibt es keine andere Region, die mit ihrer Pflanzen- und Tierwelt so reich an Besonderheiten ist und die heutzutage nahezu ausschließlich im Südosten Europas anzutreffen sind. Auch blickt das Untersuchungsgebiet auf eine lange und bewegte Waldgeschichte zurück. Ohne auf einzelne Details eingehen zu wollen, war die Kiefer als die heute das Gebiet prägende Baumart nachweislich hier immer vorhanden. Etwa 15.200 Jahre alte Anreicherungen von verkohlter Kiefer bezeugen, dass die Kiefer, vermutlich in einer den entsprechenden klimatischen Bedingungen angepassten Form (*Pinus mugo* ssp.) die letzte Eiszeit im Mainzer Raum überdauert haben muss (ANONYMUS 1999). Mit der nacheiszeitlichen Erwärmung kam es zur Ausbildung eines Eichen-Kiefern-Mischwalds, in den nach und nach die Rotbuche einwanderte; diese wurde dann mit der Abkühlung im Subatlantikum zur dominierenden Baumart. Pollenanalysen jedoch belegen für das 8.-9. nachchristliche Jahrhundert, dass die Kiefer in Teilbereichen immer noch prägende Baumart war. Darauf folgte ein Vorherrschen von Eichen-Mischwald und Buche bis um 1500 (ANONYMUS 1999). Seitdem ist der Anteil dieser Laubbaumarten rapide zurückgegangen, da ab dem späten 16. Jahrhundert eine Aufforstung zu einem Kiefernwirtschaftswald erfolgte (ANONYMUS 1990, ZIEHEN 1974). Nach den Kriegswirren ab 1792 zwischen den französischen Revolutionstruppen und den preußischen und österreichischen Armeen, die den Lennebergwald als Aufmarschgebiet nutzten und dabei große Waldteile allem voran für den Schanzenbau rodeten, kam es in den 1830er Jahren durch die neu eingerichteten Forstämter zu einer vollständigen Wiederaufforstung. Um insbesondere Raum für den Spargel- und Obstanbau zu schaffen, wurden ab 1860 wiederum ausgedehnte Rodungen vorgenommen, die dann ab 1900 auch für den Siedlungsbau erfolgten. Die heute verbliebenen ca. 700 ha Waldfläche sind im Besitz des Landes Rheinland-Pfalz und des Zweckverbandes zur Erhaltung des Lennebergwaldes, ein geringer Anteil ist Privateigentum. (Details zur Standortkartierung, siehe BUB 1993).

Hinsichtlich der Herkunft des zu den verschiedenen Zeitpunkten bei den Wiederaufforstungsmaßnahmen verwendeten Kiefern-Vermehrungsguts gibt es keine verbindlichen Angaben. ZIEHEN (1970) benennt die ausschließlich im Bereich des NSG Mainzer Sand und der Sandbodenzone des Lennebergwalds vorkommenden Kiefern als „Darmstadt-Kiefer“, die in der Region auch als „Sand-Kiefer“ bezeichnet wird. Sie ist nach ZIEHEN (1970) jedoch von der „Darmstädter Kiefer“ zu unterscheiden. Erstere hat ihren Namen von einem Waldstück südlich von Darmstadt, wo man sie zuerst fand. Sie zeichnet sich durch besondere Schlechtwüchsigkeit, einem zur Verkrüppelung und Verknorzung neigenden Stamm von maximal 7-10 m Höhe mit ausladender, seitenastreicher, schirmförmiger, pinienartiger Krone aus (vgl. Abb. 2 und Abb. 3).



Foto: W.D. Maurer

Abb. 2: Typische solitäre Altbaum-Exemplare der „Sand-Kiefer“...
Fig. 2: Typical solitary old tree examples of the “Sand-Kiefer”...



Fotos: W.D. Maurer

Abb. 3: ...und „Sand-Kiefer“-Gruppen jüngeren Alters im Bereich des Naturschutzgebiets NSG Mainzer Sand (Aufnahmen: August 2000).
Fig. 3: ...and groups of younger “Sand-Kiefer” trees growing in the area of the strict nature reserve NSG Mainzer Sand (photos taken in August 2000).

Letztere hat ganz ähnliche Eigenschaften und ist besonders anfällig gegenüber Nassschnee. Der Ursprung von letzterer sind vermutlich südosteuropäische, bereits im Jugendalter überreichlich fruchtende Kiefernrasen aus Ungarn und Österreich. Aus diesen Ländern wurden im 19. Jahrhundert Saatgut in großem Umfang eingeführt und vom „Großherzoglich-Hessischen Forstmagazin zu Darmstadt“ weiter vertrieben (ZIEHEN 1970; MEISTER et al. 1984).

Seit den 1990er Jahren waren an Kiefernbeständen des Lennebergwaldes zunehmend Schädigungen zu beobachten, was bis 1997 zum Absterben von ca. 30 ha Kiefernwald geführt hat (ANONYMUS 1999). Auffällig war, dass die Erkrankung durchweg an Beständen mit im 20. Jahrhundert aufgeforsteten Flächen auftrat, wohingegen die älteren Kiefern mit keiner in diesem Ausmaß visuell erkennbaren Schadsymptomatik behaftet erschienen.



Foto: W.D. Maurer

Abb. 4: Kiefernbestand in Abt. 204 mit ca. 60-jährigen Bäumen sowie mit einzelnen Altkiefern (Überhältern) (Aufnahme: August 2000).

Fig. 4: Scots pine stand in the compartment 204 with approximately 60-year-old trees and some dispersed mature trees (hold-over trees) (photo taken in August 2000).

Massenvermehrungen von Borken- und Prachtkäfern nach dem Windwurf von 1990, extreme Trockenjahre 1991/92, der Eintrag von sauren Niederschlägen und Stickstoff sowie ein starker Befall der Kiefernkrone durch Misteln wurden angeführt (ANONYMUS 1999) und dürfen als Ursachen des Krankheitsbildes anzunehmen sein.

Angesichts der offensichtlich stark unterschiedlichen Toleranzen gegenüber den vorgenannten Stressfaktoren wurde das vorliegende genetische Projekt konzipiert, mit dem den Fragen nachgegangen werden sollte,

- (1) inwieweit die im Lennebergwald stockenden Altkiefern mit anderen genetischen Informationen ausgestattet sind, d.h. anderer Herkunft als die absterbenden Kiefern sind und
- (2) ob sich für diese Altkiefern eine verwandtschaftlich Beziehung mit den Sand-Kiefern erkennen lässt.

2 Material und Methoden

2.1 Auswahlbestände und Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsbestände wurden im Sommer 1995 im Forstrevier Lennebergwald drei Kollektive von Kiefernbeständen zur Beprobung von jeweils 50 Einzelbäumen ausgewählt:

- Abt. 302 mit 75-jährigem Kiefernbestand, der zum genannten Zeitpunkt nahezu völlig abgängig war und per Harvester aufgearbeitet wurde (siehe Abb. 5);
- die vorhandenen Altbäume (Überhälter) in der angrenzenden südlich davon gelegenen Abt. 204 (16 Kiefern) und, um die Anzahl von 50 Probebäumen zu erreichen, zusätzlich phänotypisch ähnlich aussehende Altbäume aus der Abt. 208 (18 Kiefern) und der Abt. 101 (16 Kiefern) aus anderen Bereichen des Lennebergwalds (Abt. 204, vgl. Abb. 4) sowie
- Abt. 1, das ist der Bereich des NSG Mainzer Sand mit den dort wachsenden vital aussehenden Sand-Kiefern.

Im Sommer 1995 wurden für eine Voruntersuchung hinsichtlich der Verwendbarkeit für eine genetische Untersuchung benadelte Zweige mit ggf. vorhandenen grünen Zapfen von den gefälltten Bäumen eingesammelt. Die Hauptprobenahme fand im Spätwinter 1996 in allen ausgewählten Untersuchungskollektiven mit der Werbung von Zweigen mit Nadelruheknospen aus dem Kronenbereich der ausgewählten Kiefern statt.

2.2 Untersuchungsmethoden

Zur genetischen Untersuchung des Kiefernmaterials wurde die Methode der Isoenzymanalyse angewandt, bei der die in der Tab. 1 aufgeführten Isoenzym-Genmarker elektrophoretisch aufgetrennt wurden (vgl. hierzu z.B. den Beitrag von KOWNATZKI & MAURER in diesem Band). Die Isolation der Enzyme aus den Nadelruheknospen, ihre elektrophoretische

Auftrennung und die Sichtbarmachung der Isoenzym-Bandenmuster erfolgte nach den für die Baumart Kiefer spezifischen Labormethoden, die im Laborhandbuch von HERTEL & MAURER (1999) beschrieben sind.

Tab. 1: Übersicht über die untersuchten Enzymsysteme mit den kodierenden Enzym-Genorten.
List of the enzyme systems and coding enzyme gene loci under study.

| <i>Enzymsystem (Abk./EC-Nummer)</i> | <i>Quartärstruktur</i> | <i>analysierte Genorte</i> |
|--|------------------------|----------------------------|
| Aspartataminotransferase (AAT/2.6.1.1) | dimer | AAT-A, -B, -C |
| Aconitase (ACO/4.2.1.3) | monomer | ACO |
| Alkoholdehydrogenase (ADH/1.1.1.1) | dimer | ADH-A |
| Aminopeptidase (AP/3.4.11.2) | monomer | AP-A, -B, -C |
| Glutamatdehydrogenase (GDH/1.4.1.2) | polymer | GDH-A |
| Isocitratdehydrogenase (IDH/1.1.1.42) | dimer | IDH-A, -B |
| Leucinaminopeptidase (LAP/3.4.11.1) | monomer | LAP-A, -B |
| Malatdehydrogenase (MDH/ 1.1.1.37) | dimer | MDH-A, -B, -C |
| 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6PGDH/1.1.1.44) | dimer | 6PGDH-B |
| Phosphoglucoseisomerase (PGI/5.3.1.9) | dimer | PGI-B |
| Phosphoglucomutase (PGM/2.7.5.1) | dimer | PGM-A |
| Shikimatdehydrogenase (SKDH/1.1.1.25) | monomer | SKDH-A, -B |

2.3 Berechnungsmethoden und graphische Darstellung

Die Auswertung der genetischen Daten wurde mit dem GSED-Computerprogramm von GILLET (1994) vorgenommen.

Zur Beurteilung des Ausmaßes der Ähnlichkeit bzw. Verschiedenheit zwischen den Kiefern-Untersuchungskollektiven wurde ein entsprechendes UPGMA-Dendrogramm (SNEATH & SOKAL 1973) unter Verwendung des genetischen Abstandsmaßes d_0 nach GREGORIUS (1974) erstellt; die hierzu erforderliche Clusteranalyse wurde mit dem Programm NT-SYS durchgeführt.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Kiefern-Untersuchungskollektive und -Untersuchungsmaterial

Der zu Beginn der genetischen Untersuchung im Sommer 1995 abgängige Kiefernbestand in der Abt. 302 war zu diesem Zeitpunkt bereits über den größten Teil der Fläche per Harvester aufgearbeitet. Um einen repräsentativen Querschnitt für den gesamten geschädigten Kiefernbestand mit der genetischen Untersuchung zu erhalten, wurde von gefälltten Bäumen Zweige mit Benadelung und Zapfenbehang eingesammelt, um ihre Tauglichkeit für die Herstellung von Extrakten mit nachweisbaren Enzymaktivitäten für die Isoenzymanalyse zu überprüfen.



Fotos: W.D. Maurer

Abb. 5: Fläche des ehemaligen Kiefernbestandes in der Abt. 302 im August 2000 (unteres Bild) – das obere Bild gibt einen Eindruck, wie der Bestand in etwa aussah, bevor der größte Teil der Bäume erkrankte und gefällt werden musste.

Fig. 5: Area of the former Scots pine stand in the compartment 302 in August 2002 (lower photo) – the upper photo gives a rough impression how the stand looked like before most of the trees became diseased and had to be cut down.

Der Versuch erfolgte in Anlehnung an LAGERCRANTZ et al (1988). Dort wird die Vorgehensweise zur Extraktion von Enzymen aus Fichtennadeln beschrieben. Für die in der Tab. 1 aufgeführten Enzymssysteme konnten jedoch keine nachweisbaren Aktivitäten mit den eingesammelten Kiefernadelproben ermittelt werden. Auch weitere Extraktionsansätze mit verschiedenen anderen enzymaktivitätsstabilisierenden Zusätzen (LOOMIS 1974) führten zu keinem positiven Nachweis. Es musste davon ausgegangen werden, dass in den teilweise auch mit erkennbaren Pilzmycelien behafteten Nadeln der gefälltten Bäume ein Abbau- bzw. Zerstörungsprozess der Enzyme, insbesondere auch durch die zu diesem Zeitpunkt herrschenden sehr warmen und trockenen Wetterbedingungen, stattgefunden hat. Gleichfalls war es nicht möglich, eine Aktivität der zu untersuchenden Enzyme in aus grünen Zapfen herauspräparierten Samengewebe nachzuweisen. Daher wurden als Untersuchungsmaterial Nadelruheknospen an jeweils 50 Einzelbäumen von den im Ostteil des Bestandes noch stehenden wenigen Bäume zusammen mit den anderen beiden Untersuchungskollektiven der Altbäume des Lennebergwalds und des NSG Mainzer Sand im Spätwinter 1996 gewonnen und isoenzymatisch analysiert.

3.2 Populationsgenetische Daten für die 3 Kiefernkollektive

Mit den in der Tab. 1 aufgeführten 13 Enzymssystemen wurden insgesamt 21 Enzymgenorte analysiert, von denen sich die beiden IDH-Loci als invariabel erwiesen. Die Tab. 2 gibt die wichtigsten Genpool-Daten hinsichtlich des Vergleichs der drei Untersuchungskollektive an.

Tab. 2: Übersicht über die ermittelten genetischen Daten für die drei Kiefern-Untersuchungskollektive.
List of the calculated genetic data for the three Scots pine collectives under study.

| | <i>Lennebergwald</i> | | <i>Mainzer Sand</i> |
|--|---------------------------|-----------------|---------------------|
| | <i>erkrankter Bestand</i> | <i>Altbäume</i> | <i>Sand-Kiefer</i> |
| <i>Genpool-Diversität v</i> | 1,356 | 1,371 | 1,325 |
| <i>Gesamtdifferenzierung δ_T</i> | 0,265 | 0,273 | 0,248 |

Die Aufstellung macht deutlich, dass die ermittelten Werte, die eine für Kiefernpopulationen durchaus übliche Größenordnung besitzen, sich aber im Vergleich zueinander nicht ausgeprägt stark voneinander unterscheiden. Der erkrankte Bestand in der Abt. 302 liegt bei den Zahlenwerten zwischen denen der Altbäume des Lennebergwalds und der Sand-Kiefer im NSG Mainzer Sand. Da diese populationsgenetischen Maße jedoch die ursprünglich ermittelten Daten hinsichtlich der Anzahl (Vielfalt) wie auch der Häufigkeit von Allelen (Diversität) infolge eines „averaging effects“, d.h. der Durchschnittsbildung verdichten, soll eine Betrachtung dieser Grunddaten nicht außer Acht gelassen werden.

In der folgenden Tabelle sind für die einzelnen analysierten Genorte die Anzahlen der gefundenen Varianten (allelische Vielfalt n) sowie deren Häufigkeiten als allelische Diversität $?_2$ aufgelistet.

Tab. 3: Übersicht über die allelische Vielfalt (n) und Diversität ($?_2$) bei den untersuchten Enzym-Genorten.
List of the numbers of allelic variants (n) and the diversity ($?_2$) of the enzyme gene loci under study.

| Genort | erkrankter Bestand Lennebergwald | | Altbäume Lennebergwald | | Sand-Kiefern NSG Mainzer Sand | |
|---------|-------------------------------------|-------|---------------------------|-------|-------------------------------------|-------|
| | n | $?_2$ | n | $?_2$ | n | $?_2$ |
| AAT-A | 2 | 1,081 | 1 | 1,000 | 3 | 1,084 |
| AAT-B | 2 | 1,973 | 2 | 1,999 | 2 | 1,950 |
| AAT-C | 3 | 2,015 | 2 | 1,771 | 3 | 1,705 |
| ACO | 3 | 1,427 | 3 | 1,405 | 3 | 1,508 |
| ADH-A | 3 | 2,467 | 3 | 2,573 | 3 | 2,396 |
| AP-A | 2 | 1,082 | 1 | 1,000 | 1 | 1,000 |
| AP-B | 1 | 1,000 | 2 | 1,999 | 2 | 1,062 |
| AP-C | 3 | 1,082 | 2 | 1,771 | 3 | 1,304 |
| GDH | 4 | 2,317 | 4 | 2,107 | 3 | 2,087 |
| IDH-A | 1 | 1,000 | 1 | 1,000 | 1 | 1,000 |
| IDH-B | 1 | 1,000 | 1 | 1,000 | 1 | 1,000 |
| LAP-A | 3 | 1,352 | 2 | 1,020 | 2 | 1,020 |
| LAP-B | 4 | 1,330 | 2 | 1,107 | 4 | 1,127 |
| MDH-A | 2 | 1,061 | 2 | 1,150 | 2 | 1,041 |
| MDH-B | 2 | 1,061 | 2 | 1,062 | 2 | 1,041 |
| MDH-C | 3 | 1,716 | 4 | 1,873 | 2 | 1,732 |
| 6PGDH-B | 3 | 2,575 | 2 | 1,936 | 3 | 2,186 |
| PGI-B | 5 | 1,681 | 3 | 1,152 | 4 | 1,379 |
| PGM-A | 3 | 1,150 | 4 | 1,203 | 5 | 1,178 |
| SKDH-A | 6 | 1,482 | 7 | 1,792 | 4 | 1,901 |
| SKDH-B | 2 | 1,125 | 2 | 1,152 | 2 | 1,127 |

Die Zahlenwerte spiegeln die verschiedenen Verhältnisse an den jeweiligen Genorten in den einzelnen Untersuchungskollektiven wider. So wurden die Genorte IDH-A und IDH-B in allen drei Beständen als invariabel gefunden, was in diesem Falle aber nicht überrascht, da diese auch in anderen Kiefern-Untersuchungsbeständen als nahezu monomorph gefunden wurden und weitere Allele als selten bis sehr selten eingestuft werden (HERTEL & MAURER 1999). Acht der Genorte besitzen bei allen drei Kiefernbeständen gleiche Anzahlen an allelischen Varianten, bei den restlichen wurden unterschiedliche Anzahlen nachgewiesen. Hinsichtlich ihres Vorkommens an den jeweiligen Genorten sind zudem differierende Häufigkeiten vorhanden, die durch die Werte von $?_2$ wiedergegeben werden.

Inwieweit bestimmte Allele differenzieren, die bei einem der Kollektive gefunden wurden und bei den anderen nicht, hängt natürlich auch mit der Anzahl der untersuchten Bäume zusammen (vgl. hierzu GREGORIUS 1980).

3.3 Genpool-Abstände mittels UPGMA-Dendrogramm

Die Abb. 6 stellt die auf der Grundlage des genetischen Abstands d_0 (GREGORIUS 1974) zwischen den drei Untersuchungskollektiven ermittelte Ähnlichkeit bzw. Verschiedenheit als Dendrogramm dar.

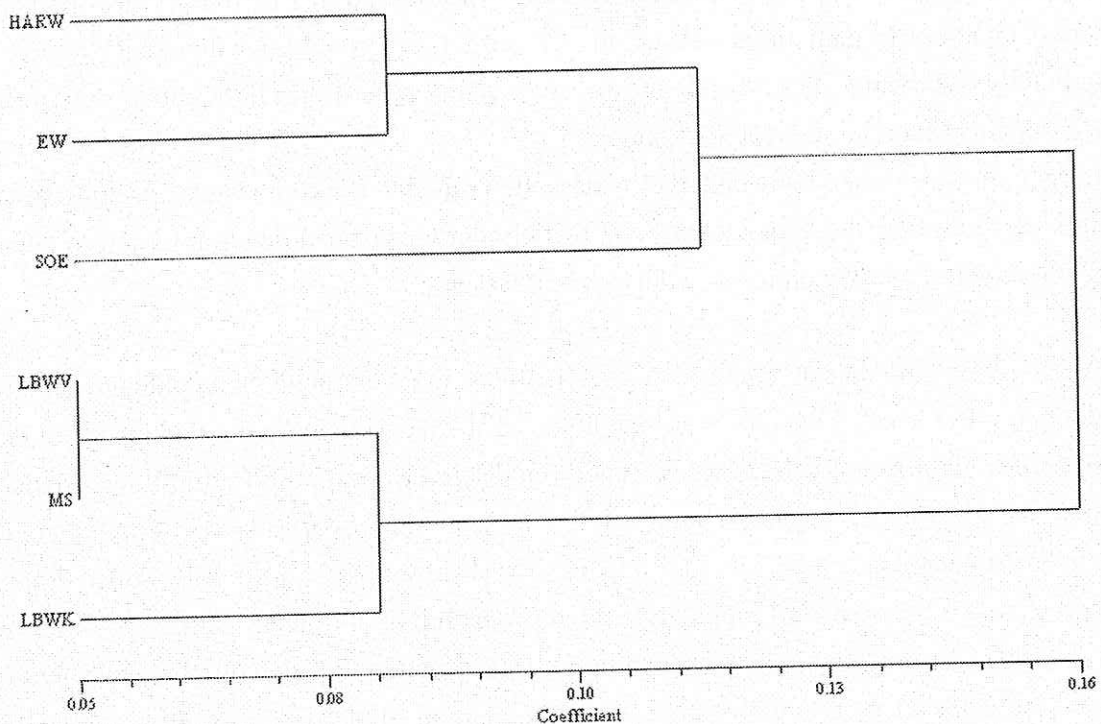


Abb. 6: Dendrogramm-darstellung der genetischen Abstände d_0 der Kiefern-Untersuchungskollektive aus dem Lennebergwald / Mainzer Sand sowie Kiefernbestände aus dem Pfälzerwald (Abk.: HARW, Kiefern-Weiserfläche Hardenburg; (FA Bad Dürkheim); EW, Weiserfläche Waldleiningen (FA Hochspeyer); SOE, Weiserfläche Schönau (FA Schönau); LBWV, Altbaum-Kollektiv Lennebergwald, MS, Kollektiv Sand-Kiefer; LBWK, geschädigter Bestand Lennebergwald).

Fig. 6: Dendrogram presentation of the genetic distances of the Scots pine collectives from the Lennebergwald / Mainzer Sand area as well as Scots pine stands of the Palatinate Forest (Abbrev.: HARW, indicator plot Hardenburg (Forest district Bad Dürkheim); EW, indicator plot Waldleiningen (forest district Hochspeyer); SOE, indicator plot Schönau (Forest district Schönau); LBWK, old tree collective Lennebergwald; MS, collective Sand-Kiefer; LBWK, diseased stand Lennebergwald).

Zum Vergleich sind außerdem die Daten von drei Kiefernbeständen aus dem Pfälzerwald, welche bei der genetischen Untersuchung zur Herkunftsfrage der sog. „Pfälzerwald-Kiefer“ als Referenzbestände dienten (Einzelheiten hierzu siehe bei MAURER & TABEL 1999), mit einbezogen.

Die Dendrogramm-Darstellung lässt eine Auftrennung der Kiefernbestände in zwei Cluster erkennen, in denen deutlich voneinander getrennt die drei Pfälzerwaldbestände bzw. die drei Untersuchungsbestände des Lennebergwalds / NSG Mainzer Sands gruppieren. Anders als bei den Daten in der Tab. 2 wird hierbei hinsichtlich der in den drei Untersuchungskollektiven nachgewiesenen genetischen Strukturen ein Zusammenhang ersichtlich. So werden der Altbestand im Lennebergwald und die Sand-Kiefern des NSGs als Paar mit 95% an gemeinsamen genetischen Strukturen zusammengefügt, während sich der erkrankte Bestand in der Abt. 302 des Lennebergwalds davon abgrenzt. Allerdings ist diese Unähnlichkeit wie bei den Genpool-Maßen unter Abschnitt 3.2 aufgeführt gleichfalls nicht ausgeprägt groß. Möglicherweise wäre dieser größer gewesen, wenn eine Beprobung über den gesamten vormaligen Bestand hätte erfolgen können.

Letztlich sind dies aber Hinweise dafür, dass sich auf der Basis der verwendeten Isoenzym-Genmarker mögliche verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Sand-Kiefern des NSGs und den Altbäumen im Lennebergwald ableiten lassen.

In Verbindung mit dieser genetischen Studie führt die Staatliche Samenklinge Rheinland-Pfalz beim Forstamt Elmstein seit geraumer Zeit Beerntungen von Saatgut von den im Bereich des Naturschutzgebiets wachsenden Sand-Kiefern durch und nimmt die Anzucht des Kiefern-Vermehrungsguts vor. Damit ist ein wesentlicher Schritt in der forstlichen Praxis getan, geeignetes, das heißt standortangepasstes Kiefernmaterial für die Aufforstung von entsprechenden Flächen im Lennebergwald zur Verfügung zu haben. In diesem Sinne wurde bereits 1987 von KORNECK die Empfehlung ausgesprochen, bei der forstlichen Nutzung des Lennebergwalds den Laubholzanteil zurückzudrängen und zukünftig die Kiefer wieder verstärkt zu fördern, um so den besonderen Charakter dieses Waldes - auch gerade unter Naturschutzaspekten - zu erhalten.

Die vorliegende Untersuchung ist seit Oktober 2000 im Forsthaus Lennebergwald in die Ausstellung „Lennebergwald - Verständnis für ein Stück Lebensraum“ als Poster „*Genetische Untersuchungen an Kiefern (Pinus sylvestris L.) im Lennebergwald und im NSG Mainzer Sand*“ integriert und dort der Öffentlichkeit zugänglich.

4 Literatur

ANONYMUS (1990): Gonsenheim Aktuell. Sonderausgabe Nr. 2, 5 Seiten.

ANONYMUS (1994): Begründung zur Forstsaatgut-Herkunftsgebietsverordnung.

ANONYMUS (1999): Wälder in Rheinhessen – eine ökologische Betrachtung der Waldstrukturen. Kapitel 2 Der Lennebergwald. Schriftenreihe der Schutzgemeinschaft Deutscher wild Rheinland-Pfalz e.V. Nr. 13, S.11-18.

BUB, M. (1993): Erläuterungsbericht zur Standortskartierung im Forstamt Alzey – Lennebergwald. Bezirksregierung Rheinhessen-Pfalz – Forstdirektion Neustadt a. d. Weinstraße, 95 Seiten.

GREGORIUS, H.-R. (1974): Genetischer Abstand zwischen Populationen. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica*, 23, S.22-27.

GREGORIUS, H.-R (1980): The probability of losing an allele when diploid genotypes are sampled. *Biometrics*, 36, pp.643-652.

HANKE, L. & MAQSUD, N. (1985): Pedologisch-stratigraphische Untersuchungen in Flugsanden westlich von Mainz (Sandgrube Walter und Lennebergwald). Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv, Band 23, S.201-203.

HERTEL, H. & MAURER, W.D. (1999): Biochemical-genetic investigations on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) – A practical guide to separation methods and zymogram evaluation (Sächsische Landesanstalt für Forsten Graupa (Hrsg.), 56 pages.

JUNGBLUTH, J.H. (1987): Der Mainzer Sand – Beiträge zur Monographie des Naturschutzgebietes Mainzer Sand und seiner näheren Umgebung. Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv, Band 25, 604 Seiten.

KORNECK, D. (1987): Pflanzengesellschaften des Mainzer-Sand-Gebiets. Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv, Nr. 25, S.135-200.

LAGERCANTZ, U.; RYMAN, N. & STAHL, G. (1988): Protein loci in diploid tissue of Norway spruce (*Picea abies* K.): description and interpretation of electrophoretic variability patterns. *Heredity*, 108, pp.149-158.

LOOMIS, W.D. (1974): Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. In: S.P. COLOWICK & N.O. KAPLAN (eds.): *Methods in Enzymology*, Vol.31, pp.528-544. Academic Press New York.

MAURER, W.D. & TABEL, U. (1999): Genetische Untersuchungen zur Herkunftsfrage der Kiefer (*Pinus sylvestris* L.) in der Pfalz – unter besonderer Berücksichtigung der wuchsschwachen Bestände am Haardtrand. In: N. KOHLSTOCK, TH. STAUBER & I. ZASPEL (Redaktion): *Erhaltung und Nutzung genetischer Ressourcen für den naturnahen Waldbau – Betriebswirtschaft und/oder Naturschutz. Proceedings zur 23. Internationalen Tagung der AG Forstgenetik – Forstpflanzenzüchtung vom 1.-3. September 1997 in Sandkrug/Chorin*, S.260-277.

MEISTER, G.; SCHÜTZE, CH.; & SPERBER, G. (1984): Die Lage des Waldes. Ein Atlas der Bundesrepublik – Daten, Analysen, Konsequenzen, S.161.

SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. (1973): *Numerical Taxonomy*. H.W. Freeman & Co., San Francisco (USA).

ZIEHEN, W. (1970): Wald und Steppe in Rheinhessen: Ein Beitrag zur Geschichte der Naturlandschaft. Forschung zur deutschen Landeskunde Deutsche Akademie für Landeskunde (Hrsg.), Band 196, 154 Seiten + Anhang.

ZIEHEN, W. (1974): Der rheinhessische Wald in Mittelalter und Neuzeit. Sonderdruck aus „Alzeyer Geschichtsblätter“, Heft 10, S.111-122.

Anschriften der Autoren:

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Dr. Walter Eder, Abt. Forsten im Ministerium für Umwelt und Forsten Rheinland-Pfalz, Kaiser-Friedrich-Str. 1, D-55116 Mainz

Genetische Untersuchungen zur Viabilitätsselektion in stark geschädigten Douglasienbeständen

LUDGER LEINEMANN

Keywords: Douglas-fir, *Pseudotsuga menziesii*, viability selection, isozymes

Abstract

Title of the paper: A genetic study on viability selection in seriously damaged Douglas-fir stands.

Following an isozyme study on trees of three seriously damaged Douglas-fir stands in Rhineland-Palatinate which identified these trees to belong to the natural distribution range of the interior race, two groups of damaged and healthy trees were formed to carry out, on the basis of isozyme gene markers, a study on possible selection effects. Out of a total of 15 isozyme gene loci, the gene loci LAP-A and PGM-A showed significant differences in their allele frequencies (0,05% significance level). For LAP-A the allele frequencies in the healthy group showed – as measured on the basis of d_0 - a lower genetic distance towards the reference structures of the coastal race than to the interior race. Between the two groups significant heterogeneity of the genotypic structures were detected at the two gene loci LAP-A and PGM-B. In the healthy group individuals revealed a heterozygous genotype at gene locus PGM-B being present twice as much as in the damaged one. Moreover the healthy group showed maximum conditional heterozygosity, which possibly indicates an advantage in viability caused by overdominance at this gene locus. The results obtained do not falsify the hypothesis that viability selection is responsible for the heterogeneity of the genetic structures between the two groups of damaged and healthy trees.

Schlagwörter: Douglasie, *Pseudotsuga menziesii*, Viabilitätsselektion, Isoenzyme

Zusammenfassung

Aus Bäumen dreier stark geschädigter Douglasienbestände in Rheinland-Pfalz, die nach vorhergehenden isoenzymatischen Untersuchungen aus dem Verbreitungsgebiet der Inlandsrasse stammen, wurden zwei Kollektive gesunder bzw. kranker Douglasien gebildet. Diese wurden mit Hilfe von Allozymen im Hinblick auf mögliche Selektionseffekte untersucht. Von insgesamt 15 untersuchten Genorten zeigten die Allelhäufigkeiten der beiden Kollektive an den Genorten LAP-A und PGM-A signifikante Unterschiede (0,05%-Niveau). Am Genort LAP-A weisen die Allelhäufigkeiten im gesunden Kollektiv, gemessen auf der Basis des genetischen Abstands d_0 , größere Ähnlichkeit zu Referenzstrukturen der Küstenrasse auf.

Signifikante genotypische Unterschiede konnten am Genort LAP-A sowie dem Genort PGM-B beobachtet werden. Dabei wiesen im gesunden Kollektiv am Genort PGM-B doppelt so viele Individuen einen heterozygoten Genotyp auf wie im geschädigten Kollektiv. Das gesunde Kollektiv wies dabei maximale bedingte Heterozygotie auf. Dies könnte auf einen möglicherweise durch Überdominanz bedingten Viabilitätsvorteil an diesem Genort hinweisen. Die Ergebnisse falsifizieren nicht die Hypothese, dass Viabilitätsselektion Einfluß auf die Differenzierung der genetischen Strukturen der beiden Kollektive hatte.

1 Einleitung und Fragestellung

Bisherige genetische Untersuchungen an der Baumart Douglasie zeigten, dass die Küstenrasse (*Pseudotsuga menziesii* var. *viridis*) und Inlandsrasse (*Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*)

Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49/02, S.89-98.

deutliche Unterschiede in ihren genetischen Strukturen aufweisen. Auf dieser Grundlage war es in Rheinland-Pfalz möglich, jüngere, nach dem 2. Weltkrieg begründete Bestände unbekannter geographischer Herkunft einer dieser Rassen zuzuordnen (LEINEMANN 1997). Die Ergebnisse zeigten zudem einen deutlichen Zusammenhang zwischen Rassenzugehörigkeit und Vitalität der Bestände. Bestände aus dem Verbreitungsgebiet der Küstenrasse wuchsen vital auf, während direkt benachbarte Bestände, die offensichtlich aus dem Verbreitungsgebiet der Inlandsrasse stammen, stark verringerte Vitalität zeigen oder sogar abzusterben drohen. Dabei wiesen die betroffenen Bestände kein einheitliches Krankheitsbild auf. Die Schadsymptome variierten zwischen den Beständen deutlich. So waren in einem Bestand lediglich starke Schüttesymptome zu beobachten, während für andere Bestände Rindennekrosen in Verbindung mit starkem Harzaustritt charakteristisch waren. Aber auch in diesen Beständen kommen vergleichsweise vitale Bäume vor, die zum Zeitpunkt der Untersuchung (noch) keine Schäden aufwiesen. Da der Genotyp des einzelnen Baums letzten Endes auch über seine Reaktionsmöglichkeiten auf Stress entscheidet, darf angenommen werden, dass unter einem hier nicht genauer definierten Stressor bestimmte Allele oder Allelassoziationen einen Selektionsvorteil bzw. -nachteil für ihre Träger bedeuten. Ob sich mit Hilfe der hier untersuchten Allozyme Selektionsprozesse nachweisen lassen, ist nicht von vornherein zu erwarten, da mit ihnen nur ein sehr kleiner Ausschnitt des Genoms untersucht werden kann.

Daher schien es notwendig der Frage nachzugehen, inwieweit in diesen Beständen Kollektive von Bäumen unterschiedlicher Vitalität auch an den hier untersuchten Genloci genetisch differenziert sind. Für Bestände der Inlandsrasse, die nach allen bisherigen Erfahrungen weniger an die in Mitteleuropa herrschenden Umweltverhältnisse angepaßt sind (KLEINSCHMIT & BASTIEN 1992), könnte dies als Resultat eines erheblichen Anpassungsdrucks interpretiert werden. Darüber hinaus könnte dieses Wissen für die weitere Etablierung von Douglasienbeständen im Rahmen einer Risikominimierung durch die Verwendung genetisch charakterisierten Vermehrungsgutes von Nutzen sein.

1.1 Arbeitshypothese

Die Hypothese, dass Träger bestimmter genetischer Varianten unabhängig von der Rassenzugehörigkeit einen Selektionsvorteil bzw. -nachteil gegenüber den vorliegenden Stressfaktoren haben können, kann nicht falsifiziert werden, wenn signifikante, d.h. nicht zufällige Abweichungen zwischen den genetischen Strukturen der beiden Kollektive auftreten. Da die Kollektive aus visuell gesunden und kranken Individuen zusammengestellt wurden, die nebeneinander innerhalb von Beständen wachsen, ist der Einfluß des Standorts so weit wie möglich minimiert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Die Stichproben aus den stark geschädigten Beständen Dreis Abt. 13a² und Bruch Abt. 12c (beide FA Wittlich) und Daun Abt. 13b (FA Daun), welche mit großer Sicherheit aus dem Verbreitungsgebiet der Inlandrasse stammen, wurden zusammengefasst. Insgesamt wurden 150 Bäume zufallsmäßig beprobt. Aus diesen Bäumen wurden zwei Kollektive vitaler und stark geschädigter Bäume gebildet. Da die Bäume der Bestände zum überwiegenden Teil stark geschädigt waren, konnten allerdings nicht zwei Kollektive von gleicher Größe gebildet werden. Das Kollektiv der Bäume, die als gesund eingestuft wurden, bestand so nur aus 35 Bäumen. In das Kollektiv der geschädigten Douglasien wurden hingegen 115 Bäume einbezogen.

2.2 Methoden

Die Ruheknospen wurden im Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen mit Standardverfahren der Isoenzymanalyse untersucht, die an die Verhältnisse der Douglasie angepaßt wurden. Der Nachweis, dass die Ausprägung der beobachteten Isoenzymphenotypen allein genetisch determiniert ist, erfolgte im Rahmen einer Vererbungsanalyse (LEINEMANN 1998). Insgesamt wurden 15 polymorphe Genorte ausgewertet.

Tab. 1: Untersuchte Enzymsysteme, ihre EC-Referenznummern sowie analysierte Genorte.
Enzyme systems under study, EC reference numbers and gene loci analyzed.

| <i>Enzymsystem</i> | <i>EC Ref.</i> | <i>Genlocus</i> |
|----------------------------------|----------------|-----------------|
| Aconitase | 4.2.1.3 | ACO-A, -B |
| Leucin-Aminopeptidase | 3.4.11.1 | LAP-A, -B |
| Glutamatoxalacetat-Transaminase | 2.6.1.1 | GOT-A, -B, -C |
| Malat-Dehydrogenase | 1.1.1.37 | MDH-B, -C |
| Phosphoglucomutase | 2.7.5.1 | PGM-A, -B |
| Shikimat-Dehydrogenase | 1.1.1.25 | SKDH-B |
| Isocitrat-Dehydrogenase | 1.1.1.42 | IDH |
| 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase | 1.1.1.44 | 6-PGDH-A |
| Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase | 1.1.1.49 | G-6-PDH |

Die Hypothese, dass die Allelhäufigkeiten in den beiden Kollektiven durch Selektion bedingte signifikante Unterschiede zeigen, wurde mit Hilfe des χ^2 -Tests geprüft. Bestätigt dieser Test signifikante Allelhäufigkeitsunterschiede zwischen den Kollektiven, so ist die Selektionshypothese nicht falsifiziert.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich der allelischen Strukturen

Mit allelischen Strukturen sind in der Folge die Häufigkeiten von Allelen in den untersuchten Kollektiven und Populationen gemeint.

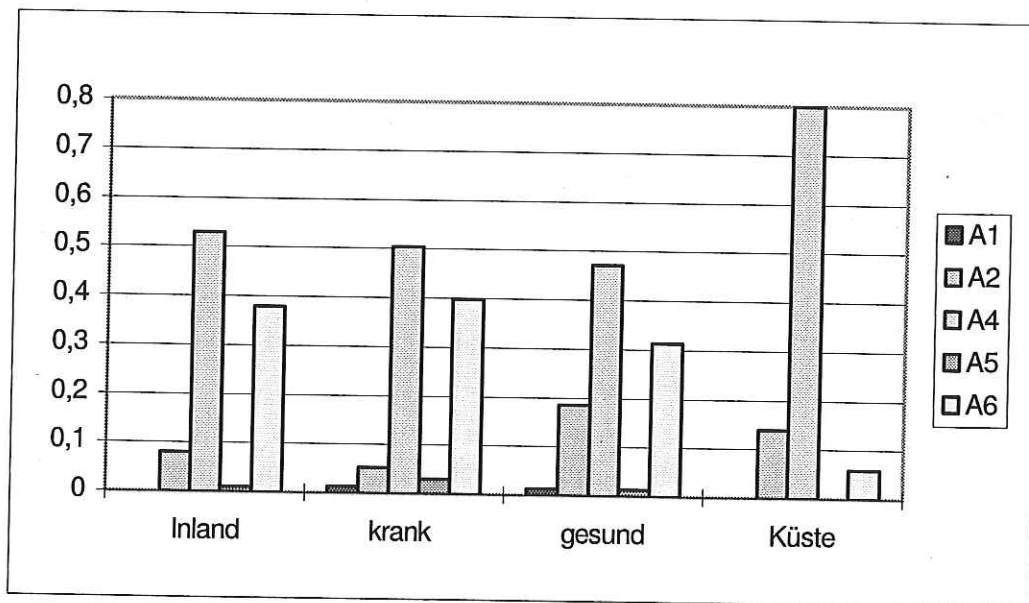


Abb. 1: Allelhäufigkeiten am Genlocus PGM-A für die Gruppe der gesunden und der kranken Bäume aus den geschädigten Beständen im Vergleich zu den Referenzstrukturen.

Fig. 1: Allele frequencies at the gene locus PGM-A for the two groups of damaged and healthy trees from the damaged stands as compared to the reference structures.

Signifikante Unterschiede (0,05%-Niveau) zwischen den allelischen Häufigkeitsverteilungen beider Kollektive konnten an den Genloci PGM-A und LAP-A beobachtet werden. In Abb.1 und Abb.2 sind die Häufigkeitsverteilungen im gesunden und im kranken Kollektiv zusammen mit den jeweiligen Referenzstrukturen der Inlands- und Küstendouglasie dargestellt. Die Referenzstrukturen resultieren aus Mittelwerten der Allelhäufigkeiten, die bei Untersuchungen an Provenienzen gesicherten Ursprungs der Küstenrasse und der Inlandsrasse erhoben wurden (LEINEMANN 1998).

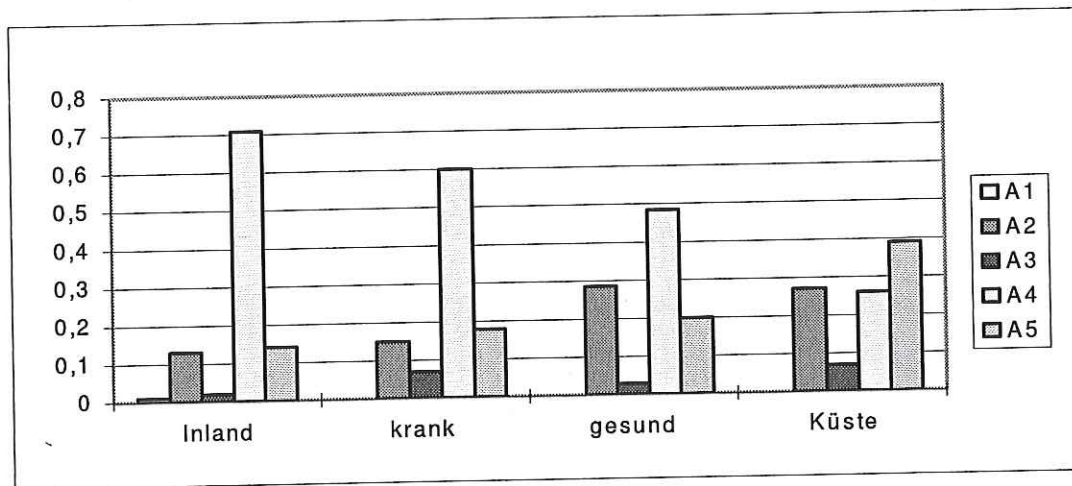


Abb. 2: Allelhäufigkeiten am Genlocus LAP-A für die Gruppe der gesunden und der kranken Bäume aus den geschädigten Beständen im Vergleich zu den Referenzstrukturen.

Fig. 2: Allele frequencies at the gene locus LAP-A for the two groups of damaged and healthy trees from the damaged stands as compared to the reference structures.

Am Genlocus PGM-A beruht der Unterschied ($\chi^2 = 11,274^*$, Freiheitsgrad FG = 4) zwischen den allelischen Strukturen des gesunden und des kranken Kollektivs im wesentlichen auf einer größeren Häufigkeit des Allels A₂ im gesunden Kollektiv. Vergleicht man alle Strukturen, so ist festzustellen, dass sich die Referenzstruktur der Küstenrasse deutlich von den anderen Strukturen unterscheidet. Auch das gesunde Kollektiv zeigt noch deutlich die für die Inlandsrasse charakteristische Häufigkeitsverteilung der beiden Allele A₄ und A₆. Das gesunde Kollektiv zeigt nur insofern eine größere Übereinstimmung mit der Referenzstruktur der Küstenrasse, als auch bei der Küstenrasse das Allel A₂ deutlich häufiger ist als dies für die Inlandsrasse und das geschädigte Kollektiv der Fall ist.

Am Genlocus LAP-A beruht der signifikante Unterschied ($\chi^2 = 8,169^*$, FG = 3) der allelischen Verteilungen zwischen gesundem und krankem Kollektiv insbesondere auf der größeren Häufigkeit des Allels A₂ im Vergleich zur Referenz der Inlandsrasse, während die Häufigkeit des Allels A₄ deutlich geringer ist. Im Vergleich von gesundem wie krankem Kollektiv mit den Referenzstrukturen der beiden Rassen kann insofern von einer Annäherung des gesunden Kollektivs an die Referenzstruktur der Küstenrasse gesprochen werden, als das in der Küstenrasse dominierende Allel A₂ in deutlich verminderter Häufigkeit auftritt. Dies geschieht zugunsten einer Tendenz zur Gleichverteilung der drei häufigsten Allele.

Dies wird auch durch die Berechnung des genetischen Abstands bestätigt. Der genetische Abstand ist auf den Wert 1 normiert. Kollektive mit einem genetischen Abstand von 0 zeigen bezüglich ihrer Allelhäufigkeiten vollkommene Übereinstimmung, ist der Abstand gleich 1, so haben sie kein Allel gemeinsam. Daraus folgt, dass Häufigkeitsverteilungen zwischen zwei verglichenen Kollektiven um so ähnlicher sind, je geringer ihr genetischer Abstand ist. So ist

der genetische Abstand zwischen dem gesunden Kollektiv und der Referenzstruktur Inland mit 26% etwas größer als der zur Referenzstruktur Küste mit 23,6%.

3.2 Vergleich der genotypischen Strukturen

Unter genotypischen Strukturen werden im folgenden die Häufigkeitsverteilungen der Genotypen in Populationen, Rassen oder Kollektiven verstanden.

Bezüglich der Kombination der Allele in genotypischen Strukturen sind am Genlocus PGM-A keine signifikanten Unterschiede zwischen gesundem und geschädigtem Kollektiv feststellbar. Am Genlocus PGM-B ergeben sich hingegen signifikante Abweichungen von der Annahme gleicher genotypischer Strukturen zwischen dem Kollektiv gesunder und dem geschädigter Bäume ($\chi^2 = 7,672^*$, FG = 2).

Tab. 2: Beobachtete Genotypenhäufigkeiten für PGM-B im Vergleich zu den Erwartungswerten unter der Hypothese übereinstimmender genotypischer Strukturen des gesunden und des geschädigten Kollektivs.

Genotype frequencies observed for PGM-B in comparison to the expected frequencies under the hypothesis of homogenous genotypic structures between the healthy and the damaged trees.

| Genotyp | gesundes Kollektiv | | krankes Kollektiv | |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
| | beobachtet | erwartet | beobachtet | erwartet |
| B₂B₂ | 0 | 1,16 | 5 | 3,84 |
| B₂B₃ | 14 | 8,56 | 23 | 28,44 |
| B₃B₃ | 20 | 24,29 | 85 | 80,71 |

Der Vergleich in Tab. 2 zeigt, dass der heterozygote Genotyp im gesunden Kollektiv deutlich häufiger ist als bei Übereinstimmung der genotypischen Strukturen zu erwarten. Im kranken Kollektiv liegen die beobachteten Häufigkeiten der beiden homozygoten Genotypen über dem jeweiligen Erwartungswert. Der Anteil heterozygoter Genotypen liegt im gesunden Kollektiv bei 41,2% und die bedingte Heterozygotie bei 1,0. Im kranken Kollektiv ist der Anteil heterozygoter Genotypen nur etwa halb so groß (20,4%).

Wie für die allelischen Strukturen zeigen sich am Genlocus LAP-A auch für die genotypischen Strukturen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven ($\chi^2 = 17,042^*$, FG = 9). Hier tritt der heterozygote Genotyp A₂A₅ im gesunden Kollektiv mehr als dreimal so häufig auf als zu erwarten. Allerdings wurde auch der homozygote Genotyp A₂A₂ doppelt so häufig beobachtet.

4 Diskussion

Die stark geschädigten Bestände in den Beständen Dreis, Bruch und Daun weisen eindeutig genetische Strukturen der Inlandsrasse auf. Daher sind diese Bestände geeignet, Viabilitätsselektion zugunsten einer bestimmten allelischen oder genotypischen Variation zu untersuchen, da die Untersuchungen nicht durch eine Mischung von Vermehrungsgut der beiden Rassen überlagert werden. Das Krankheitsbild dieser Bestände variiert stark. So waren die geschädigten Bäume im Bestand Daun eher durch ausgeprägte Schüttesymptome gekennzeichnet. Das Symptom der Rindennekrosen mit Harzfluß fehlt hier vollständig. Der Bestand Dreis hingegen zeigte an den meisten der geschädigten Bäume extreme Rindennekrosen mit Harzfluß. Dies muß bei der Interpretation der beobachteten signifikanten Unterschiede zwischen den allelischen und genotypischen Strukturen des gesunden und des geschädigten Kollektivs berücksichtigt werden. Die signifikanten Unterschiede zwischen den Allelstrukturen der beiden Kollektive an den Genloci PGM-A und LAP-A und die signifikante Heterogenität der genotypischen Strukturen am Genlocus PGM-B sind vor dem Hintergrund eines heterogenen Krankheitsbildes nicht auf eine bestimmte Ursache zurückzuführen.

Interessant ist, dass am Genlocus LAP-A die Zunahme der Häufigkeit des Allels A_2 eindeutig zu Lasten des in der Inlandsrasse häufigsten Allels A_4 geht, während das Allel A_5 in beiden Kollektiven nahezu gleiche Häufigkeiten zeigt. Da angenommen werden darf, dass die häufigste Variante in einer Rasse zumindest nicht stark selektiv benachteiligt ist, kann dies als Hinweis darauf betrachtet werden, wie extrem unterschiedlich die aktuellen Umweltbedingungen in Deutschland im Vergleich zum Ursprungsgebiet dieser Rasse sind. Stellt das Allel LAP-A₄ unter den aktuellen Umweltbedingungen eine genetische Last dar, so ist diese Last aufgrund der Häufigkeit dieses Allels besonders groß. Das Allel LAP-A₄ ist unter diesem Aspekt also auch geeignet, die deutlichen Vitalitätsunterschiede zwischen den beiden Rassen zu erklären. Dabei darf allerdings nicht vorausgesetzt werden, dass dieses Allel grundsätzlich auf den hier beobachteten komplexen Umweltstress reagiert. Möglicherweise ist es nur als Marker für mit diesem Allel gekoppelte adaptive Genkomplexe zu sehen. Dass das Enzymsystem LAP-A empfindlich auf Umweltstress reagiert, wurde bereits für die Buche (*Fagus sylvatica*) nachgewiesen (MÜLLER-STARCK 1989, 1993). Ebenso an Buche wurde für den Genlocus PGM-A nachgewiesen, dass in Altbeständen Träger einer bestimmten allelischen Variante höhere Viabilität zeigten (MÜLLER-STARCK 1993). Die signifikanten Unterschiede zwischen den genotypischen Strukturen der beiden Kollektive am Genlocus PGM-B können durch einen Heterozygotenvorteil erklärt werden. Allgemein wird für Waldbäume postuliert, dass sie aufgrund ihrer Langlebigkeit und ihrer weiten Verbreitung ein hohes Potential an genetischer Variation benötigen, um ökologisch heterogene Habitate zu

besiedeln. Die dadurch geforderte physiologische Plastizität beruht wesentlich auf ihrer Heterozygotie (HATTEMER 1994). Dass die geforderte Variation als ein Indikator für Anpassungskapazität nicht immer etwas über das aktuelle Anpassungspotential von Waldbäumen aussagt, wird durch Untersuchungen bei der Douglasie belegt (LEINEMANN 1998). Die Inlandsrasse zeigt nach diesen Untersuchungen eine größere Variabilität ihres Genpools gegenüber dem der Küstenrasse, obwohl sie offensichtlich ein geringeres Anpassungsvermögen an die aktuellen Umweltbedingungen aufweist.

Im Gegensatz dazu scheinen die genotypischen Abweichungen zwischen den Kollektiven am Genlocus LAP-A durch den adaptiven Vorteil des im gesunden Kollektiv häufigeren Allels A₂ begründet zu sein, da sowohl heterozygote als auch homozygote Träger dieses Allels im gesunden Kollektiv häufiger sind.

Die Reaktion von Waldbäumen auf Umweltstress wurde bereits vielfach untersucht (Fichte: SCHOLZ & BERGMANN 1984; BERGMANN & SCHOLZ 1989; Kiefer: GEBUREK et al. 1994; Tanne: KONNERT 1992; Buche: MÜLLER-STARCK 1989, 1993; STARKE et al. 1996). Wie auch in der vorliegenden Arbeit wird für diese Untersuchungen ein Vergleich zwischen den genetischen Strukturen "sensitiver" und "toleranter" Kollektive vorgenommen. Der Stressfaktor, gegenüber dem diese Kollektive einen unterschiedlichen Respons zeigen, ist dabei nicht immer fest definiert. Gerade der Vergleich von Kollektiven aus älteren Beständen zu einem Zeitpunkt ermöglicht in der Regel, nur einen allgemeinen Umweltstress zu postulieren. Kann der Stress nicht genau definiert werden, ist es im Einzelfall nicht möglich, statistisch abgesicherte Häufigkeitsunterschiede zwischen den Allelstrukturen sensitiver und toleranter Kollektive mit der Funktion dieser Allele im Stoffwechsel in Zusammenhang zu bringen. Nur auf diese Weise aber könnten adaptive Vor- bzw. Nachteile bestimmter genetischer Varianten zufriedenstellend geklärt werden. Dieser Nachweis gelingt jedoch nur in seltenen Fällen (z.B. ROTHE & BERGMANN 1995). Wie bereits erwähnt, können auch die vorliegenden Ergebnisse nur auf einen nicht genau bestimmbar Umweltstress zurückgeführt werden.

Auch unter diesen Aspekten sind die hier beobachteten signifikanten Abweichungen zwischen den genetischen Strukturen der beiden Kollektive entsprechend vorsichtig zu beurteilen. Da das Signifikanzniveau mit 0,05% nur gering ist und diese Ergebnisse ausschließlich aus der Untersuchung eines Vergleichs zwischen gesundem und geschädigtem Kollektiv basieren, sind weitere Untersuchungen notwendig, um praxisrelevante Empfehlungen geben zu können.

Danksagung

Die Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Douglasienbeständen wurden durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Georg-August-Universität Göttingen „*Biochemisch-genetische Untersuchungen mittels Isoenzym-Genmarkern an unterschiedlich geschädigten Douglasien-Beständen in Rheinland-Pfalz*“ finanziell gefördert. Mein besonderer Dank gilt Herrn FD Uwe Tabel und Herrn Dr. Werner Maurer für ihre Unterstützung.

5 Literatur

- BERGMANN, F. & SCHOLZ, F. (1989):** Selection effects of air pollution in Norway spruce (*Picea abies*) populations. In: Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations, (F. SCHOLZ, H.-R. GREGORIUS & D. RUDIN, eds.). Springer-Verlag Berlin, Heidelberg etc., pp.143-162.
- GEBUREK, T.; SCHOLZ, F.; KNABE, W. & VORNWEG, A. (1994):** Genetic studies by isozyme geneloci on tolerance and sensitivity in an air polluted *Pinus sylvestris* field trial. *Silvae Genetica*, 36, pp.49-53.
- HATTEMER, H.H. (1994):** Die genetische Variation und ihre Bedeutung für Wald und Waldbäume. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen*, 145(12), S.953-975.
- KLEINSCHMIT, J. & BASTIEN, J.C. (1992):** IUFRO's role in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) tree improvement. *Silvae Genetica*, 41, pp.161-173.
- KONNERT, M. (1992):** Genetische Untersuchungen in geschädigten Weißtannenbeständen (*Abies alba* MILL.) Süddeutschlands. *Mitteilungen der Forstlichen Versuchs- und Forschungs-anstalt Baden-Württemberg*, Heft 167. Freiburg i. Br., 119 Seiten.
- LEINEMANN, L. (1997):** Genetische Strukturen gesunder und geschädigter Douglasienbestände in Rheinland-Pfalz. In: W.D. MAURER & U. TABEL, (Hrsg.): Stand der Ursachenforschung zu Douglasienschäden – derzeitige Empfehlungen für die Praxis. *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 41/97, S.145-160.
- LEINEMANN, L. (1998):** Genetische Untersuchungen an Rassen der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) am Beispiel gesunder und geschädigter Bestände. *Göttingen Research Notes in Forest Genetics*, no. 23, 151 Seiten.
- MÜLLER-STARCK, G. (1989):** Genetic implications of environmental stress in adult forest stands of *Fagus sylvatica* L. In: F. SCHOLZ, H.-R. GREGORIUS & D. RUDIN (eds.): Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg etc., pp.127-142.
- MÜLLER-STARCK, G. (1993):** Auswirkungen von Umweltbelastungen auf genetische Strukturen von Waldbestände am Beispiel der Buche (*Fagus sylvatica* L.). *Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt*, Band. 112. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. Main, 168 Seiten.
- SCHOLZ, F. & BERGMANN, F. (1984):** Selection pressure by air pollution as studied by isozyme-gene-systems in Norway spruce exposed to sulphur dioxide. *Silvae Genetica*, 33, pp.238-241.

ROTHE, G. & BERGMANN, F. (1995): Increased efficiency of Norway spruce heterozygous phosphoenolpyruvatecarboxylase phenotype in response to heavy air pollution. *Angewandte Botanik*, 69, S.27-30.

STARKE, R.; ZIEHE M. & MÜLLER-STARCK, G. (1996): Viability selection in juvenile populations of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics*, 3(4), pp.217-225.

Anschrift des Autors:

Dr. Ludger Leinemann, Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität Göttingen. Büsgenweg 2, D-37077 Göttingen

Genetische Strukturen der Buche in Rheinland-Pfalz

MARTIN ZIEHE, BARBARA VORNAM, ROMMY MÜLLER-STARCK, JOZEF TUROK,
HANS H. HATTEMER, WERNER D. MAURER UND UWE TABEL

Keywords: beech stands, beechnuts, *Fagus sylvatica*, enzyme gene loci, cpDNA, genetic differences

Abstract

Title of the paper: Genetic structures of beech (*Fagus sylvatica* L.) in Rhineland-Palatinate.

The intention of measures of gene conservation in Rhineland-Palatinate led to genetic inventories in 22 beech (*Fagus sylvatica* L.) stands from different regions. These inventories include genetic structures among adult beech trees as well as for some of the stands among beechnuts. Genetic structures were surveyed at enzyme gene loci and molecular markers. The biochemical investigations were carried out at the Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding of the University of Göttingen.

The differences between the genetic structures of the adult stands appeared to be small as compared to observations in some conifer species. Examples are presented for genetic variants at two different enzyme gene loci as well as chloroplast DNA. However, the observed genetic variants were not always evenly distributed over those parts of the stands under investigation. It is demonstrated that some genes appeared to be substantially more frequent in particular parts of the stands. Consequently, smaller parts of the stands as well as seed gained in restricted areas seem to be not representative of the whole stand concerning genetic structures as well as the adaptive potential. In fact, seed material derived from the contents of a few nets in the stand showed larger genetic deviations from the corresponding adult stand structures than seed collected evenly below those beech trees included in the genetic inventory.

Schlagwörter: Buche, *Fagus sylvatica*, Altbestand, Eckern, Enzymgenloci, cpDNA, genetische Unterschiede

Zusammenfassung

Im Zuge der Vorbereitung generhaltender Maßnahmen erfolgten in Rheinland-Pfalz genetische Inventuren in 22 Buchenbeständen (*Fagus sylvatica* L.) unterschiedlicher Wuchsgebiete. Diese Inventuren umfassten sowohl die genetischen Strukturen unter den Altbüchen wie für einige der Bestände auch im Eckernmaterial. Einbezogen wurden dabei Enzymgenorte wie auch molekulare Marker. Die Laboruntersuchungen fanden am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen statt.

Die genetischen Strukturen zeigten zwischen den Altbüchen im Vergleich zu Beobachtungen an Koniferenarten Unterschiede geringeren Ausmaßes. Beispiele werden hier für genetische Varianten an zwei verschiedenen Enzymgenloci wie auch für Variation in der Chloroplasten-DNA präsentiert. Die räumlichen Strukturen innerhalb der Bestände zeigen aber in vielen Fällen keinesfalls eine gleichmäßige Verteilung der Varianten in den untersuchten Bestandesteilen, sondern Häufungen einzelner Gene in bestimmten Bereichen, wofür ebenfalls Beispiele erbracht werden. Kleinere Bestandesteile wie auch Saatgut, das in eng begrenzten Bestandesteilen gewonnen wurde, muss in seinen genetischen Eigenschaften und somit auch seiner genetischen Anpassungsfähigkeit nicht repräsentativ für die Strukturen der Gesamtbestände sein. So zeigte sich auch in dem in Netzen gewonnenen Klengensaatgut an Eckern ein etwas größerer genetischer Unterschied zum zugehörigen Altbestand als bei einer gleichmäßig unter den beprobten Bäumen erhobenen Eckernstichprobe.

1 Einführung

Im Jahre 1991 begannen umfangreiche genetische Untersuchungen in insgesamt 22 Buchenbeständen des Landes Rheinland-Pfalz. Mit diesen sollte das Ziel verfolgt werden, genetische Strukturen von Beständen unterschiedlicher Wuchsgebiete, unterschiedlichen Ursprungs und von diversen Standorten und Höhenlagen miteinander zu vergleichen, um Muster genetischer Differenzierung zu bestimmen und damit Entscheidungshilfen für die Erhaltung und Sicherung genetischer Ressourcen der Buche in diesem Bundesland zu erhalten (TABEL & MAURER 1992; MAURER & TABEL 2000). Für Maßnahmen zur praktischen Umsetzung der Erhaltung und Sicherung waren aber nicht nur genetische Unterschiede zwischen Altbeständen von Interesse, sondern auch die Abweichungen in den genetischen Strukturen, welche die Eckern im Vergleich zu ihrem Erntebestand aufweisen würden.

Die genetischen Strukturen in den Altbeständen wurden über die Untersuchung des Knospenmaterials von Buchen ermittelt, welche genau auf bzw. unmittelbar benachbart zu etwa 200 im quadratischen Gitter angeordneten Rasterpunkten mit Abständen von 20 bis 25m standen und eine für den Gesamtbestand repräsentative Teilfläche abdecken sollten (vgl. auch die Abb. 6 bis Abb. 8). Hierbei wurden mögliche Unterschiede im Dichtstand zusätzlich in der Weise berücksichtigt, dass sich der Abstand der Rasterpunkte mit größerem Dichtstand verkleinerte.

Für die Bestimmung genetischer Strukturen unter den Eckern hat man für insgesamt sechs der beprobten Bestände in Netzen aufgefangenes Klengenmaterial verwendet. Für drei dieser sechs Bestände gab es zusätzlich eine Stichprobe von Eckern, bei deren Gewinnung jeweils vergleichbare Anzahlen von Eckern unter den beprobten Altbuchen vom Boden aufgelesen wurden (STARKE et al. 1995).

Genetische Strukturen sind an mehreren Enzymgenloci (MÜLLER-STARCK & STARKE 1993) erhoben worden. Einige von diesen erwiesen sich als fast monomorph oder bereiteten in Einzelfällen Interpretationsprobleme, so dass insgesamt nur zehn Genloci (MNR-A, AAT-B, IDH-A, LAP-A, MDH-B und -C, 6PGDH-A, PGI-B, PGM-A und SKDH-A) bzw. unter Einschluss von MDH-A elf Genorte in den ausführlichen Auswertungen Berücksichtigung fanden. Auf diese Weise sind von 22 einbezogenen Beständen je ca. 200 Proben, d.h. insgesamt 4400 Knospenproben im Labor untersucht worden. Hinzu kommen ca. 2.500 untersuchte Eckernproben für den Vergleich der genetischen Strukturen von Beständen und deren Saatgut. Zusammen mit einer Stichprobe vom Umfang 100 in einem phänotypisch äußerst unbefriedigenden Bestand des Forstamtes Otterberg, welche 1995 hinzugezogen wurde, ergab sich für die Enzymuntersuchungen des Buchenmaterials aus Beständen des Bundeslandes Rheinland-Pfalz ein Gesamtumfang von ca. 7.000 Proben, so dass über die 11 Genorte hinweg mehr als 77.000mal das Vorliegen der genotypischen Besetzung an einem Genort ermittelt, dokumentiert und ausgewertet wurde.

Neben der genetischen Variation an Enzymgenloci sind aber auch Varianten in der DNA der Chloroplasten festgestellt worden. Hier betrug der Untersuchungsumfang ca. 30 Buchen für jeden der 22 Altbestände sowie über 400 Eckern aus sechs der 22 Bestände, also auch hier bereits mehr als 1.000 Proben.

Über Ergebnisse der genetischen Inventuren wurde unter anderem in einer Serie von Arbeiten in der Allgemeinen Forst- und Jagdzeitschrift berichtet. In STARKE et al. (1995) sind das Material und die Methoden beschrieben sowie Betrachtungen zu den allelischen Strukturen angestellt worden. VORNAM & HERZOG (1996) behandelten speziell den beobachteten Polymorphismus der cpDNA. In der Arbeit von ZIEHE et al. (1998) stand der Vergleich von Altbestands- und Eckernstrukturen im Vordergrund. TUROK et al. (1998) beschrieben die genetischen Unterschiede zwischen den Altbestandsstichproben unter Verwendung der Methode hierarchischer Differenzierung. Die Einbeziehung des Bestandes Otterberg erfolgte hiervon abgetrennt; die zugehörigen Ergebnisse sind von HATTEMER & ZIEHE (1996) dokumentiert worden.

Nachfolgend sollen neben einigen Kernpunkten der Ergebnisse auch bisher noch nicht veröffentlichte Abbildungen zur räumlichen Verteilung der genetischen Strukturen präsentiert werden, welche sowohl für das Problem der Repräsentativität der Stichproben für die Bestände wie auch für die Verfahren zur Gewinnung von Saatgut von Bedeutung sein dürften.

2 Genetische Unterschiede zwischen Altbeständen

2.1 Isoenzym-Genmarker

Bereits PAULE (1995) hat auf eine im Vergleich zu Koniferen geringe Differenzierung in den genetischen Strukturen der Buche hingewiesen. KONNERT (1995) fand dieses in ihren Untersuchungen an Buchenbeständen Bayerns ebenfalls vor. Im vorliegenden Fall der Buchenbestände in Rheinland-Pfalz zeigte sich ein ähnliches Bild.

Betrachtet man hier den Genbestand an den untersuchten Genorten, so weisen die einzelnen Altbestände genetische Abstände zum jeweils gesamten restlichen Material aus, welche in der Größenordnung zwischen 4,1% und 1,7% liegen (vgl. hierzu Abb. 1). Als Abstandsmaß wurde dabei d_0 verwendet (GREGORIUS 1974), so dass der Abstand - bzw. in der Abb. 1 der jeweilige Radius des Kreischnitts - gerade denjenigen Strukturanteil quantifiziert, welcher mindestens ausgetauscht werden müsste, um die andere - hier im gesamten restlichen Material vorliegende - Struktur zu erhalten. Für die Berechnung der Werte in der Abb. 1 wurde allerdings etwas differenzierungsmindernd neben den zehn oben angesprochenen auch der fast monomorphe Genort MDH-A einbezogen.

Die vergleichsweise größten Unterschiede zum restlichen Buchen-Altbestandsmaterial weisen die Stichproben der beiden nicht-autochthonen Bestände Schneifel (vermutlich aus Saat

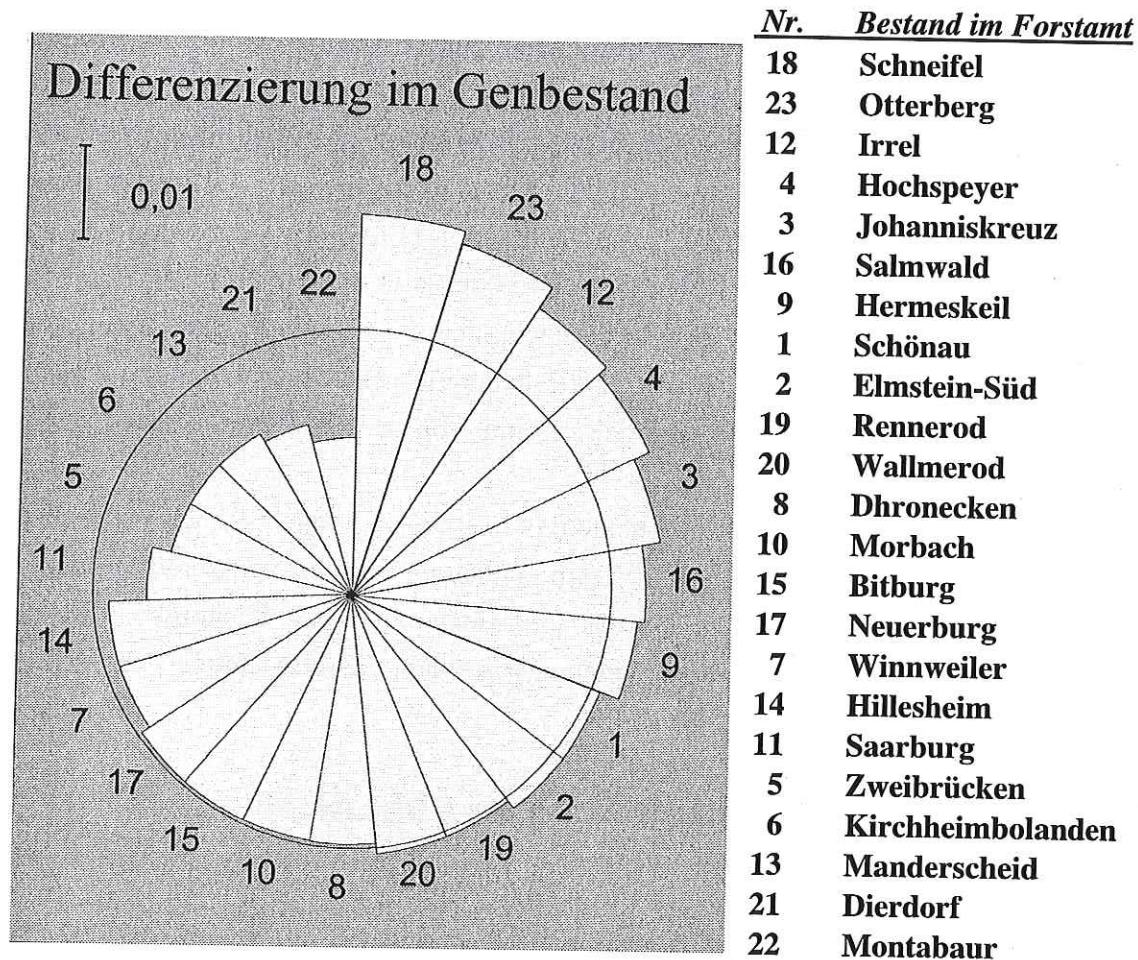


Abb. 1: Genetische Abstände im Genvorrat zwischen den einzelnen Altbestands-Stichproben und dem jeweils komplementären Material (Populationsdifferenzierung) (nach HATTEMER & ZIEHE 1996). Neben den 22 Stichproben der Buchenaltbestände wurde mit gleicher Gewichtung auch der Bestand Otterberg einbezogen.

Fig. 1: Gene pool genetic distances between adult beech stands and the corresponding complementary material (population differentiation) (according to HATTEMER & ZIEHE 1996). The Otterberg stand material has been included with identical weighting.

begründet) und Otterberg (nachweislich Pflanzung) auf. Die geringsten Abstände zeigten die Bestände Dierdorf und Montabaur; diese sind damit auch für das gesamte untersuchte Altbestandsmaterial in Rheinland-Pfalz in ihrem Genbestand die repräsentativsten Bestände. Abb. 2 zeigt mit der Gruppierungsanalyse, dass sich auch hier Schneifel und Otterberg zusammen mit dem möglicherweise nicht-autochthonen Bestand Hochspeyer am wenigsten einordnen lassen. Allerdings lassen sich aus der Abb. 1 auf der Basis des gesamten Genbestandes keine offensichtlichen, etwa nach Wuchsgebieten untergliederten, Gruppierungen unmittelbar ableiten. Dass weder die Wuchsgebiete noch über ökologische Faktoren definierte Regionen genetische Besonderheiten im Genbestand der hier untersuchten

Genloci auffällig reflektieren, mussten auch TUROK (1996) sowie TUROK et al. (1998) feststellen. Betrachtungen einzelner Genloci können hier durchaus ergiebiger sein, wie auch Untersuchungen in anderen Teilen Deutschlands gezeigt haben.

Der Befund vergleichsweise geringer beobachteter Unterschiede zwischen Beständen ist jedoch gerade an den Enzymgenloci keineswegs auf einen generellen Mangel an genetischer Variation zurückzuführen. Innerhalb der Bestände oder Stichproben zeigt die Buche im Vergleich zu anderen Baumarten keine auffällig verminderte, sondern eher ein beträchtliches Ausmaß von Variation (MÜLLER-STARCK et al. 1992).

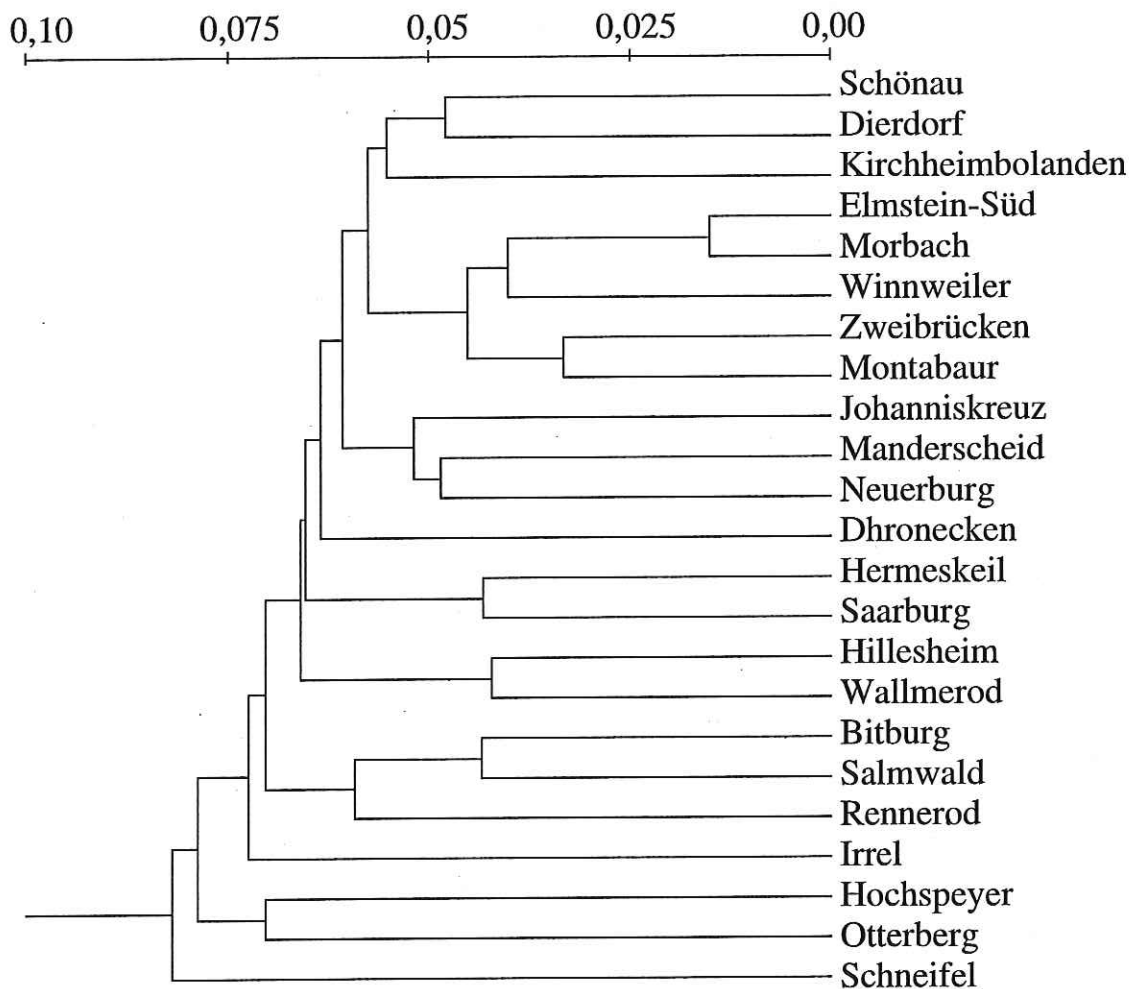


Abb. 2: Gruppierungsmuster (UPGMA) des Genvorrats an 11 Enzymgenloci auf der Basis von d_o .

Fig. 2: Dendrogram (UPGMA) based on gene pool distances d_o over 11 enzyme gene loci.

Abb. 3 zeigt das Beispiel des Enzymgenorts IDH-A. Dort sind für die 22 Stichproben aus den Altbeständen unterschiedlicher Wuchsgebiete die Häufigkeiten der mischerbigen (heterozygoten) Genotypen A_2A_3 dargestellt.

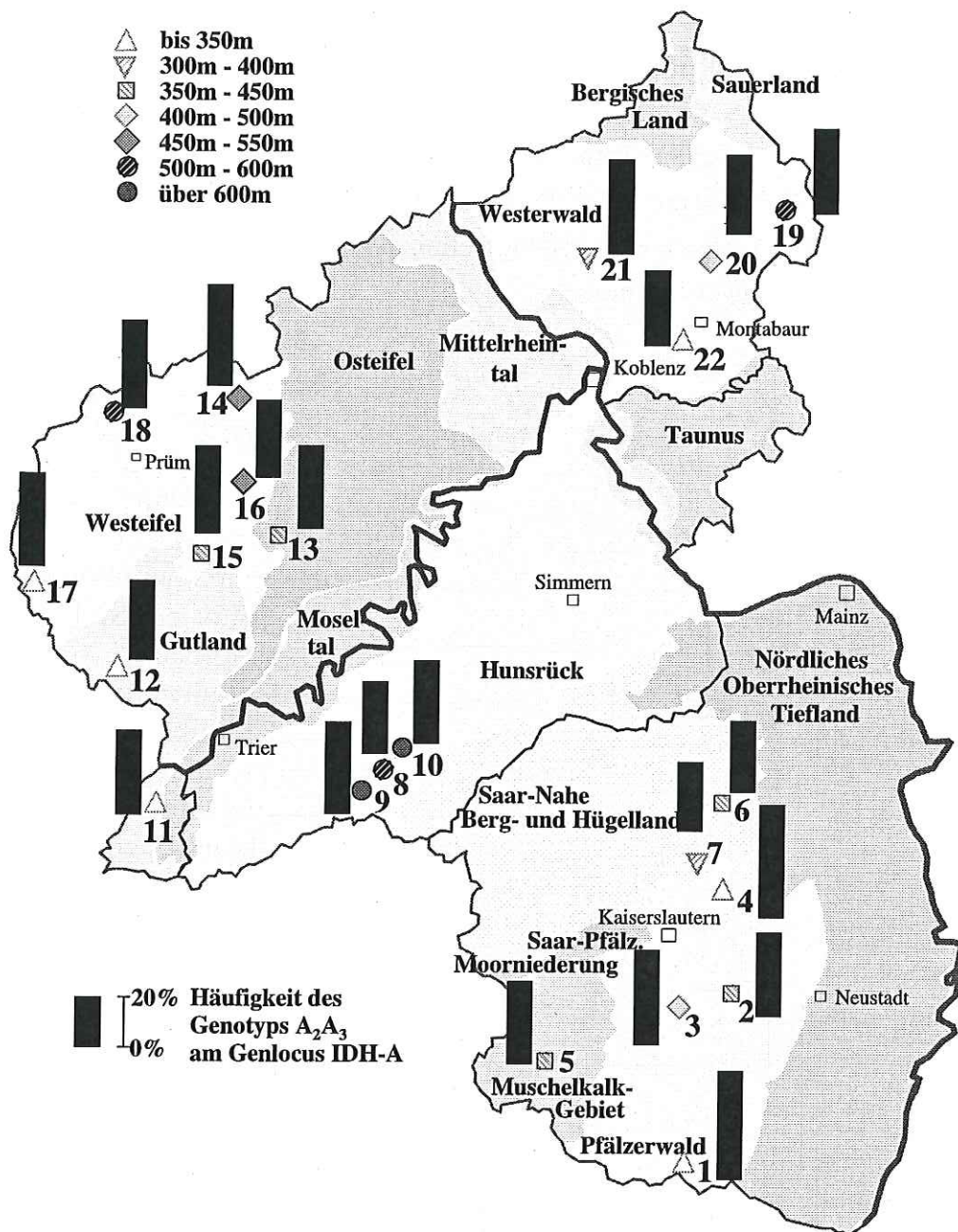


Abb. 3: Relative Häufigkeiten des heterozygoten Genotyps A_2A_3 am Genort IDH-A in verschiedenen Buchenbeständen in Rheinland-Pfalz (die Zuordnung der Bestände zu den Nummern ist in Abb. 1 zu finden).

Fig. 3: Relative frequencies of the heterozygous genotype A_2A_3 at the gene locus IDH-A in different beech stands of Rhineland-Palatinate. (In Fig. 1 the assignment between stands and numbers is described.)

Die relative Häufigkeit dieses Heterozygoten liegt im gesamten Material bei 34,3%. Die Stichproben der gar nicht weit voneinander entfernten Bestände 4 (Hochspeyer) mit 45% und 7 (Winnweiler) mit 27,5% sind zwar deutlich voneinander verschieden; unter allen 22 Stichproben sind jedoch 16 mit relativen Häufigkeiten von A_2A_3 zwischen 30% und 38% zu finden und nur jeweils 3 Stichproben unter 30% bzw. über 38%.

Deutliche Unterschiede oder Abweichungen sind möglicherweise gerade für diesen Genotyp von ökologischer Bedeutung. A_2A_3 ist in zwei voneinander unabhängigen Beständen signifikant häufiger bei solchen Buchen gefunden worden, welche eine hohe Befallsdichte durch die Buchenwollschildlaus (*Cryptococcus fagisuga* LIND.) aufwiesen (GORA et al. 1994, PETERCORD 1999). Mit der Befallsdichte erhöht sich aber auch die Gefahr der Infektion mit *Nectria*. Über die hierdurch ausgelösten und potentiell bis zum Buchenrindensterben führenden Schäden ist ein genetischer Selektionsdruck zu erwarten, welcher in der Vergangenheit nach Massenvermehrung der Buchenwollschildlaus zumindest langfristig zu einer Verminderung der Häufigkeit der Träger von A_2A_3 geführt haben könnte. Geringe Häufigkeiten dieses Genotyps könnten ein Indiz hierfür sein, besonders hohe Häufigkeiten aber eine vorhandene Gefährdung andeuten.

Abb. 4 enthält die Informationen zum relativ seltenen Allel B_3 am Genort PGI-B. Dieses ist besonders häufig (18 mal in einer Stichprobe vom Umfang 400) im nicht-autochthonen Bestand Schneifel (18) zu finden, in manchen anderen wie Hochspeyer (4), Irrel (12) oder Neuerburg (17) dagegen bei vergleichbarem Stichprobenumfang überhaupt nicht.

2.2 Molekulargenetische Marker

Die zuvor dargestellten Buchenpopulationen wurden jedoch nicht nur mit Hilfe von Enzymgenloci (STARKE et al. 1995), sondern erstmals auch mit Hilfe molekulargenetischer Marker auf der Grundlage unterschiedlicher Restriktionsfragmentlängen der Chloroplasten-DNA (cpDNA) untersucht.

Bei der Chloroplasten-DNA handelt es sich um ein während der Evolution stark konserviertes Molekül; dies bedeutet, dass Genorganisation und Nukleotidsequenz, auch für unterschiedliche Taxa betrachtet, sehr ähnlich sind.

Die Analyse von Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismen (RFLP), die auf Nukleotid-Insertionen oder -Deletionen basieren, ist eine geeignete Methode, um für populationsgenetische Untersuchungen Variation in der Chloroplasten-DNA zu entdecken. Im Gegensatz zu den von Kern-DNA kodierten Isoenzymen wird die Chloroplasten-DNA nur über den Samenelter vererbt. Theoretische Untersuchungen (GILLET 1993) zeigen, dass der Vererbungsmodus der DNA die genetische Differenzierung von Populationen beeinflusst.

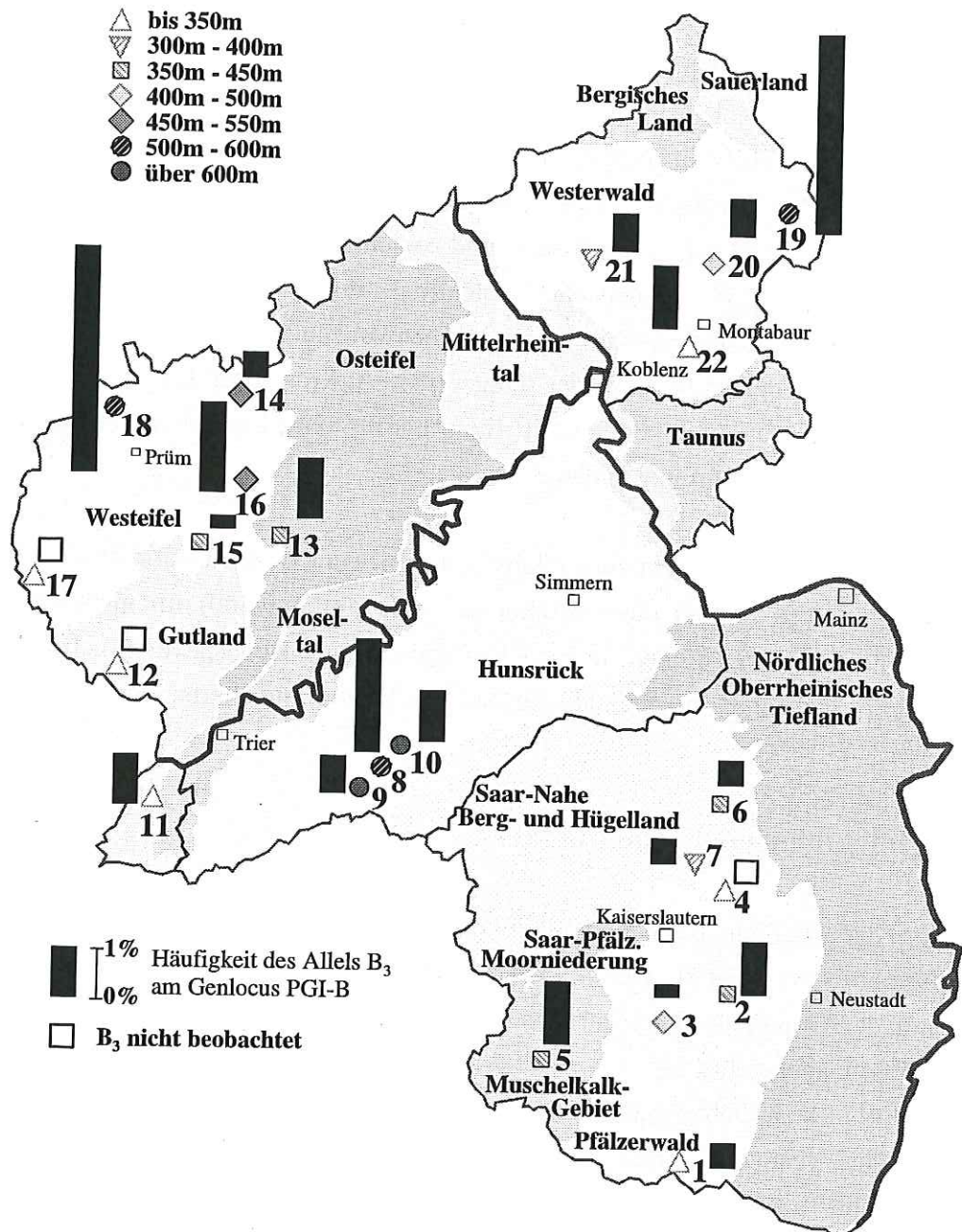


Abb. 4: Relative Häufigkeiten des Allels B₃ am Genort PGI-B in verschiedenen Buchenbeständen.
Fig. 4: Relative frequencies of the allele B₃ at the gene locus PGI-B in different beech stands.

Beispielsweise wird die Differenzierung zwischen natürlichen Populationen für uniparental vererbte cytoplasmatische DNA größer zu erwarten sein als für biparental vererbte nukleare DNA; letztere wird auch mit dem effektiven Pollen verbreitet.

Im Gegensatz zu den bisher untersuchten Gymnospermen, deren Chloroplasten-DNA über den Pollen weitergegeben wird, zeigen die bisher beschriebenen Angiospermen eine Weitergabe ihrer Chloroplasten-DNA über den Samen; dies gilt auch für die Buche.

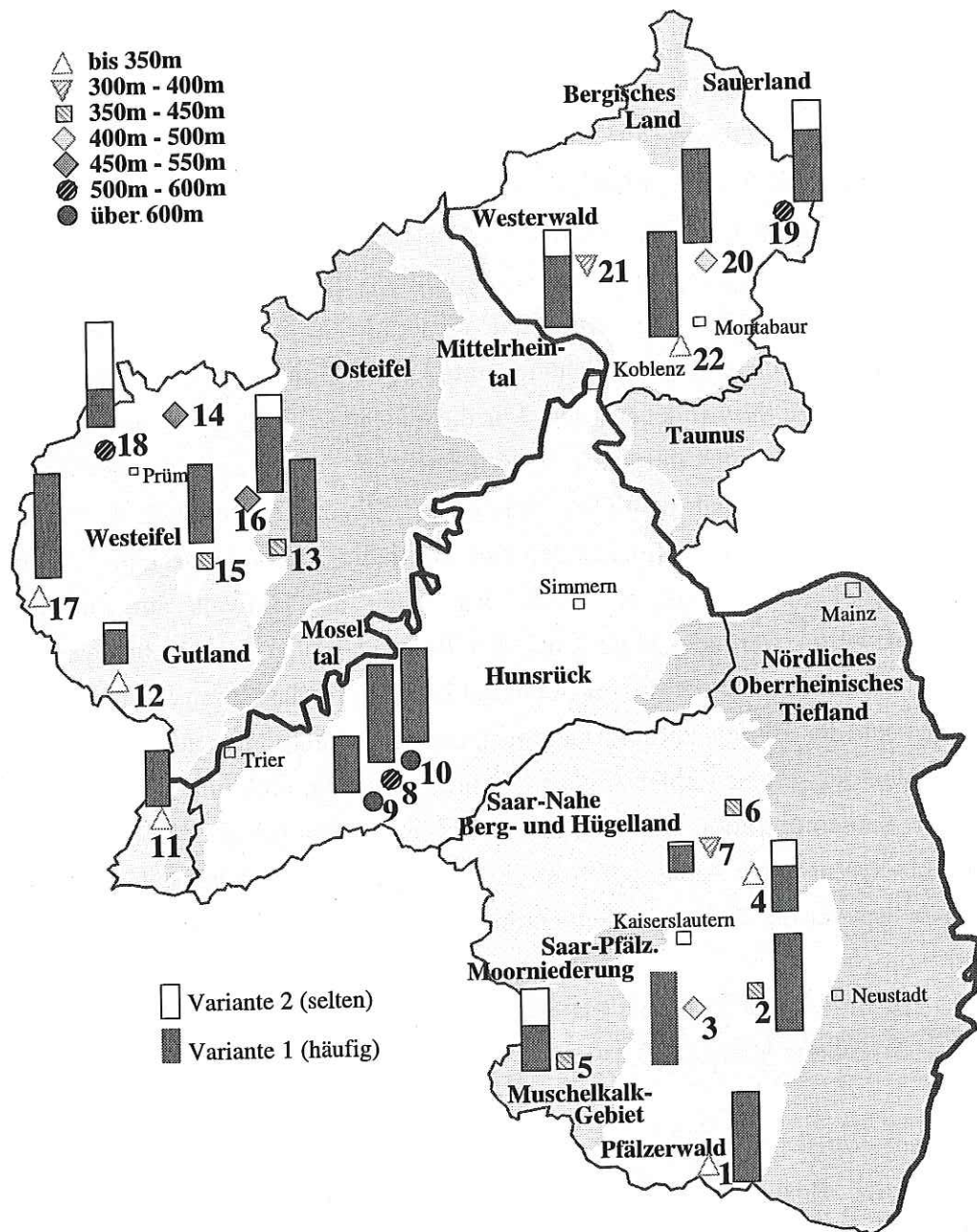


Abb. 5: Beobachtete Anzahlen verschiedener cpDNA-Varianten in verschiedenen Buchenbeständen aus Rheinland-Pfalz (nach VORNAM & HERZOG 1996).

Fig. 5: Observed number of cpDNA variants in different beech stands from Rhineland-Palatinate (according to VORNAM & HERZOG 1996).

Aufgrund der gegenüber der Pollenverbreitung deutlich reduzierten Samenverbreitung (STARKE 1996; MÜLLER-STARCK 1996) ist zu erwarten, dass die Variation innerhalb einer Buchenpopulation gering, die Differenzierung zwischen verschiedenen Populationen größer ist. Es wurden zwei verschiedene RFLP-Muster gefunden. Die meisten der untersuchten Bestände zeigen einheitlich das mit 1 bezeichnete Muster. Wesentlich seltener wurde die als 2 bezeichnete Variante gefunden.

In der Abb. 5 ist die Verteilung der cpDNA-Typen in unterschiedlichen Bestandesstichproben dargestellt. Es zeigt sich, dass in den Beständen Hochspeyer (4), Zweibrücken (5), Schneifel (18), Rennerod (19) und Dierdorf (21) auch die zweite, insgesamt seltenere, Variante häufiger oder doch zu gleichen Teilen gefunden wird. Da diese Bestände aus vier verschiedenen Wuchsgebieten stammen, lässt sich die Variation der Chloroplasten-DNA nicht notwendigerweise mit der geographischen Variation korrelieren. Eher könnte eine künstliche Begründung von Beständen das Auftreten dieser verschiedenen cpDNA-Populationen erklären, wenn also beispielsweise Saatgut fremden Ursprungs oder die Samen von nur wenigen Bäumen dazu verwendet wurden. Für die Bestände Hochspeyer und Schneifel wird ähnlich den DNA-Daten auch bei den Isoenzymdaten ein größerer genetischer Abstand zum gesamten restlichen Material gefunden. Weiterhin zeigen die Bestände Hochspeyer und Schneifel auch in anderen Variationsmaßen Besonderheiten, so z. B. geringere Werte in der genischen Vielfalt (STARKE et al. 1995), was auch als Hinweis auf eine künstliche Begründung gewertet werden könnte. Aus den Bestandesdaten für Hochspeyer geht nicht hervor, wie dieser begründet wurde; für Schneifel ist bekannt, dass er aus Saat entstand. Hätten sich nach der Eiszeit zurückwandernde Buchenpopulationen noch durch den Besitz bzw. das Fehlen der seltenen cpDNA-Variante unterschieden, so könnten doch seither durch die natürliche Samenmigration oder die künstliche Begründung mit Saatgut aus verschiedenen Beständen beide Varianten nachträglich in ein und denselben Bestand gelangt sein. Für die Bestände Hochspeyer und Schneifel liegt gerade die letztere Möglichkeit der Erklärung nahe.

3 Genetische Strukturen innerhalb der Bestände und deren räumliche Verteilung

Die Art und Weise der Stichprobennahme mittels bestandesspezifischer Raster an entsprechend der Bestandesgröße gleichmäßig verteilten 200-210 Punkten sollte den jeweiligen Gesamtbestand abdecken. Über eine mögliche und auch erwartete Repräsentativität für den jeweiligen Bestand war jedoch vorab keine zuverlässige Aussage zu treffen. Mit Hilfe der Koordinaten der Rasterpunkte kann man sich allerdings jeweils einen Eindruck verschaffen, wie die Gene auf der Fläche verbreitet sind. Die Abb. 6 und Abb. 7 zeigen für die Genorte IDH-A und PGM-A die Verteilung der Genotypen im beprobten Teil des Bestandes Johanniskreuz (Großer Steinberg). Die mögliche Bedeutung des Genotyps A_2A_3 am Genort IDH-A ist oben bereits angesprochen worden.

Der Verteilung der Genotypen in Abb. 6 kann man entnehmen, dass die Typen keineswegs gleichmäßig über die Fläche verteilt vorliegen. Im östlichen Hangbereich ist der seltene homozygote Genotyp A_2A_2 kaum vertreten. Dafür ist dort überwiegend A_3A_3 zu finden. In ähnlicher Weise zeigt sich auch am Genort PGM-A eine stärkere Häufung des Genotyps A_2A_2 gerade im westlichen Hangbereich.

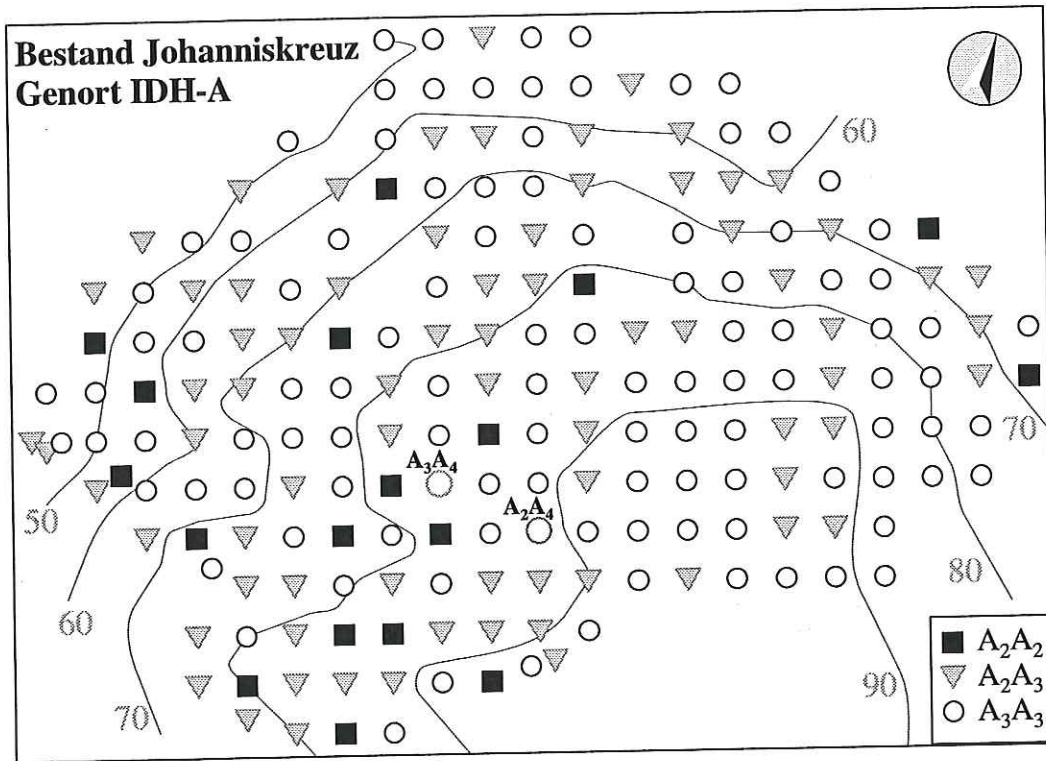


Abb. 6: Verteilung der verschiedenen Genotypen am Genort IDH-A im Bestand Johanniskreuz.

Fig. 6: Spatial distribution of the different genotypes at the gene locus IDH-A within the beech stand Johanniskreuz.

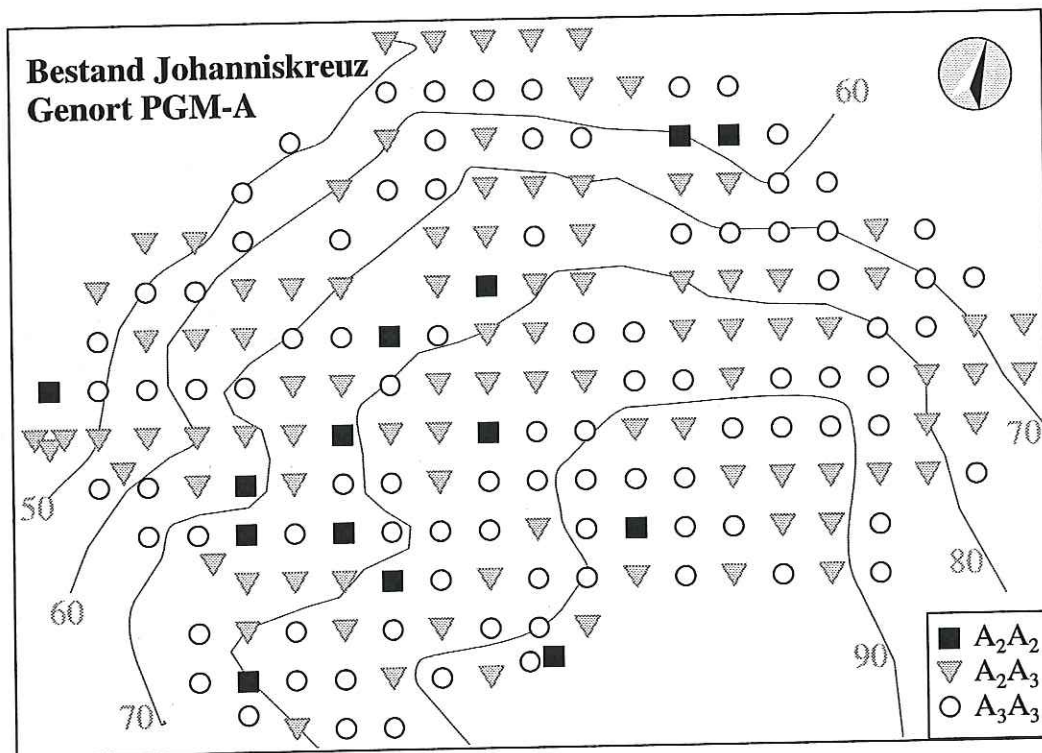


Abb. 7: Verteilung der Genotypen am Genort PGM-A im Bestand Johanniskreuz.

Fig. 7: Spatial distribution of the different genotypes at the gene locus PGM-A within the beech stand Johanniskreuz.

In Abb. 8 ist die räumliche Autokorrelation des Allels IDH-A₂ mit Hilfe von MORAN'S I

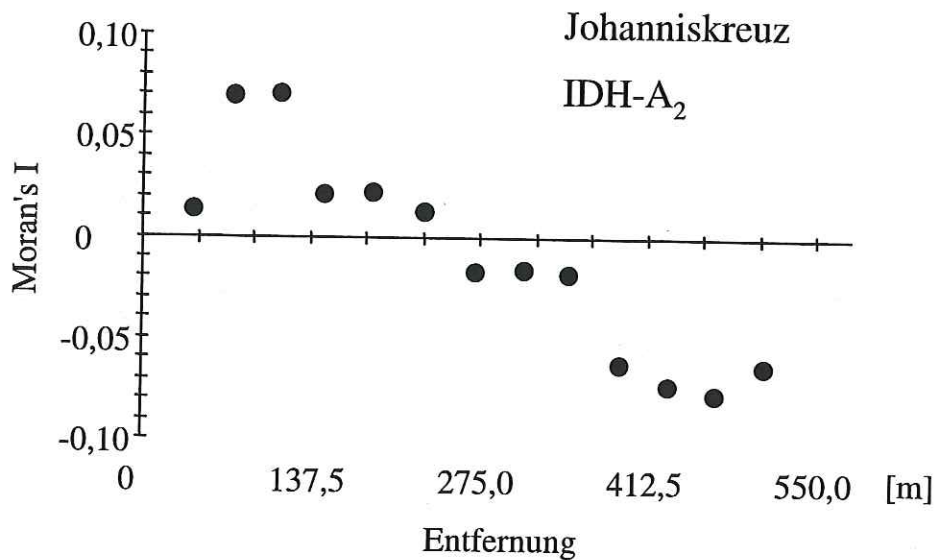


Abb. 8: Darstellung der räumlichen Autokorrelation des Allels IDH-A₂ im Bestand Johanniskreuz mittels Moran's I. Die Entfernungsklassen sind so gewählt, dass jeweils mehr als 500 Buchenpaare repräsentiert sind.

Fig. 8: Illustration of the spatial autocorrelation of the allele IDH-A₂ in the Johanniskreuz stand with the help of MORAN's I. The intervals for the separation distances are chosen such that each interval contains more than 500 pairs of beech trees.

veranschaulicht. Es zeigt sich hier, dass eine beträchtliche Ähnlichkeit in der Anwesenheit von A₂ für Buchenpaare auftritt, welche eine Distanz um ca. 100m haben. Diese Distanz liegt deutlich über den Werten zwischen 15m und 30m, welche in niedersächsischen Beständen bei vermuteten Familienstrukturen maximales I gezeigt haben und bei denen in der Regel zwischen 50m und 75m bereits negative Werte erreicht wurden. Am Genort PGM-A haben sich in Untersuchungen über genetische Unterschiede geschädigter und toleranter Altbuchen (MÜLLER-STARCK 1993) die größten Unterschiede gezeigt. Tolerante Altbuchen weisen an PGM-A (ZIEHE & HATTEMER 1998) höhere Heterozygotie und eine höhere Häufigkeit des Allels A₂ auf. Obwohl nicht alle Buchen des hier beprobten Bestandeteils im Forstamt Johanniskreuz erfasst worden sind, kann man nach Abb. 7 doch erwarten, dass im westlichen Bereich der einbezogenen Fläche nach freier Abblüte in den Samen eine höhere Heterozygotie wie auch größere Häufigkeit von A₂ zu finden sein müssten, als im östlichen Bereich. Dieser Befund könnte ebenfalls auf Unterschiede in den Anpassungskapazitäten (ZIEHE & GREGORIUS 1996) wie auf Auswirkungen auf den Erfolg einer Verjüngung deuten (ZIEHE et al. 1995).

Von den Eckern aus dem westlichen Teil ließe sich angesichts der Bedeutung von PGM-A bessere genetische Angepasstheit eines späteren Albestands vermuten.

Im Bestand Neuerburg war ein Teil der beprobten Fläche durch einen Sturm Schaden abgetrennt. Wie in Abb. 9 für die Verteilung der Genotypen am Genort IDH-A zu erkennen ist, tritt der Genotyp A_2A_2 wiederum verstärkt in einem kleineren Bereich auf. Da es sich um einen nicht-autochthonen Bestand handelt, können verschiedene Teile des Bestandes durchaus mit Material unterschiedlicher Abstammung begründet worden sein und deshalb ein derartiges Muster aufweisen.

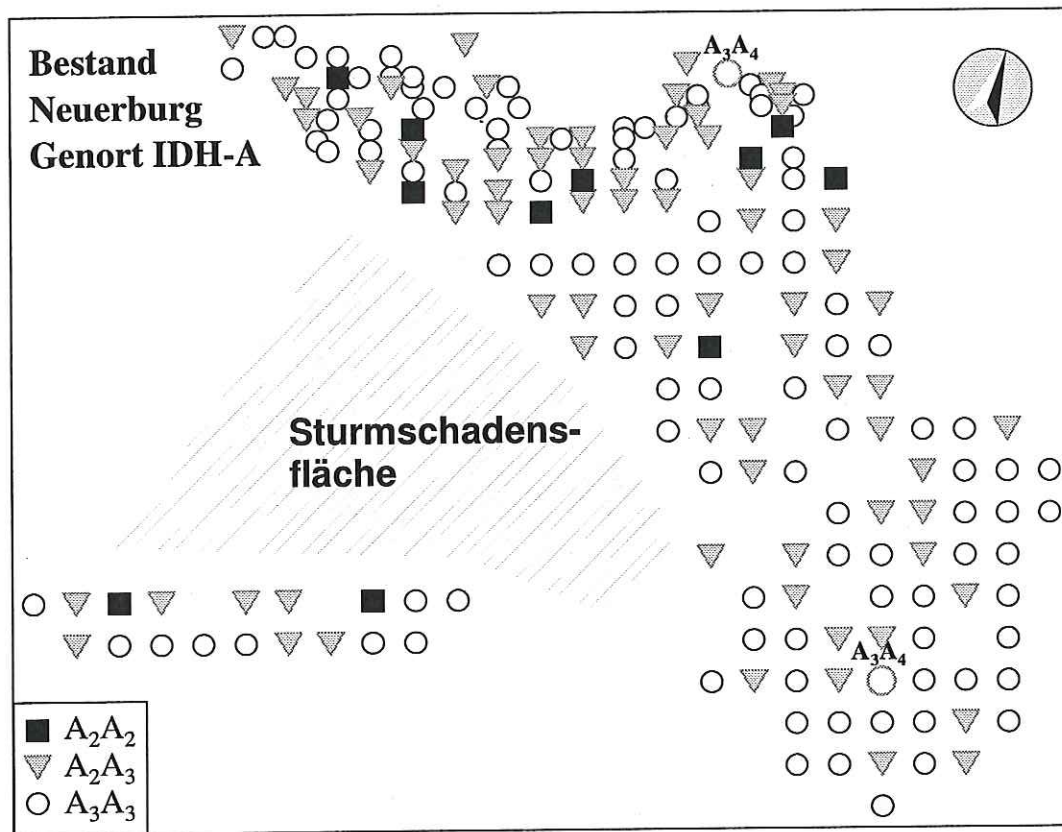


Abb. 9: Verteilung der verschiedenen Genotypen am Genort IDH-A im Bestand Neuerburg.

Fig. 9: Spatial distribution of the different genotypes at the gene locus IDH-A within the beech stand Neuerburg.

Es ist jedoch keineswegs ausgeschlossen, dass auch unterschiedliche Selektionsbedingungen innerhalb eines Bestandes zu einer solchen Musterbildung führen. In der Abb. 10 ist graphisch interpoliert die Häufigkeit von PGM- A_2 für die beprobte Fläche im Forstamt Elmstein-Süd dargestellt. Die Werte beziehen sich auf die „Dosis“ von A_2 und variieren zwischen 0 (Abwesenheit von A_2 in der näheren Umgebung) und 2 (Homozygotie für A_2 auch in der näheren Umgebung).

In Abb. 10 kann man wiederum deutlich erkennen, dass die Bereiche größerer Anhäufung von A_2 in ihrer Ausdehnung in Größenordnungen oberhalb von Familienstrukturen liegen. Solche Familienstrukturen sind durch Parameter räumlicher Autokorrelation (MORAN's I)

gekennzeichnet, welche eine deutliche Abnahme bereits nach 20 bis 25 m zeigen und spiegeln somit in etwa die Größe von Verjüngungshorsten wider.

Die in Abb. 10 vorzufindenden Musterbildungen wären wieder weitaus großflächiger und damit schwerlich allein durch die Beteiligung jeweils einiger weniger Sameneltern an der Entstehung einer natürlichen Verjüngung zu erklären.

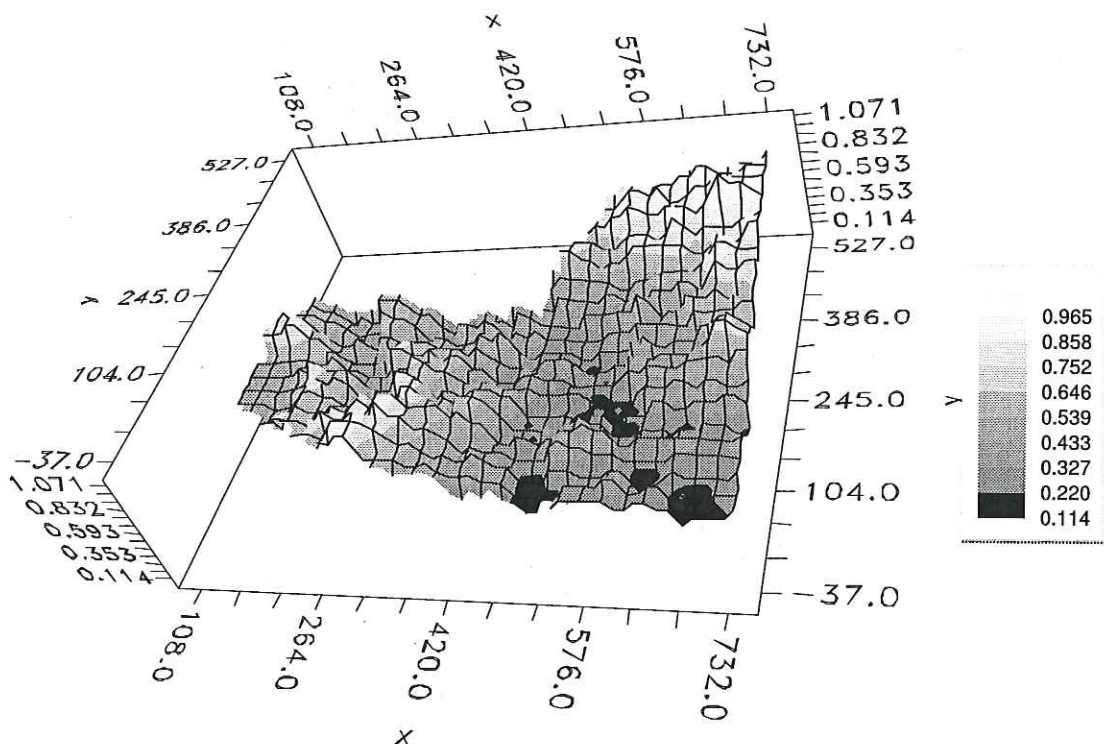


Abb. 10: Flächenige Darstellung (GIS) der Häufigkeit des Allels A₂ am Genort PGM-A im beprobten Teil des Bestandes Elmstein-Süd. Räumliche Koordinaten sind in Metern angegeben; Häufigkeiten, siehe Hell-Dunkel-Farbskala rechts.

Fig. 10: Spatial distribution (GIS) of the frequency of allele A₂ at the gene locus PGM-A within the investigated part of the stand Elmstein-Süd. Spatial coordinates are described by [m,]; for frequencies, cf. color scale from bright to dark on the right.

4 Genetische Unterschiede zwischen Buchen-Altbeständen und ihren Samen

Die genetischen Unterschiede zwischen Altbeständen und den nach unterschiedlichen Verfahren in diesen Beständen gewonnenen Eckern sind Gegenstand der Arbeit von ZIEHE et al. (1998). In Tab. 1 sind die dort beschriebenen genetischen Abstände (d. h. d_0) jeweils für

die Allele und Genotypen an den verschiedenen Genorten aufgelistet. Die Bezeichnung I bezieht sich auf das in Netzen gewonnene Klengenmaterial, II auf die gleichmäßig unter den beprobten Buchen gesammelte Eckernstichprobe, welche jedoch aus einem anderen Erntejahr stammt. Von besonderem Interesse ist im vorliegenden Fall der Bestand Johanniskreuz, für den einerseits beide Verfahren der Eckerngewinnung angewandt wurden und andererseits gemäß Abb. 6 für IDH-A und PGM-A Bereiche der Anhäufung spezieller Allele auszumachen sind. Tab. 1 zeigt für IDH-A signifikante genetische Unterschiede zwischen den Strukturen des Altbestandes und denen des Klengenmaterials. Dagegen sind die genetischen Unterschiede zwischen Altbestand und der gleichmäßig erhobenen Stichprobe weniger als halb so groß und nicht signifikant. Ein ähnlicher, wenngleich nicht so ausgeprägter Trend zeigt sich an PGM-A.

ZIEHE et al. (1998) führen diese Befunde in erster Linie auf Fertilitätsselektion und dabei insbesondere auf unterschiedlichen Samenansatz zurück. Da man die Netze aus Gründen der Effizienz in der Regel in stark fruktifizierenden Bestandteilen ausbringt, werden auf diese Weise automatisch die Gene benachteiligt, deren Träger geringe Gameten- und Samenproduktion aufweisen.

Buchen mit überdurchschnittlicher Samenproduktion in (vielleicht zufällig) unmittelbarer Nähe eines Netzes können zudem noch weitaus mehr ihrer genetischen Information zum Klengenmaterial beitragen als hiervon entfernter stehende Buchen. Bei einer zusätzlich vergleichsweise geringen Anzahl von Auffangnetzen dürfte sich die Position der Netze auf die genetischen Strukturen des Klengenmaterials noch deutlicher auswirken und zu anderen genetischen Strukturen führen, als sie im Altbestand oder im Fall einer in der Fläche gleichmäßiger gesammelten Stichprobe zu erwarten wären.

Für das Material aus Johanniskreuz lag an den beiden Genorten IDH-A und PGM-A das seltenere Allel A_2 im Klengenmaterial (Eckernstichprobe I) jeweils deutlich seltener vor als im beprobten Altbestand. Während beispielsweise IDH- A_2 im Altbestand noch 28% erreicht, fand man dieses Allel im Stichprobenmaterial der Netze nur zu 19,3%, in der flächenmäßig gleichmäßiger gesammelten Eckernstichprobe II dagegen noch mit 25,2%. Es ist durchaus denkbar, dass die Netze bevorzugt in den Bestandteilen lagen, in denen A_3 besonders gehäuft und A_2 in geringerer Anzahl auftritt.

Tab. 1: Allelische, genische und genotypische Abstände (d_o in %) zwischen Altbestands- und den zugehörigen Bucheckernstichproben (aus ZIEHE et al. 1998). *, ** und *** markieren statistisch signifikante Unterschiede (Homogenitätstest).

*Allelic, gene pool and genotypic distances (d_o in %) between trees of the stand and each of the beech nut samples (from ZIEHE et al. 1998). *, ** and *** indicate statistically significant differences (contingency test).*

| Bestand: | Schönau | | Johanniskreuz | | Morbach | | Mand. | Bitburg | Neuerb. |
|------------------------------|------------|------------|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Eckern I | Eckern II | Eckern I | Eckern II | Eckern I | Eckern II | Eckern I | Eckern I | Eckern I |
| Allelische Abstände | | | | | | | | | |
| DIA-A | 1,0 | 1,8 | 0,0 | 2,0 | 1,0 | 1,3 | 0,7 | 1,5 | 1,2 |
| GOT-B | 6,2 * | 6,0 | 2,5 | 1,0 | 0,6 | 0,3 | 3,8 | 2,2 | 1,8 |
| IDH-A | 0,9 | 1,5 | 8,7 ** | 3,0 | 4,7 * | 2,1 | 5,3 | 1,6 | 10,6 ** |
| LAP-A | 3,9 | 5,3 | 19,2 *** | 14,2 *** | 22,4 *** | 25,5 *** | 2,6 | 6,8 | 5,7 |
| MDH-B | 4,4 ** | 3,0 | 0,7 | 3,5 | 3,6 * | 5,2 ** | 1,8 | 4,9 ** | 2,5 * |
| MDH-C | 2,5 | 5,9 | 2,5 | 0,2 | 4,6 | 0,1 | 1,9 | 5,7 * | 15,2 *** |
| 6PGDH-A | 4,2 * | 2,5 | 3,2 * | 0,0 | 1,0 | 0,4 | 0,6 | 0,6 | 0,0 |
| PGI-B | 0,6 | 0,2 | 0,2 | 0,0 | 0,1 | 0,3 | 0,0 | 0,0 | 0,2 |
| PGM-A | 5,2 | 1,7 | 4,7 | 2,5 | 13,5 *** | 8,9 * | 2,2 | 3,4 | 2,2 |
| SKDH-A | 1,6 | 1,2 | 2,5 | 1,7 | 2,0 * | 1,5 | 1,2 | 0,3 | 0,7 |
| Genvorrat | 3,0 | 2,9 | 4,4 | 2,8 | 5,3 | 4,6 | 2,0 | 2,7 | 6,2 |
| Genotypische Abstände | | | | | | | | | |
| DIA-A | 3,0 | 1,9 | 1,4 | 4,5 | 1,6 | 2,7 | 1,4 | 3,1 | 3,6 |
| GOT-B | 7,2 | 6,7 | 4,0 | 9,0 | 5,0 | 3,9 | 5,3 | 2,5 | 5,7 |
| IDH-A | 2,6 | 10,9 | 12,7 * | 4,5 | 7,8 * | 4,6 | 7,8 | 2,7 | 17,4 ** |
| LAP-A | 15,7 * | 10,2 | 25,4 *** | 24,5 ** | 26,9 *** | 30,9 *** | 6,9 | 13,1 | 9,9 |
| MDH-B | 8,4 * | 6,4 | 1,7 | 7,0 | 6,5 | 9,4 * | 4,3 | 9,4 ** | 4,9 |
| MDH-C | 4,3 | 9,5 | 3,9 | 3,5 | 5,8 | 3,0 | 5,4 | 10,3 | 21,0 *** |
| 6PGDH-A | 9,0 * | 6,0 | 5,0 * | 3,0 | 1,9 | 0,7 | 1,0 | 1,0 | 3,3 |
| PGI-B | 1,2 | 0,5 | 0,4 | 0,0 | 0,1 | 0,5 | 0,0 | 0,1 | 0,5 |
| PGM-A | 9,7 | 2,7 | 8,2 | 4,0 | 19,6 *** | 14,4 * | 2,5 | 3,7 | 2,9 |
| SKDH-A | 2,1 | 1,9 | 3,5 | 2,5 | 2,8 | 2,0 | 1,5 | 0,5 | 1,5 |

Aus den Ergebnissen wird deutlich, welchen Einfluss Beerntungsverfahren auf die genetischen Strukturen des Saatguts haben können. Bei Beerntung nur einiger Bäume oder bei Ausbringung weniger Netze in einem speziellen Bestandesteil erscheint gerade im Fall genetisch unterschiedlich strukturierter Bestandesbereiche die Frage der Repräsentativität von Eckernstrukturen für die genetischen Strukturen des Gesamtbestandes besonders problematisch.

5 Einige Schlussfolgerungen

- Die Repräsentativität der in den beprobten Bestandteilen ermittelten genetischen Strukturen für den gesamten Bestand ist angesichts der vorgefundenen räumlichen Musterbildungen zum Teil fraglich. Offenbar kann bereits die Auswahl der zu beprobenden Teilflächen erheblichen Einfluss hierauf haben. Dies stellt natürlich auch ein Problem für die Verwendung der Daten in Differenzierungsanalysen dar.

- Gerade an den Genloci IDH-A und PGM-A zeigen sich flächige Muster, aber auch an anderen Genloci, wie es am Beispiel LAP-A für den Bestand Morbach von ZIEHE et al. (1998) beschrieben wurde. Solche großflächigeren Musterbildungen sind in autochthonen wie auch nicht-autochthonen Beständen gefunden worden.

In autochthonen Beständen können einerseits Verwandtschaftsstrukturen eine Rolle spielen. Stammt der Jungwuchs in Verjüngungsinseln nämlich jeweils nur von einigen wenigen Sameneltern, bildet also jeweils eine Mischung aus wenigen Nachkommenschaften, so können sich Familienstrukturen mit Besonderheiten in der räumlichen genetischen Strukturierung zeigen. Diese sind in ihrem erkennbaren Effekt aber in etwa auf die Größe solcher Verjüngungsinseln begrenzt. Andererseits können an Genloci mit adaptiver Relevanz spezifische lokale Umwelteinflüsse über natürliche Selektion zu großflächigerer räumlicher Musterbildung beitragen und sich über genomische Assoziationen auch (wenngleich in geringerer Intensität) an adaptiv nicht relevanten Genorten zeigen.

Bei künstlicher Begründung dürfte eine zufallsmäßige Ausbringung von Pflanzmaterial für eine gute Durchmischung im Stadium des Jungwuchses sorgen. Die Verwendung genetisch unterschiedlichen Materials auf Teilflächen oder partiell erfolgte Kompensationssaat oder -pflanzung kann jedoch ebenfalls eine Musterbildung vorgeben, ohne dass hier Selektion gewirkt haben muss.

Die Betrachtung mehrerer Genloci könnte wiederum darüber Aufschluss geben, ob sich eine relativ identische Musterbildung über viele, auch adaptiv nicht relevante, Genorte zeigt und eine deutliche Vorstrukturierung bereits im Verjüngungsmaterial zu vermuten ist, oder ob die Muster sich in ausgeprägter Art und Weise nur an einigen wenigen adaptiv relevanten Genorten zeigen. Ob überhaupt und eventuell wann eine adaptive Bedeutung etwa von Enzymgenloci zu vermuten ist, kann wiederum aus Experimenten zur Viabilitätsselektion in Buchenjungwuchs abgeleitet werden (MÜLLER-STARCK 1993; STARKE et al. 1996).

- Dass benachbarte Bestände in Einzelfällen größere genetische Unterschiede zeigen als weiter voneinander entfernte, ist auch in den vorliegenden Untersuchungen vorgekommen

und könnte auf spezifische lokale Einflüsse zurückzuführen sein. Dass spezifische Umweltfaktoren sich in Besonderheiten der genetischen Strukturen auswirken, liegt wiederum nahe, falls sich Musterbildung bereits in Bestandesteilen zeigt. Wenn dann aber lediglich Bestandesteile zur Beurteilung der Bestandesstrukturen herangezogen werden, haben die lokal wirksamen Umweltfaktoren Einfluss auf die Ergebnisse hierarchischer Differenzierung. Dabei wird es schwer, über den Genbestand großräumige Differenzierung abzusichern, wie man es zum Beispiel beim Vergleich der Wuchsgebiete in Rheinland-Pfalz feststellen konnte. Die Betrachtung einzelner weniger Genorte ist hier möglicherweise lohnend, wie das Beispiel PGM-A in der bundesweiten Auswertung zeigt.

- Die Repräsentativität der genetischen Strukturen von Eckern für die Strukturen von Buchenbeständen hängt entscheidend vom Verfahren der Ernte oder Sammlung der Samen ab. Hier kann eine zusätzliche flächige Strukturierung der Altbestände gerade bei Beerntung nur weniger Bäume oder Verwendung nur weniger Auffangnetze das Problem noch verstärken. Soll Saatgut die genetischen Strukturen eines Altbestandes widerspiegeln, bedarf es sorgfältiger Planung der Saatgutgewinnung.

Danksagung

Die hier präsentierten Ergebnisse sowie die am Ende der Einführung genannte Reihe von Veröffentlichungen basieren auf genetischen Inventuren in rheinland-pfälzischen Buchenbeständen und wurden durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Georg-August-Universität Göttingen „*Untersuchung der genetischen Strukturen von Buchen (Fagus sylvatica) in ausgewählten Beständen der Wuchsbezirke in Rheinland-Pfalz*“ finanziell gefördert. Für diese Förderung sei hier ausdrücklich gedankt.

6 Literatur

GILLET, E., (1993): Genmarker als Entscheidungshilfen für die Genkonservierung. I. Zweckdienliche Auswahl von Markertypen. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 164.Jg., S.30-35.

GORA, V.; STARKE, R.; ZIEHE, M.; KÖNIG, J.; MÜLLER-STARCK, G. & LUNDERSTÄDT, J. (1994): Influence of genetic structures and silvicultural treatments in a beech stand (*Fagus sylvatica*) on the population dynamics of beech scale (*Cryptococcus fagisuga*). *Forest Genetics*, 1, pp.157-164.

GREGORIUS, H.-R. (1974): Genetischer Abstand zwischen Populationen I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica*, 23, S.22-27.

HATTEMER, H. H. & ZIEHE, M. (1996): An attempt to infer on the origin of a beech (*Fagus sylvatica* L.) stand in Rheinland-Pfalz (Germany). *Silvae Genetica*, 45, pp.276-283.

KONNERT, M. (1995): Investigations on the genetic variation of beech (*Fagus sylvatica* L.) in Bavaria. *Silvae Genetica*, 44, pp.346-351.

MAURER, W. & TABEL, U. (2000): Einrichtung und Bewirtschaftung forstlicher Gen-erhaltungsbestände am Beispiel der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Rheinland-Pfalz (Deutschland). *Forest, Snow and Landscape Research*, 75, 1/2, pp.219-231.

MÜLLER-STARCK, G. (1993): Auswirkungen von Umweltbelastungen auf genetische Strukturen von Waldbeständen am Beispiel der Buche (*Fagus sylvatica* L.). *Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt*, Bd. 112. Frankfurt am Main: J. D. Sauerländer's Verlag. 163 Seiten.

MÜLLER-STARCK, G. & STARKE, R. (1993): Inheritance of isoenzymes in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Journal of Heredity*, 84, pp.291-296.

MÜLLER-STARCK, G.; BARADAT, P. & BERGMANN, F. (1992): Genetic variation within European tree species. *New Forests*, 6, pp.23-47.

MÜLLER-STARCK, R. (1996): Die Reproduktion der Buche (*Fagus sylvatica* L.) unter verschiedenen waldbaulichen Gegebenheiten. Forstwissenschaftliche Dissertation an der Universität Göttingen, III+109 Seiten.

PAULE, L. (1995): Gene conservation of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics*, 2, pp.161-170.

PETERCORD, R. (1999): Entwicklung bewirtschafteter Buchen-Edellaubholz-Mischbestände unter dem Einfluss der Buchenwollschilddlaus unter besonderer Berücksichtigung physiologischer und genetischer Aspekte. Hainholz-Verlag, Forstwissenschaften, Band 7, 277 Seiten.

STARKE, R. (1996): Die Reproduktion der Buche (*Fagus sylvatica* L.) unter verschiedenen waldbaulichen Gegebenheiten. In: G. MÜLLER-STARCK (Hrsg.): Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft. ecomed-Verlag, Landsberg. S.135-159.

STARKE, R.; HATTEMER, H.H.; ZIEHE, M.; VORNAM, B.; TUROK, J.; HERZOG, S.; MAURER, W. & TABEL, U. (1995): Genetische Variation an Enzym-Genloci der Buche. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 166, S.161-167.

STARKE, R.; ZIEHE, M. & MÜLLER-STARCK, G. (1996): Viability selection in juvenile populations of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics*, 3, S.217-225.

TABEL, U. & MAURER, W. (1992): Genetische Inventur der Buchenpopulationen in Rheinland-Pfalz. Konzept zur Auswahl der Untersuchungsbestände. In: Biochemische Untersuchungen zur Genetik von Waldbaumpopulationen. *Schriftenreihe der Landesanstalt für Forstwirtschaft Nordrhein-Westfalen*, Sonderband. S 23-30.

TUROK, J. (1996): Genetische Untersuchungen bei der Buche. Genetische Anpassungsprozesse und die Erhaltung von Genressourcen in Buchenwäldern (*Fagus sylvatica* L.). *Schriftenreihe der Landesanstalt für Ökologie, Bodenordnung und Forsten / Landesamt für Agrarordnung Nordrhein-Westfalen*, Band 8. 136 Seiten.

TUROK, J.; HATTEMER, H.H.; ZIEHE, M. & STARKE, R. (1998): Genotypische Differenzierung rheinland-pfälzischer Buchenbestände an Enzym-Genloci. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 169, S.126-135.

VORNAM, B. & HERZOG, S. (1996): cpDNA-Polymorphismus bei der Buche. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 167, S.122-126.

ZIEHE, M. & GREGORIUS, H.-R. (1996): Beurteilung der Gefährdung genetischer Ressourcen anhand von Stressmerkmalen. In: G. MÜLLER-STARCK (Hrsg.): Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft. Ecomed-Verlag, Landsberg, S.300-317.

ZIEHE, M.; GREGORIUS, H.-R. & HERZOG, S. (1995): Populationsgröße, genetische Variation und Anpassung - Betrachtungen zu Risiken für die forstliche Praxis bei der Bestandesbegründung. In: W. MAURER & U. TABEL (Hrsg.): Genetik und Waldbau unter besonderer Berücksichtigung der heimischen Eichenarten. *Mitteilungen der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 34/1995, S.180-201.

ZIEHE, M. & HATTEMER, H. H. (1998): The significance of heterozygosity in tree breeding and gene conservation. *Forest Tree Improvement*, No. 26, pp.3-25.

ZIEHE, M.; STARKE, R.; HATTEMER, H.H. & TUROK, J. (1998): Genotypische Strukturen in Buchen-Altbeständen und ihren Samen. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 169, S.91-99.

Anschriften der Autoren:

PD Dr. Martin Ziehe, Dr. Barbara Vornam und Prof. (em.) Dr. Hans H. Hattemer, Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität Göttingen, Büsgenweg 2, D 37077 Göttingen

Dr. Rommy Müller-Starck, Lehrstuhl für Botanik der TU München (Weihenstephan), Alte Akademie 12, D-85350 Freising

Dr. Jozef Turok, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Regional Office of Europe, Via delle Sette Chiese 142, I-00145 Rom (Italien)

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Morphologische und biochemische Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Eichenvorkommen mit dem Ziel der Artenidentifizierung

GUNTER M. ROTHE, MICHAELA ROMMEL, IVAN VULICEVIC,
WERNER D. MAURER UND UWE TABEL

Keywords: Pedunculate oak, *Quercus robur*, sessile oak, *Quercus petraea*, biological species, ecotype, enzyme activity, hybrid, morphological traits, phosphoenolpyruvate carboxylase

Abstract

Title of the paper: Morphological and biochemical studies on Rhineland-Palatinate oaks with the objective of species identification.

A total of 396 individual oak trees selected from young to mature ages and growing in 26 different Rhineland-Palatinate forest districts with major pedunculate (*Quercus robur* L.) and sessile oak (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.) occurrences were studied for examining, evaluating and classifying them according to different methods to the pure species, „intermediate forms“, and hybrid forms between both species. The following morphological and biochemical traits were applied to 9-17 individual oaks selected and sampled per forest district: (a) coinciding traits in leaf and fruit stalk morphology; (b) number of intercalary veins per leaf, together with leaf stalk length; (c) exclusive determination of the number of intercalary veins per leaf; (d) presence respectively absence of activity of the enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEP-C) in leaf buds during winter time; and (e) a combination of morphological traits and the biochemical trait PEP-C activity in winter buds. At best, two methods lead to coinciding results for classification in 80% of the investigated trees. If the „species“ character of each individual oak was determined by the methods (a), (b), (c) and by determining PEP-C activity, only 47% of the trees could be equally classified. This demonstrates that classifying pedunculate oak and sessile oak strongly depends on the traits regarded. This observation also makes clear the large variability in morphology of both types of European oaks.

Some four-year-old hybrids of pedunculate oak x sessile oak respectively sessile oak x pedunculate oak and their parent trees were studied with respect to the inheritance of leaf traits and PEP-C activity in winter buds. Presumably the number of intercalary veins per leaf is inherited codominantly while the leaf stalk length is inherited in a dominant manner. Most probably the biochemical trait PEP-C activity in winter buds is inherited dominantly. These findings were used for classifying introgressive hybrids in this respect. Thus approximately 25% of the oaks under study are concerned. Hybrids of pedunculate oak and sessile oak unite properties of both „species“ which may allow them to settle environment niches that might be unfavorable to the „pure species“. Consequently it is recommended not to exclude them from further reproduction.

Schlagwörter: Stieleiche, *Quercus robur*, Traubeneiche, *Quercus petraea*, biologische Art, Enzymaktivität, Hybrid, morphologische Merkmale, Ökotyp, Phosphoenolpyruvat Carboxylase

Zusammenfassung

396 individuelle Eichen, ausgewählt unter Berücksichtigung aller Altersklassen in 26 rheinland-pfälzischen Forstamtsbereichen mit wesentlichen Vorkommen an Stieleiche (*Quercus robur* L.) oder an Traubeneiche (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.), wurden in der vorliegenden Untersuchung hinsichtlich ihrer Zuordnung zu den reinen Arten, „Intermediärformen“ bzw. Hybridformen nach verschiedenen Methoden überprüft und bewertet. Hierbei wurden mehrere morphologische und biochemische Bestimmungsmethoden für 9-17

Einzelbäume je Forstamtsbereich eingesetzt: (a) die kumulativ-morphologische Methode, bei der die Mehrzahl übereinstimmender äußerer Merkmale als Kriterium für die Artzugehörigkeit dient; (b) die Anzahl der Buchtenerven pro Blatt, zusammen mit der Länge des Blattstiels; (c) die ausschließliche Bestimmung der Anzahl an Buchtenerven pro Blatt; (d) die biochemischen Merkmale Enzymaktivität von Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, Lactat Dehydrogenase und Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEP-C) in Winterknospen sowie (e) eine Kombination von morphologischen Merkmalen und dem biochemischen Merkmal PEP-C-Aktivität. Dabei ergab sich, dass die Bestimmung mit zwei verschiedenen Methoden bestenfalls in 80% der Fälle zu einem übereinstimmenden Ergebnis hinsichtlich der Gruppierung führt. Die gleichzeitige Bestimmung mit (a) der kumulativen morphologischen Methode, (b) der Bestimmung der Anzahl der Buchtenerven pro Blatt, (c) der Bestimmung der Zahl der Buchtenerven pro Blatt in Verbindung mit der Blattstiellänge und (d) die Bestimmung der PEP-C-Aktivität in Winterknospen führte dagegen nur in 47% der Fälle zum gleichen Ergebnis. Damit hängt die Artansprache in entscheidendem Maße von den untersuchten Merkmalen ab. Außerdem spiegeln die Ergebnisse die hohe Variabilität der Merkmale wider.

Vierjährige Hybrid-Eichen (Stieleiche x Traubeneiche bzw. Traubeneiche x Stieleiche) wurden, zusammen mit ihren Elternbäumen, bezüglich der Vererbung von Blattmerkmalen sowie dem biochemischen Merkmal PEP-C-Aktivität untersucht. Sehr wahrscheinlich wird demnach die Zahl der Buchtenerven pro Blatt kodominant vererbt, während das biochemische Merkmal PEP-C-Aktivität dominant vererbt wird. Diese Erkenntnisse wurden ebenfalls bei der Artbestimmung berücksichtigt. In Bezug auf beide Merkmale erwiesen sich ca. 25% der untersuchten Eichen als Hybride n-ten Grades. Allgemein vereinigen introgressive Hybride von Stiel- und Traubeneiche Eigenschaften beider Eichenarten. Sie sind damit befähigt, ökologische Nischen zu besetzen, die den „reinen“ Formen nicht zugänglich sind. Deshalb sollten sie durch den Versuch einer ausschließlichen Vermehrung der „reinen“ Arten nicht eliminiert werden.

1 Einleitung

Stieleiche *syn.* Sommereiche (*Quercus robur* L. *syn.* *Q. pedunculata* EHRH.) und Traubeneiche *syn.* Winterliche [*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. *syn.* *Q. sessilis* EHRH. *syn.* *Q. sessiliflora* SALISB.) stellen zusammen mit der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) die häufigste und forstlich wichtigste Laubbaumart in Mitteleuropa dar. Hier umfaßt das Areal der Stieleiche insbesondere die gemäßigten kontinentalen Tieflagen. Das Areal der ebenfalls in Mitteleuropa heimischen Traubeneiche ist kleiner und beschränkt sich auf das Hügel- und tiefere Bergland (mit Ausnahme der Südalpen, wo die Traubeneichen bis in 1 100 m ü. NN anzutreffen sind). Die Traubeneiche meidet kontinentale Lagen und ist weniger winterfrosthart als die Stieleiche (SCHÜTT et al. 1992).

Die Stieleiche bevorzugt hingegen nährstoffreiche, tiefgründige, frische bis feuchte Lehm- und Tonböden. Sie gedeiht auch noch auf nassen, pseudovergleyten bis vergleyten Böden. In der Rheinebene war sie ursprünglich bestandsbildend auf den periodisch überfluteten Hartholzauen. Die Traubeneiche bevorzugt frische, mittel- bis tiefgründige, basenarme wie basenreiche, lockere Stein- oder Lehmböden. Sie kommt auf Silikat- wie auf Kalkstandorten vor und meidet bodenfeuchte, vergleyte Standorte (SCHÜTT et al. 1992). Auf Grund ihrer großen ökologischen Amplitude kommen Stiel- und Traubeneiche auf vielen Standorten auch gemeinsam vor, wobei die Stieleiche kleinstandörtlich die feuchteren schweren Böden (Mulden, Hangfuß), die Traubeneiche eher trockene, gut drainierte, lockere Böden (Hügel, im Mittelgebirge bis 600 m ü. NN) besiedelt (SCHÜTT et al. 1992). In Rheinland-Pfalz zählt die Eiche neben der Rotbuche zu den häufigsten und forstlich wichtigsten Laubbaumarten.

Die morphologische Artansprache führt bei Stiel- und Traubeneiche nicht immer zu einem eindeutigen Ergebnis, da es zwischen beiden Arten zahlreiche „Übergangsformen“ gibt (BURGER 1921; JONES 1968; BEUSCHEL 1974; AAS 1991). Hinzu kommt, dass Stiel- und Traubeneiche natürlicherweise hybridisieren können (*Q. rosacea* BECHST. = *Q. petraea* x *Q. robur*), wobei der Bastard intermediäre Merkmale zeigt (SCHÜTT et al. 1992). Gelenkte Kreuzungen zwischen Stiel- und Traubeneiche bzw. zwischen Trauben- und Stieleiche sind mehrfach erfolgreich durchgeführt worden, allerdings mit unterschiedlichem Erfolg hinsichtlich der Funktion der beiden Arten als Mutterbaum bzw. als Pollenspender (DENGLER 1941, BEUSCHEL 1974, RUSHTON 1977; AAS 1988; STEINHOFF 1997). Erschwerend kommt noch hinzu, dass vom Standort einer Eiche nicht notwendigerweise auf ihre Art geschlossen werden kann, da durch menschliche Aktivitäten die natürliche Verbreitung von Stiel- und Traubeneiche zum Teil erheblich gestört wurde.

Aus diesem Zusammenhang ergeben sich für die forstliche Praxis u.a. folgende Fragen:

- (a) Welche Gestalt besitzen Stiel- und Traubeneiche und ihre „Übergangsformen“ an rheinland-pfälzischen Standorten?
- (b) Wie häufig treten diese Formenkreise an Standorten in Rheinland-Pfalz auf?
- (c) Gibt es andere (biochemische) Eigenschaften (Merkmale), mit denen Stiel- und Traubeneiche differenziert werden können?
- (d) Wie können Hybride aus beiden Eichenarten erkannt werden?
- (e) Wie groß ist die genetische Variabilität rheinland-pfälzischer Eichenbestände?
- (f) Wie können Eichenherkünfte unterschieden werden?

Die Frage nach der Unterscheidbarkeit von Stiel- und Traubeneichen wurde von unseren Arbeitsgruppen an 396 Eichen aus insgesamt 26 Forstamtsbereichen des Landes Rheinland-Pfalz untersucht. Hierbei wurden sowohl morphologische als auch biochemische Merkmale untersucht. Auf die Untersuchungen zur genetischen Variabilität bzw. zur Herkunftsfrage von ausgewählten Eichenbeständen wird in diesem Band an anderer Stelle eingegangen.

2 Material und Methoden

2.1 Morphologische Charakterisierung von Stieleichen, Traubeneichen und ihren „Übergangsformen“

2.1.1 Untersuchungsmaterial

In die Untersuchung einbezogen wurden aus 26 rheinland-pfälzischen Forstamtsbereichen mit wesentlichen Stieleichenvorkommen (Ahrweiler, Bellheim, Bitburg, Entenpfuhl, Hachenburg-

Süd, Hagenbach, Kandel, Landstuhl, Mayen, Osburg, Ramsen, Salmtal, Simmern und Speyer) bzw. Traubeneichenvorkommen (Bad Dürkheim, Cochem, Elmstein-Süd, Eppenbrunn, Fischbach, Hardenburg, Hinterweidenthal-West, Hochspeyer, Irrel, Johanniskreuz, Kusel und Lambrecht) zwischen 9 und 17 Einzelbäume, welche über alle Altersklassen hinweg durch die vormalige Forstliche Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz [bis November 2001, nunmehr Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft (FAWF) Rheinland-Pfalz] ausgewählt worden waren. Von diesen Bäumen wurden im Sommer 1993 Zweige mit vollständig entwickelten Blättern geworben. Neben ihrem individuellen Alter unterschieden sich die Einzelbäume zudem durch ihre jeweiligen Standorte, d.h. bezüglich Höhenlage, Trophie, Wasserversorgung, Exposition und Neigung.

2.1.2 Morphologische Charakterisierung von Arthybriden zwischen Stieleichen und Traubeneichen

Im Zuge gelenkter Kreuzungen zwischen Stiel- und Traubeneichen bzw. Trauben- und Stieleichen wurden 1993 vierjährige Arthybride untersucht, die in der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Abt. C Escherode unter der Leitung von Dr. J. KLEINSCHMIT herangezogen worden waren (vgl. VULICEVIC & ROTHE 1995).

2.1.3 Kumulative morphologische Ansprache

Im Zuge der kumulativen morphologischen Ansprache wurden mehrere blatt- und fruchtmorphologische Merkmale bonitiert (Abb. 1 und Abb. 2). Die untersuchten Merkmale waren (vgl. VULICEVIC & ROTHE 1995):

- (a) Buchtennerven (typisch für Stieleichen): Ihr Vorkommen wurde nur dann gewertet, wenn sie am Blattrand oder nur kurz davor endeten, Buchtennerven im basalen Drittel sowie im terminalen Viertel der Blattspreite wurden nicht berücksichtigt (Abb. 1) (AAS 1988).
- (b) Büschelhaare (typisch für Traubeneichen): Das Vorkommen von Büschelhaaren auf der Blattunterseite wurde unter 4,5-facher Vergrößerung ausgewertet. Definitionsgemäß (AAS 1988) sind die einzelnen Haare eines Büschels entweder der unteren Epidermis flach sternförmig angedrückt und über die Blattspreite verteilt, oder sie stehen aufrecht, und man findet sie entlang der Mittelrippe sowie in den Winkeln zwischen Mittelrippe und Seitennerven (Achselbärte) (vgl. Abb. 2).
- (c) Blattstiellänge: Als typisch für Stieleichen wurden Blattstiellängen von <5 mm, als charakteristisch für Traubeneichen Blattstiellängen von >10 mm erachtet (RECHINGER 1957; GODET 1987; HECKER 1985) (vgl. Abb. 1).

- (d) Blattbasis: Mehr oder weniger stark geöhrte Blätter wurden als typisch für Stieleichen, mehr oder weniger stark spitz zulaufende Blätter wurden dagegen als für Traubeneichen typisch angesehen (AAS 1988) (vgl. Abb. 1).
- (e) Blattform: Mehr oder weniger unsymmetrische Blätter wurden Stieleichen zuerkannt, wohingegen mehr symmetrische Blätter als typisch für Traubeneichen angesehen wurden (GODET 1987) (vgl. Abb. 1).
- (f) Fruchtstände: Eine Fruchtstiellänge von 3-8 cm wurde als typisches Stieleichenmerkmal, eine Länge bis 2 cm als typisches Traubeneichenmerkmal angesehen (TROLL 1957) (vgl. Abb. 1).

Die Einteilung in Traubeneichen, Stieleichen und „Übergangsformen“ erfolgte an Hand überwiegend übereinstimmender morphologischer Merkmale (Tab. 1).

Tab. 1: Beispiel für die Zuordnung von Eichen nach der kumulativen morphologischen Methode zu Stieleiche (S), Traubeneiche (T) oder zur Gruppe der Übergangsformen (Ü).

Examples for classifying oaks to the groups pedunculate oak (S), sessile oak (T), and transition forms (Ü) by applying the cumulative morphological method.

| Nr. | Buchten- nerven | Büschel- haare | Öhrung Blatt- basis | Blattstiel- länge | Blatt- form | Frucht- stand | Frucht- stiele | Frucht- strei- fung | Zuord- nung zu S, T, Ü |
|---|--------------------|-------------------|---------------------------|----------------------|----------------|------------------|-------------------|---------------------------|------------------------------|
| 1 | ++ | 0 | 0-1 | ≤ 5 | u | R | II | - | S |
| 2 | 0 | ++ | 3-4 | > 10 | ls | P | VII | - | T |
| 3 | + | + | 0-1 | ≥ 10 | s-lu | P/R | III, VII | - | Ü |
| 4 | 0 | 0 | 1 | > 10 | lu | P | VII | - | Ü |
| Als Beispiel wurden gewählt: Nr.1: Eiche aus dem FA Simmern; Nr.2 und Nr.4: Eichen aus dem FA Bad Dürkheim; Nr.3: Eiche aus dem FA Speyer | | | | | | | | | |

Legende:

| | |
|--------------|--|
| 0: | nicht nachweisbar |
| + | vereinzelt an wenigen Blättern |
| ++: | mittlere Häufigkeit (beim Merkmal Buchtennerven) sowie reichlich (beim Merkmal Büschelhaare) |
| 0-1, 3-4, 2: | Blattbasis (Abb. 1) |
| 5, 10: | Angaben der Blattstiellänge in mm |
| u: | unsymmetrisch |
| ls: | leicht symmetrisch |
| s: | symmetrisch |
| lu: | leicht unsymmetrisch |
| R: | <i>Quercus robur</i> |
| P: | <i>Quercus petraea</i> |
| II - VII: | Einschätzung der Fruchtstände nach TROLL (1957) (vgl. Abb. 1) |
| S: | Stieleiche |
| T: | Traubeneiche |
| Ü: | „Übergangsformen“ |

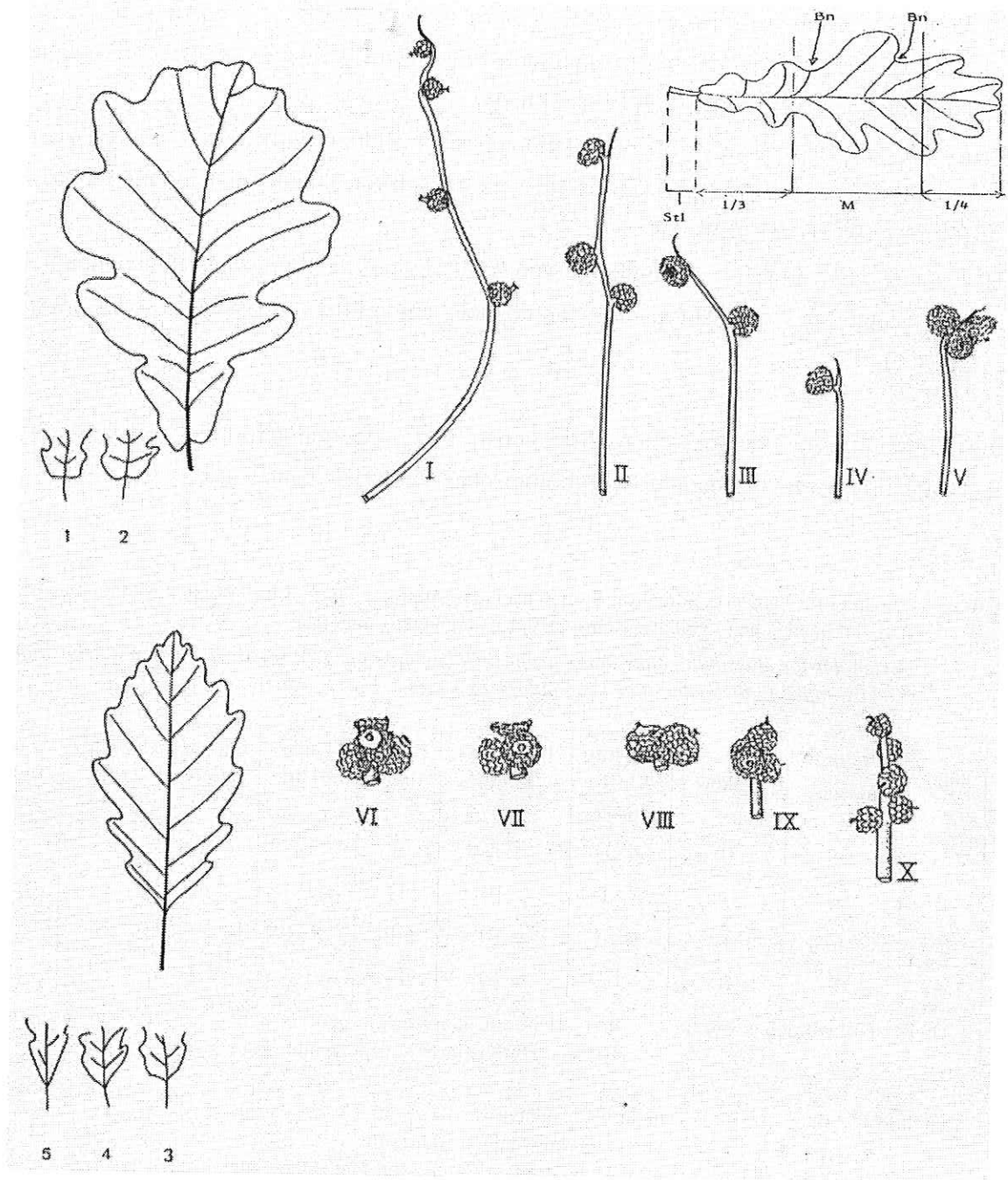


Abb. 1: Verschiedene Formen von Laubblättern und Fruchtständen von Stiel- und Traubeneichen. Obere Bildhälfte: Schema eines Stieleichenblattes, 1, 2: Blattbasis; I bis V: Fruchtstände. Untere Bildhälfte: Schema eines Traubeneichenblattes, 3, 4, 5: Blattbasis; VI bis X Fruchtstände (vgl. TROLL 1957). Oben rechts: Schematische Darstellung eines Stieleichenblatts mit dem festgelegten Erfassungsbereich (M) der Buchtennerven (Bn); Stl, Stiellänge (nach AAS 1988).

Fig. 1: Various shapes of foliage leaves and infructescences of pedunculate oak and sessile oak. Upper part of the drawings: scheme of a pedunculate oak leaf, 1,2: leaf basis; I to V: acorn infructescences. Lower part of the drawings: scheme of a sessile oak leaf, 3, 4, 5: leaf basis; VI to X: acorn infructescences (cf. TROLL 1957). Insert upper right side: Schematic presentation of a pedunculate oak leaf showing the valid section (M) for evaluating intercalary veins (Bn); Stl, length of petiole (according to AAS 1988).

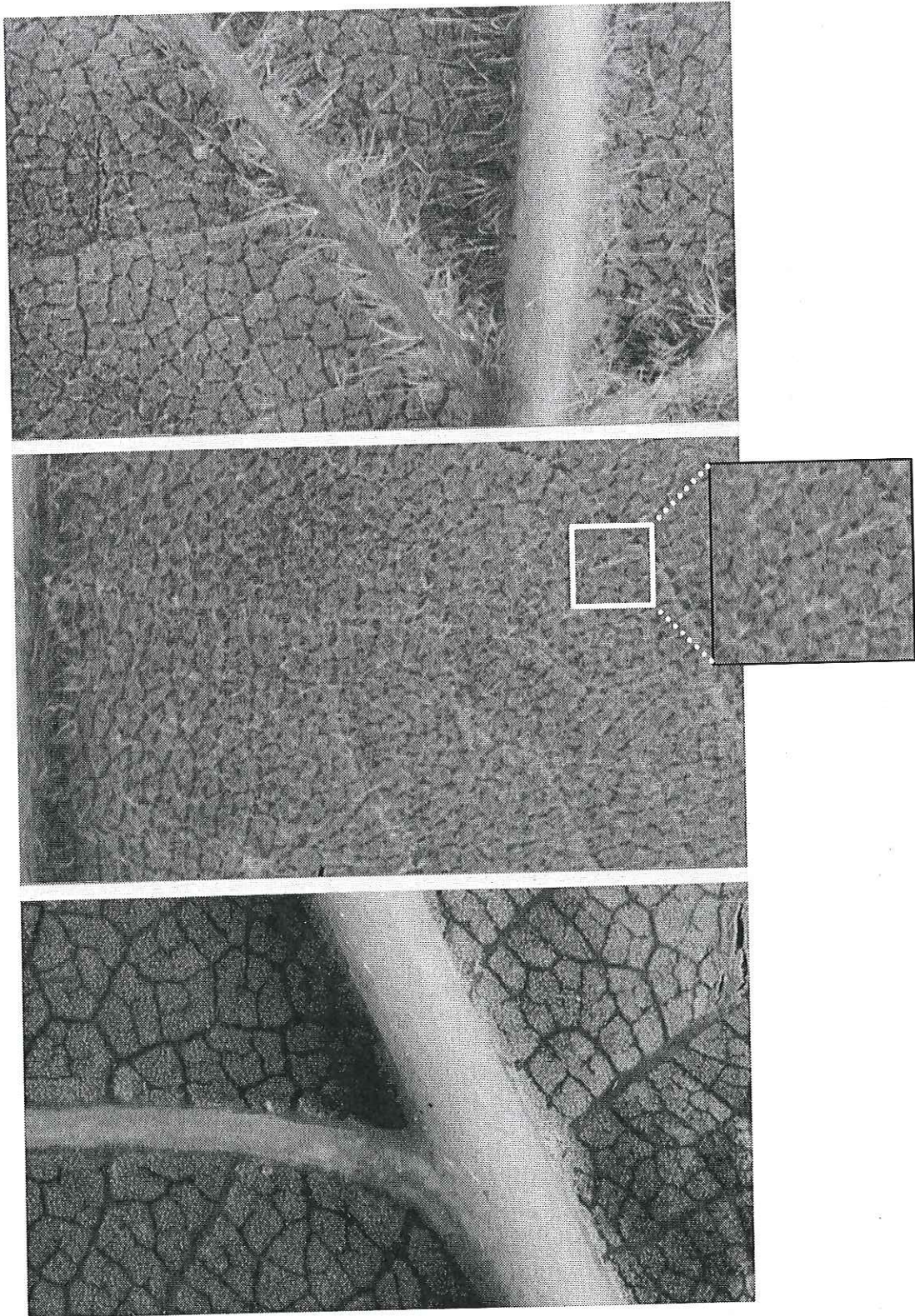


Abb. 2: Behaarung von Eichenblättern in der Vergrößerung 1 : 4,5: [oben]: Unterseite eines Traubeneichen-Laubblattes mit Büschelhaaren; [Mitte]: Unterseite eines Traubeneichen-Laubblattes mit Sternhaaren (rechts: Ansicht mit weiter vergrößertem Ausschnitt); [unten]: Unterseite des haarlosen Laubblattes einer Stieleiche.

Fig. 2: *Pilosity of oak leaves enlarged 1 : 4,5): [top]: undersurface of a sessile oak leaf showing hair cluster; [center]: undersurface of a sessile oak leaf with star-like hairs (marked section further enlarged on the right side); [bottom]: hairless leaf undersurface of pedunculate oak.*

2.1.4 Quantitative morphologische Ansprache

2.1.4.1 Bestimmung der Anzahl der Buchtenerven pro Blatt sowie der Blattstiellänge (Indexformel)

Bei dieser Methode wurde die Anzahl der Buchtenerven pro Blatt ausgezählt und die Länge der Blattstiele gemessen. Hieraus wurde die Artzugehörigkeit über einen Species-Index (*I*) (DUPOUEY & BADEAU 1993) berechnet:

$$I = (407 \times Nb) - (130 \times Ls) + 137,$$

mit: *I* = Species-Index; *Nb* = Zahl der Buchtenerven eines Blattes, *Ls* = Länge seines Blattstiels (mm), jeweils als Mittelwerte von 10 Blättern eines Baumes erhoben.

Hierbei gilt:

- *I*-Werte größer (+1000) zeigen eine Stieleiche an,
- *I*-Werte kleiner (-1000) zeigen eine Traubeneiche an,
- *I*-Werte zwischen Null und (+1000) zeigen eine intermediäre Stieleiche an sowie
- *I*-Werte zwischen Null und (-1000) zeigen eine intermediäre Traubeneiche an.

2.1.4.2 Bestimmung der Zahl der Buchtenerven pro Blatt

Das zweite quantitative Verfahren bestand darin, ausschließlich die Anzahl der Buchtenerven pro Blatt (Mittelwert von 10 Blättern eines Baumes) zu bestimmen (vgl. VULICEVIC & ROTHE 1995), wobei folgende 99%-Vertrauensbereiche nach SACHS (1978) berechnet wurden:

- 0,12 bis 0,29 Buchtenerven pro Blatt (Anzahl erhobener Untersuchungen, *n* = 180) zeigen eine Traubeneiche an;
- 2,71 bis 3,13 Buchtenerven pro Blatt (*n* = 163) zeigen eine Stieleiche an.

Für vierjährige F1-Arthybride zwischen Stiel- und Traubeneiche wurden 0,82 bis 2,26 Buchtenerven pro Blatt (*n* = 7) ermittelt. [Das Merkmal Buchtenerven wird wahrscheinlich kodominant vererbt (VULICEVIC & ROTHE 1995)].

2.2 Biochemische Ansprache

Im Herbst/Winter 1992 waren durch die FAWF Rheinland-Pfalz von ausgewählten Eichen kurze Zweigstücke mit Blattruheknospen geworben worden. Diese wurden bis zur Untersuchung von Enzymaktivitäten und Proteingehalten (spätestens sechs Wochen nach der Werbung) in Leitungswasser, dem etwas Holzkohle beigegeben worden war, gestellt und im Dunkeln bei ca. 4 °C aufbewahrt. Die Bestimmung des Proteingehaltes und der Aktivität der

Enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, Lactat Dehydrogenase und Phosphoenolpyruvat Carboxylase erfolgte wie bei VULICEVIC & ROTHE (1995) beschrieben.

3 Ergebnisse

3.1 Äußere Merkmale von Stiel- und Traubeneichen

Die äußeren gestaltbildenden Merkmale von Stieleichen und Traubeneichen wurden von mehreren Autoren ausführlich beschrieben. Die Zusammenstellung in Tab. 2 zeigt, dass die verschiedenen Autoren bei den quantitativen Merkmalen der Laubblätter zu abweichenden Ergebnissen gelangten. Da die entsprechenden Angaben zu Blattstiellänge, Blattlänge und Zahl der Lappen am Blattrand statistisch nicht ausgewertet wurden, kann nicht beurteilt werden, ob die Abweichungen signifikant und damit möglicherweise populationspezifisch sind. Andererseits wurden zwischen Stiel- und Traubeneichen fließende morphologische Übergänge beobachtet. „In Gebieten, in denen beide Eichenarten neben- und durcheinander“ vorkommen, wird davon berichtet, dass zwischen Stiel- und Traubeneichen „alle nur möglichen Merkmalsausprägungen“ [„Übergangsformen“ (AAS 1988)] vorkommen (KRAHL-URBAN 1951). Einige Beispiele für Blätter von Stieleichen, Traubeneichen und ihren „Übergangsformen“ im untersuchten Gebiet zeigt Abb. 3.

Die Frage, ob die „Übergangsformen“ innerhalb der Bandbreite der morphologischen Variabilität der „reinen Arten“ liegen oder ob sie das Ergebnis von zwischenartlichen Kreuzungen sind, kann nur unter Kenntnis des Vererbungsmodus der Merkmale beurteilt werden. Dieser muss durch gelenkte Kreuzungen bestimmt werden (STEINHOFF 1997).

Tab. 2: Morphologische Merkmale von Stieleiche (*Quercus robur*) und Traubeneiche (*Quercus petraea*).
Morphological traits of pedunculate oak (Quercus robur) and sessile oak (Quercus petraea).
 Tabelle entnommen aus VULICEVIC & ROTHE (1995). Table taken from VULICEVIC & ROTHE (1995).

| Merkmal | Stieleiche | Traubeneiche | Autoren |
|--|--|---|--|
| Habitus | | | |
| Krone Stamm | unregelmäßig, starkastig; früh in starke Äste aufgelöst; | regelmäßig, geschlossen; meist bis zum Wipfel durchgehend; | AAS (1988) |
| Belaubung | Blätter stehen an Triebspitzen gebüschelt | Blätter gleichmäßiger am Trieb verteilt | |
| Fruchtstand | | | |
| Insertion der Cupulen | hintereinander an der Fruchtachse ansetzend; | zusammen inserierend; | TROLL (1957) |
| Stiellänge | Fruchtblätter länger als Blattstiele 3-8 cm 2-5 cm | äußerst kurze Stiele bis 2 cm | RECHINGER (1957) KOSCH et al. (1941) NOVAK (1973) |
| Frucht | | | |
| Größe | 1,8-3 cm lang; | ca. 3 cm lang; | KRAHL-URBAN (1959); |
| Form | 1,8-3 cm lang; größte Breite in der Mitte, länglich; | 1,6-2,6 cm lang; größte Breite im unteren Drittel; | AAS (1988) |
| Farbe | mit hellen Längsstreifen, olivfarben; dunkle Längsstreifen | eiförmig; | AAS (1988) KRAHL-URBAN (1959) PHILLIPS (1986) KRAHL-URBAN (1959) |
| Laubblätter | | | |
| Stiel | 2-7 (10) mm bis 7 mm | 10-30 mm 10-25 mm | RECHINGER (1957) GODET (1987) |
| Spreitenform | 2-8 mm keil- bis verkehrt eiförmig; über der Mitte am breitesten Spreite länglich | 12-24 mm verkehrt eiförmig bis elliptisch; in der Mitte oder kurz darüber am breitesten; ± symmetrisch | AAS (1988) KOSCH (1941) GODET (1987) AAS (1988) SCHMEIL & FITSCHEN (1988) |
| Blattlänge | 10-15 cm | 10-12 cm | HECKER (1985) |
| Blattbreite | 10-13 cm 5-7,5 cm | 7-13 cm 5-7 cm | PHILLIPS (1986) HECKER (1985) |
| Blattrand | 5-16 cm beidseitig unregelmäßig; Zahl der Lappen: 5-6 4-5 5-6 (3-7) | 6-12 cm beidseitig regelmäßig; Zahl der Lappen: 5-7 5 (9) 5-8 (bis 10) | GODET (1987) HECKER (1985) GODET (1987) AAS (1988) |
| Seitennerven | in der Blattmitte, Buchtennerven vorhanden | keine Buchtennerven | KRAHL-URBAN (1959) AAS (1988) |
| Spreitenbasis | herzförmig, Rand deutlich und scharf umgebogen | keilförmig in den Blattstiel auslaufend | KRAHL-URBAN (1959) GODET (1987) AAS (1988) |
| Blatthaare (pili fasciculati) | ausnahmsweise Büschelhaare auf der Blattunterseite, beide Blattseiten meist kahl | auf den Adern mit kleinen rostroten Achselbärtchen; Büschelhaare auf der Blattunterseite; kleine sternförmige Haare | GODET (1987) HECKER (1985) AAS (1988) AAS (1988) KRAHL-URBAN (1959) |
| Winterknospen | | | |
| | stumpf eiförmig, kleiner | spitz kegelförmig, größer | AAS (1988) |

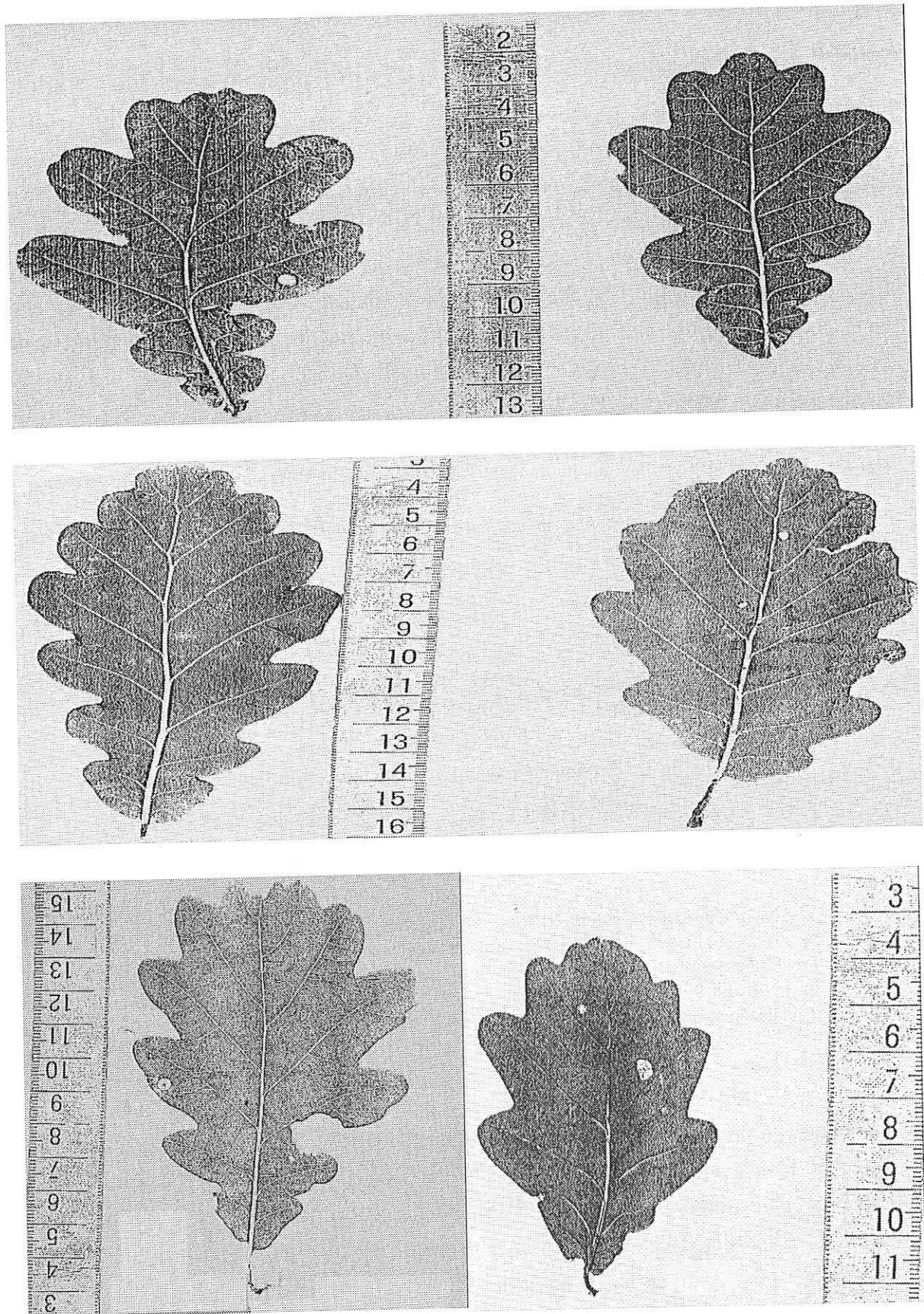


Abb. 3: Beispiele für Laubblätter von Stieleiche (oben), Traubeneiche (Mitte) und ihren „Übergangsformen“ (unten).

Fig. 3: Examples of foliage leaves of pedunculate oak (top), sessile oak (center) and their intermediate forms (bottom).

3.2 Wahrscheinliche Vererbung einiger morphologischer Merkmale

Nach AAS (1988) soll die Bestimmung von Stiel- und Traubeneichen alleine an Hand des Vorkommens von Buchtennerven in den Laubblättern möglich sein (Stieleiche mit Buchtennerven, Traubeneiche ohne Buchtennerven). Die französischen Autoren DUPOUEY & BADEAU (1993) gelangten zu der Ansicht, dass die Zahl der Buchtennerven und die Länge der Blattstiele der Laubblätter dazu benutzt werden können, um vier Klassen von Eichen zu unterscheiden: (a) Stieleiche, (b) Traubeneiche, (c) intermediäre Stieleiche sowie intermediäre Traubeneiche. Deshalb haben wir diese Merkmale an vierjährigen Eichen aus gelenkten Kreuzungen untersucht (Tab. 3).

Tab. 3: Quantitative Vererbung blattmorphologischer Merkmale im Zuge einer Artkreuzung zwischen Stiel- und Traubeneichen.

Quantitative inheritance of morphological leaf traits in controlled crossings between pedunculate and sessile oaks.

| | Stieleiche | Traubeneiche |
|--|---|---|
| Zahl der Buchtennerven | 2,92 ± 1,05 (a) (2,71 – 3,13) (b) | 0,206 ± 0,444 (a) (0,12 – 0,29) (b) |
| Blattstiellänge (mm) | 3,99 ± 1,59 (a) (3,67 – 4,31) (b) | 12,44 ± 4,32 (a) (13,27 – 11,61) (b) |
| F 1-Arthybride aus Stieleiche x Traubeneiche bzw. Traubeneiche x Stieleiche | | |
| | Buchtennerven: 1,54 ± 0,74 (a) (2,26 – 2,82) (b) | Blattstiellänge: 4,13 ± 1,71 (a) (2,47 – 5,79) (b) |

Pro Baum wurden 10 Blätter ausgewertet und die mittlere Zahl an Buchtennerven bzw. die mittlere Stiellänge eines Blattes ermittelt. Diese Mittelwerte wurden für 180 Traubeneichen, 163 Stieleichen (ROMMEL et al. 1995) und 7 F1-Arthybride aus gelenkten Kreuzungen erhoben. Mit den Mittelwerten pro Baum wurden (a) die angegebenen arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen (\pm) bzw. (b) die 99%-Vertrauensbereiche (in Klammern) für das jeweilige Probenkollektiv errechnet. Tabelle entnommen aus VULICEVIC & ROTHE (1995). *Table taken from VULICEVIC & ROTHE (1995).*

Im mittleren Teil eines Laubblattes gemessen, beobachteten wir im Durchschnitt 3 Buchtennerven pro Stieleichenblatt, bei Traubeneichen jedoch nur 0,2. Bei F1-Hybriden von Stiel- und Traubeneichen wies im Mittel nur jedes zweite Blatt Buchtennerven auf, so dass diese über eine mittlere Zahl von 1,5 Buchtennerven verfügen (Tab. 3). Damit wird das Merkmal „Zahl der Buchtennerven“ wahrscheinlich kodominant vererbt und kann zur Erkennung von Arthybriden von Stiel- und Traubeneichen dienen. Das Merkmal Blattstiellänge wird sehr wahrscheinlich dominant vererbt, d.h. F1-Arthybride besitzen kurze Blattstiele wie die Stieleichen, während Traubeneichen lange Blattstiele haben (Tab. 3). Somit kann das Merkmal „Blattstiellänge“ nicht dazu verwendet werden, um F1-Hybride zu erkennen, wohl aber um introgressive Hybride zu diagnostizieren.

3.3 Biochemische Merkmale von Stieleiche und Traubeneiche

Baumarten unterscheiden sich nicht nur in morphologischer Hinsicht, sondern auch bezüglich biochemischer Qualitäten, wie z.B. dem Vorkommen und den physikochemischen Eigenschaften von (Iso)Enzymen, was am Beispiel mehrerer Koniferenarten gezeigt wurde (ROTHE 1994). Bezüglich der isoenzymatischen Differenzierung von Stiel- und Traubeneichen liegen unterschiedliche Befunde vor. Keine Differenzierung gelang AAS (1988) und anderen. Dagegen berichtete SANDER (1997), dass baden-württembergische Stieleichen-Bestände im Durchschnitt eine geringere Heterozygotie am Genort PGI-B aufweisen als Traubeneichen-Bestände. Nach unseren Erkenntnissen unterscheiden sich Stiel- und Traubeneiche bezüglich ihres Aminosäure- und Protein-Stoffwechsels während der Wintermonate. Bezogen auf die Trockenmasse enthalten in dieser Zeit Blattknospen von Stieleichen etwa doppelt so viel Protein wie Traubeneichen (Abb. 4).

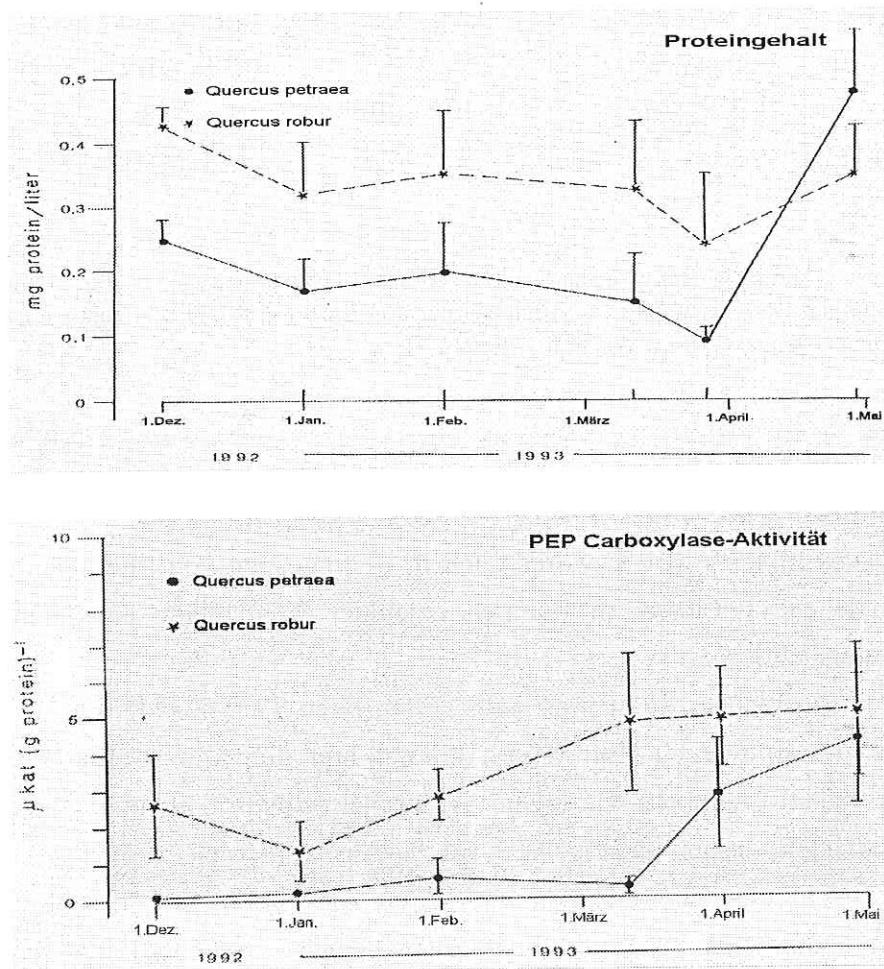


Abb. 4: Zeitlicher Verlauf des Proteingehaltes (oben) sowie Verlauf der PEP-C-Aktivität (unten) in Winterknospen von Stiel- und Traubeneichen, \perp Standardabweichung ($n = 5$) (ROTHE & ROMMEL 1997).

Fig. 4: Time course of protein contents (top) and PEP-carboxylase activity (bottom) in winter buds of pedunculate oak and sessile oak, \perp standard deviation ($n = 5$) (ROTHE & ROMMEL 1997).

Darüber hinaus ist das Enzym Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEP-C) in aller Regel in Winterknospen von Stieleichen aktiv, während es in Traubeneichen inaktiv ist (Abb. 4).

Schließlich sind die Aktivitäten der am Kohlenhydrat-Stoffwechsel beteiligten Enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase und Lactat Dehydrogenase in Winterknospen von Stieleichen signifikant größer als in Winterknospen von Traubeneichen (Tab. 4). Insbesondere die Summe der Enzymaktivitäten von Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, Lactat Dehydrogenase und PEP-C ist in Winterknospen von Stieleichen ca. 20mal und damit signifikant größer als in Winterknospen von Traubeneichen.

Tab. 4: Enzymaktivitäten in Winterknospen 170jähriger Stiel- und Traubeneichen (99%-Konfidenzintervall).
Enzyme activities in winter buds of 170-year-old pedunculate and sessile oak trees (99% confidence interval).

| Enzym | Enzymaktivität [nkat/g Trockenmasse] | | Enzymaktivität [nkat/g Protein] | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|
| | Stieleichen | Traubeneichen | Stieleichen | Traubeneichen |
| G6PDH | 8,9 – 22,5 | 0,22 – 0,28 | 3.316–3.330 | 76 |
| PEP-C | 5,0 – 10,0 | 0 | 1.608–1.612 | 0 |
| LDH | 2,4 – 4,6 | 0,01 – 0,19 | 806–808 | 32 |
| Summe G6PDH, LDH, PEP-C | | | 4.501–6.941 | 0 – 256 |

G6PDH: Glucose-6-phosphat Dehydrogenase; LDH: Lactat Dehydrogenase; PEP-C: Phosphoenolpyruvat Carboxylase; Summe: Gesamtsumme der Aktivitäten der drei Enzyme. Tabelle entnommen aus VULICEVIC & ROTHE 1995. *Table taken from VULICEVIC & ROTHE 1995.*

3.4 Wahrscheinliche Vererbung der Aktivität des Enzyms PEP-C in Winterknospen

Die Aktivität des Enzyms PEP-C wurde auch in Blattknospen von Elternbäumen von Stiel- und Traubeneichen und ihrer im Rahmen gelenkter Kreuzungen erzeugten vierjährigen Arthybride untersucht.

Von den drei Stieleichen-Eltern war jeder Elter ohne PEP-C-Aktivität. Unter den vier Traubeneichen-Eltern war ein Elter mit Aktivität und drei waren ohne PEP-C-Aktivität (Tab. 5). Von jedem Elternpaar wurde ein vierjähriger Arthybrid ebenfalls auf seine PEP-C-Aktivität in Winterknospen untersucht (Tab. 5). Aus dem Vorkommen bzw. Fehlen des aktiven Enzyms in den Elternbäumen und deren Arthybride wird geschlossen, dass die Aktivitätsausprägung dominant vererbt wird (Stieleiche mit Aktivität, F1-Hybrid mit Aktivität, Traubeneiche ohne Aktivität) (VULICEVIC & ROTHE 1995). Somit kann das Merkmal PEP-C-Aktivität nicht dazu verwendet werden, um F1-Hybride zu erkennen, wohl aber um introgressive Hybride zu diagnostizieren.

Tab. 5: Vererbung des biochemischen Merkmals „Phosphoenolpyruvat Carboxylase-Aktivität“ in Winterknospen im Zuge von Artkreuzungen zwischen Stiel- und Traubeneichen.
Inheritance of the biochemical trait "phosphoenolpyruvate carboxylase activity" in winter buds upon performing controlled crossings between pedunculate oak and sessile oak trees.

| Kreuzung | Stieleiche | x Traubeneiche | PEP-C-Erbgang |
|---|-----------------------------------|--------------------------|---------------|
| Elternbäume PEP-C (nkat/g Protein) | Koberg 6 (S) 4.000 | Lüß 6 (T) 0 | PP x pp |
| Arthybrid Baum Nr. PEP-C (nkat/g Protein) | | S x T 4/20 1.600 | Pp |
| Kreuzung | Traubeneiche | x Stieleiche | |
| Elternbäume PEP-C (nkat/g Protein) | Waldfisch- bach-Süd 6 (T) 0 | Bramwald 4 (S) 1.200 | pp x PP |
| Arthybrid Baum Nr. PEP-C (nkat/g Protein) | | T x S 6/2 1.500 | Pp |
| Kreuzung | Traubeneiche | x Stieleiche | |
| Elternbäume PEP-C (nkat/g Protein) | Ritzerau 9 (T) 2.500 | x Lensahn 2 (S) 5.700 | Pp x Pp |
| Arthybrid Baum Nr. PEP-C (nkat/g Protein) | | T x S 8/2 0 | pp |

P, Aktivität bezüglich Phosphoenolpyruvat Carboxylase in Winterknospen nachgewiesen; p, = keine Aktivität für Phosphoenolpyruvat-Carboxylase in Winterknospen nachgewiesen; S = Stieleiche, T = Traubeneiche; Standort der Bäume: Samenplantage Berkel / Pflanzgarten der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt Escherode. Tabelle entnommen aus VULICEVIC & ROTHE 1995. *Table taken from VULICEVIC & ROTHE 1995.*

3.5 Vergleich von morphologischer und biochemischer Ansprache

Aus den dargelegten Überlegungen ergibt sich, dass „reine“ Traubeneichen das Merkmal „PEP-C-Aktivität in Winterknospen“ nicht haben sollten und Traubeneichen mit PEP-C-Aktivität Arthybride *n*-ten Grades (introgressive Hybride) sein müssen. Somit kann die gleichzeitige morphologische und biochemische Ansprache Aufschluß über das Maß an Arthybriden *n*-ten Grades bezüglich dieses Merkmals bei Stiel- und Traubeneichen geben.

Folgende kombinierte Bestimmungen wurden durchgeführt:

- kumulative morphologische Ansprache und Bestimmung der PEP-C-Aktivität,
- Zahl der Buchtennerven pro Blatt und PEP-C-Aktivität,
- Zahl der Buchtennerven und Blattstiellänge (Index) kombiniert mit der PEP-C-Aktivität sowie
- kumulative morphologische Ansprache kombiniert mit der Zahl der Buchtennerven und PEP-C-Aktivität (vgl. Tab. 6 und Tab. 7).

Tab. 6: Übereinstimmende Zahl der als Stieleichen oder als Traubeneichen oder als deren intermediäre Formen bestimmten Eichen im paarweisen Vergleich verschiedener Bestimmungsmethoden.

Coinciding number of oak trees assessed to be pedunculate oaks or sessile oaks or their intermediate forms resulting from paired comparisons by applying different classification methods.

| Forstamt | N | kum/n Nerv | kum/I ndex | kum/ PEP-C | nNerv/I ndex | nNerv/P EP-C | Index/P EP-C | kum/ nNerv + PEP-C | kum, nNerv, Index, PEP-C |
|-----------------------|------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| Ahrweiler | 9 | 9 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 7 | 6 |
| Bad Dürkheim | 17 | 12 | 11 | 14 | 14 | 14 | 13 | 11 | 9 |
| Bellheim | 15 | 10 | 9 | 15 | 13 | 13 | 14 | 10 | 9 |
| Bitburg | 13 | 11 | 11 | 13 | 13 | 13 | 13 | 11 | 11 |
| Cochem | 17 | 14 | 13 | 11 | 12 | 9 | 7 | 9 | 6 |
| Elmstein-Süd | 16 | 12 | 10 | 12 | 7 | 10 | 12 | 9 | 6 |
| Entenpfuhl | 17 | 11 | 7 | 8 | 10 | 8 | 10 | 4 | 3 |
| Eppenbrunn | 17 | 16 | 13 | 14 | 12 | 13 | 12 | 13 | 10 |
| Fischbach | 17 | 15 | 16 | 14 | 13 | 12 | 13 | 12 | 11 |
| Hachenburg-Süd | 15 | 10 | 10 | 13 | 13 | 13 | 13 | 9 | 8 |
| Hagenbach | 17 | 8 | 7 | 17 | 12 | 17 | 17 | 8 | 5 |
| Hardenburg | 15 | 13 | 11 | 8 | 11 | 6 | 9 | 6 | 5 |
| Hinterweidenthal-West | 17 | 14 | 14 | 12 | 11 | 10 | 13 | 10 | 9 |
| Hochspeyer | 16 | 12 | 10 | 14 | 12 | 11 | 9 | 10 | 7 |
| Irrel | 16 | 13 | 13 | 12 | 12 | 10 | 13 | 9 | 9 |
| Johanniskreuz | 17 | 12 | 11 | 10 | 12 | 9 | 13 | 7 | 6 |
| Kandel | 14 | 10 | 7 | 13 | 11 | 13 | 13 | 9 | 6 |
| Kusel | 15 | 11 | 8 | 7 | 8 | 7 | 10 | 5 | 4 |
| Lambrecht | 17 | 13 | 13 | 14 | 13 | 13 | 13 | 12 | 10 |
| Landstuhl | 16 | 10 | 9 | 13 | 10 | 13 | 12 | 8 | 5 |
| Mayen | 12 | 8 | 7 | 9 | 9 | 9 | 8 | 7 | 5 |
| Osburg | 17 | 10 | 10 | 16 | 15 | 16 | 16 | 10 | 9 |
| Ramsen | 10 | 7 | 8 | 8 | 9 | 7 | 7 | 5 | 5 |
| Salmtal | 14 | 9 | 8 | 14 | 13 | 14 | 14 | 9 | 8 |
| Simmern | 14 | 7 | 7 | 14 | 10 | 13 | 13 | 7 | 5 |
| Speyer | 16 | 9 | 8 | 16 | 15 | 16 | 16 | 9 | 8 |
| SUMME: | 396 | 286 | 258 | 318 | 297 | 296 | 309 | 226 | 185 |
| % | 100 | 72 | 65 | 80 | 75 | 75 | 78 | 57 | 47 |

Legende zu Tab. 6 und Tab. 7 / legends to Tab. 6 and Tab. 7:

- /:** Verglichen mit; *compared with;*
- N:** Zahl der untersuchten Eichen je Forstamt; *number of investigated oaks per forest district;*
- kum:** kumulative morphologische Ansprache; *cumulative morphological characterization;*
- nNerv:** Zahl der Buchtenerven pro Blatt (Mittelwert von 10 Blättern; 0 – 0,3: Traubeneiche, 0,4 – 2,6: Arthybrid, ≥ 2,7: Stieleiche); *number of intercalary veins per leaf (average number of 10 leaves; 0 – 0.3: sessile oak, 0.4 – 2.6: species hybrid, ≥ 2.7: pedunculate oak);*
- Index:** Species-Klassifizierung mit der Index-Formel nach DUPOUEY & BADEAU (1993); *Species classification by applying the index formula (DUPOUEY & BADEAU 1993);*
- PEP-C:** Klassifizierung an Hand der Aktivität bzw. Nicht-Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase in Winterknospen; *classification according to activity present or activity absent of phosphoenolpyruvate carboxylase in leaf buds during mid-winter;*
- nNerv+PEP-C:** Zahl der Buchtenerven pro Blatt und Aktivität bzw. Nicht-Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase in Winterknospen; *number of intercalary veins per leaf and activity respectively non-activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in leaf buds during mid-winter*
- kum, nNerv, Index, PEP-C:** Bestimmung der Formenzugehörigkeit mit allen vier Methoden gleichzeitig; *coinciding classification obtained by applying all four methods simultaneously.*

kum/PEP-C,
Index/PEP-C,
nNerv/PEP-C:

Keine Übereinstimmung bei beiden Merkmalen bzw. Bestimmungsmethoden;
number of the trees which do not coincide in both types of traits and classification methods.

Σ:

Summe der übereinstimmenden „Übergangsformen“ und Hybride nach Ansprache mit allen Methoden; *sum of coinciding „transient forms“ and hybrids according to the classification by applying the 4 methods simultaneously.*

Tab. 7: Anzahl morphologisch intermediärer Stiel- bzw. Traubeneichen sowie vermutlicher Hybride unter den in den verschiedenen Forstämtern beprobten Eichen gemäß verschiedener Auswerteverfahren.
Number of morphologically intermediate pedunculate and sessile oaks as well as putative hybrids among the sample oak trees of the given forest districts resulting from employing different evaluation methods.

| Forstamt | N | morphologisch intermediäre Formen | | | Hybride n-ter Ordnung | | | |
|-----------------------|------------|-----------------------------------|------------|------------|-----------------------|-------------|-------------|------------|
| | | kum | nNerv | Index | kum/PEP-C | Index/PEP-C | nNerv/PEP-C | Σ |
| Ahrweiler | 9 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| Bad Dürkheim | 17 | 2 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 8 |
| Bellheim | 15 | 2 | 4 | 6 | 0 | 1 | 2 | 7 |
| Bitburg | 13 | 1 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Cochern | 17 | 3 | 2 | 5 | 6 | 10 | 8 | 11 |
| Elmstein-Süd | 16 | 2 | 6 | 4 | 4 | 4 | 6 | 10 |
| Entenpfuhl | 17 | 4 | 7 | 8 | 9 | 7 | 9 | 15 |
| Eppenbrunn | 17 | 2 | 3 | 6 | 3 | 5 | 4 | 8 |
| Fischbach | 17 | 2 | 4 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Hachenburg-Süd | 15 | 0 | 5 | 5 | 2 | 2 | 2 | 7 |
| Hagenbach | 17 | 0 | 9 | 10 | 0 | 0 | 0 | 12 |
| Hardenburg | 15 | 7 | 9 | 7 | 7 | 6 | 9 | 10 |
| Hinterweidenthal-West | 17 | 3 | 4 | 2 | 5 | 4 | 7 | 8 |
| Hochspeyer | 16 | 1 | 5 | 7 | 2 | 7 | 5 | 9 |
| Irrel | 16 | 0 | 3 | 3 | 4 | 3 | 6 | 7 |
| Johanniskreuz | 17 | 4 | 5 | 4 | 7 | 4 | 8 | 11 |
| Kandel | 14 | 2 | 6 | 9 | 1 | 1 | 1 | 9 |
| Kusel | 15 | 4 | 6 | 7 | 8 | 5 | 8 | 12 |
| Lambrecht | 17 | 5 | 7 | 7 | 3 | 4 | 4 | 10 |
| Landstuhl | 16 | 3 | 6 | 8 | 3 | 4 | 3 | 12 |
| Mayen | 12 | 1 | 5 | 4 | 3 | 4 | 3 | 12 |
| Osburg | 17 | 1 | 6 | 8 | 1 | 1 | 1 | 8 |
| Ramsen | 10 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 | 5 |
| Salmtal | 14 | 0 | 5 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| Simmern | 14 | 2 | 5 | 7 | 0 | 1 | 1 | 9 |
| Speyer | 16 | 1 | 8 | 9 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| SUMME: | 396 | 54 | 129 | 144 | 78 | 87 | 100 | 227 |
| % | 100 | 14 | 33 | 36 | 20 | 22 | 25 | 57 |

Stieleichen + Traubeneichen + Übergangsformen = 100%.
Pedunculate oak + sessile oak + intermediate forms = 100%.

Die Tabelle 6 ist zum Teil, die Tabelle 7 ist vollständig aus ROMMEL et al. 1995 übernommen.
Tab. 6 taken in part, Tab. 7 taken completely from ROMMEL et al. 1995.

3.6 Charakterisierung von Stiel- und Traubeneichen verschiedener rheinland-pfälzischer Standorte

Das Ergebnis der verschiedenen morphologischen Klassifizierungen sowie das der biochemischen Ansprache der 396 Eichen ist in Tab. 6 zusammengestellt. Vergleicht man die Ergebnisse der verschiedenen morphologischen Bestimmungsmethoden miteinander, so kommt man zu folgenden Erkenntnissen (ROMMEL et al. 1995):

- Bei kumulativer Auswertung und Bestimmung der Zahl der Buchtenerven werden ca. 18% der Eichen unterschiedlich angesprochen;
- bei kumulativer Auswertung und Auswertung nach der Indexformel (Zahl der Buchtenerven pro Blatt und Blattstiellänge) werden 35% der Eichen unterschiedlich qualifiziert;
- Auswertung der Zahl der Buchtenerven und Auswertung nach der Indexformel führen in 25% der Fälle zu einem unterschiedlichen Ergebnis.

Der Umstand, dass die kumulative Artbestimmung bzw. die Bestimmung der Zahl der Buchtenerven mit der Bestimmung über die Indexformel in 35% bzw. 25% der Fälle zu unterschiedlichen Ergebnissen führt, könnte damit zusammenhängen, dass die Indexformel für französische Stiel- und Traubeneichen entwickelt wurde und diese graduell von den rheinland-pfälzischen Eichen abweichen.

Vergleicht man die Ergebnisse der verschiedenen morphologischen Bestimmungsmethoden mit der biochemischen Bestimmung über die PEP-C-Aktivität, so ergeben sich folgende Befunde:

- die kumulative Auswertung und die PEP-C-Aktivitätsbestimmung bringt in 20% der Fälle keine Übereinstimmung;
- die Auswertung nach der Indexformel und die Bestimmung der PEP-C-Aktivität führen in 22% der Fälle zu einem unterschiedlichen Ergebnis und
- die Bestimmung der Zahl der Buchtenerven und die der PEP-C-Aktivität führten in 25% der Fälle zu einem unterschiedlichen Ergebnis.

Somit korreliert die biochemische Methode in ca. 80% der Fälle sowohl mit der kumulativen als auch mit der Index-Formel.

Bestimmt man die Zahl der Stieleichen, Traubeneichen und Übergangsformen mit den vier Methoden (a) kumulativ, (b) Zahl der Buchtenerven, (c) Index-Formel und (d) PEP-C-Aktivität, so werden allerdings nur 47% gleich angesprochen (Tab. 6). Das bedeutet, dass die Artansprache ganz entscheidend von den verwendeten Merkmalen abhängt und generell große Unsicherheiten in sich birgt. Außerdem ergibt sich aus diesem Befund eine hohe Variabilität der Merkmale, die größtenteils genetisch bedingt sein dürfte.

Die Zahl der Eichen, die als „Übergangsformen“ (morphologisch intermediäre Formen) mit Hilfe der kumulativen morphologischen Methode bestimmt wurden, ist mit 14% relativ gering

(Tab. 7). Wird jedoch die Anzahl der Buchtenerven für die Klassifizierung zu Grunde gelegt oder die Einteilung in Stieleichen, Traubeneichen und „Übergangsformen“ mit der an französischen Eichenpopulationen ermittelten Indexformel bestimmt, so stellen 1/3 aller untersuchten Eichen intermediäre Formen dar (Tab. 7). Die Zahl wahrscheinlicher Hybride liegt bei 20-25% (Tab. 7). „Übergangsformen“ und wahrscheinliche Hybridformen zusammen machen ca. 50% aller untersuchten Eichen aus (ROMMEL et al. 1995).

4 Diskussion

Zwischen Stiel- und Traubeneichen wurden „alle möglichen (morphologischen) Übergangsformen“ beobachtet (KRAHL-URBAN 1959). Das bedeutet, dass es neben Stiel- und Traubeneichen eine Gruppe von Eichen gibt, die keiner der beiden Arten eindeutig zugeordnet werden kann.

Die Entstehung von (morphologischen) „Übergangsformen“ versuchen zwei verschiedene Hypothesen zu erklären:

- (a) beide Arten zeigen eine überlappende morphologische Variationsbreite (KRAHL-URBAN 1959) und/oder
- (b) die intermediären Formen entstehen durch Bastardierungen, also Kreuzung der beiden Eichenarten bzw. durch Rückkreuzungen von Hybriden mit einer der beiden reinen Arten (AAS 1988).

Im konkreten Fall ist die Ablehnung einer der beiden Hypothesen nur begrenzt möglich, da bisher lediglich von wenigen Merkmalen erste Ergebnisse zu ihrer Vererbung im Rahmen gelenkter Kreuzungen vorliegen. Diese sind:

- (a) das morphologische Merkmal „Buchtenerven“ wird vermutlich (Untersuchungen an vierjährigen Pflanzen) kodominant vererbt [Stieleichen besitzen im Durchschnitt drei Buchtenerven pro Blatt, Traubeneichen 0,2 und Hybride 1,5 (VULICEVIC & ROTHE 1995)],
- (b) das Merkmal „Blattstiellänge“ wird vermutlich (vierjährige Pflanzen) dominant vererbt, da Traubeneichen ebenso wie Arthybride einen langen Blattstiel aufweisen [während Stieleichen einen kurzen Blattstiel haben (VULICEVIC & ROTHE 1995)],
- (c) das Merkmal „spitz zulaufende Blattbasis“ wird vermutlich (vierjährige Pflanzen) dominant vererbt, da sowohl Traubeneichen als auch Arthybride eine spitz zulaufende Blattbasis besitzen, während die Blattbasis bei Stieleichen geöhrt ist (VULICEVIC & ROTHE 1995) und

(d) das biochemische Merkmal „Phosphoenolpyruvat Carboxylase-Aktivität in Winterknospen“ wird vermutlich (vierjährige Pflanzen) dominant vererbt, d.h. Stieleichen und Arthybride besitzen Aktivität, während Traubeneichen ohne Aktivität sind (VULICEVIC & ROTHE 1995).

Nach Untersuchungen an ca. 600 Hybriden aus gelenkten Kreuzungen von Stiel- und Traubeneichen bzw. Trauben- und Stieleichen kommt STEINHOFF (1997) zu dem Schluß, dass die Blätter der jungen Hybride denen der Mutterpflanze gleichen, also an einem gegebenen Standort die „reinen“ Arten nicht von den Hybriden an Hand dieser Merkmale zu unterscheiden sind. Anders ausgedrückt, bedeutet dies, dass auch am „natürlichen“ Standort eine große Zahl von (introgressiven) Hybriden zu erwarten ist, insbesondere, wenn beide „Arten“ am gleichen Standort vorkommen, wo sie dann auch gemeinsam blühen (STEINHOFF 1997). Schließlich ist zu erwarten, dass die Hybride (n-ter Ordnung) fertil sind. Damit darf die Hypothese der Entstehung von morphologischen Übergangsformen durch überlappende Variationsbreite der Merkmale abgelehnt werden. Die Einschätzung anderer Autoren zum Vorkommen von Arthybriden zwischen Stiel- und Traubeneichen (ohne genaue Kenntnis der Vererbung morphologischer Merkmale) zeigt Tab. 8.

Tab. 8: Vermutliche mengenmäßige Vorkommen an Artbastarden in europäischen Eichenbeständen.
Putative rates of hybrids between pedunculate oak and sessile oak in European oak stands.

| Häufigkeit | Autor |
|---|--------------------------|
| recht selten und nur vereinzelt in Mitteleuropa, hingegen in Skandinavien und England etwas häufiger | RECHINGER 1957 |
| weitverbreitete Bastardierung beider Arten in Skandinavien | KRAHL-URBAN 1951 |
| 6 intermediäre Phänotypen, die höchstwahrscheinlich Hybride sind | OLSSON 1975; AAS 1988 |
| 5% in Mischbeständen von Stiel- und Traubeneichen in England | JONES 1959 |
| 50 – 75% in schottischen Eichenbeständen | COUSENS 1963 |
| „Nördlich der Traubeneichengrenze innerhalb des natürlichen Verbreitungsgebietes der Stieleichen (sind) fast nur Eichen mit deutlichen Stieleichenmerkmalen (zu finden), dagegen (kommen) in südlichen Gebieten, in denen beide Eichenarten neben- und durcheinander (auftreten), Eichen mit allen nur möglichen Merkmalsübergängen (vor).“ | KRAHL-URBAN 1951 |

Biochemische Marker sind dann morphologischen Markern überlegen, wenn sie monogenisch sind. Dies gilt insbesondere für Isoenzym-Genmarker (ROTHE 1990). Die Charakterisierung von Eichen als Stiel- oder Traubeneiche an Hand von Isoenzym-Genmarkern wird allerdings unterschiedlich bewertet. Während es den einen nicht gelang, für Stiel- und Traubeneichen typische Isoenzym-Genmarker aufzuzeigen (AAS 1988; MÜLLER-STARCK et al. 1993), ergaben

neueste Untersuchungen an acht baden-württembergischen Eichenbeständen eine im Mittel geringere Heterozygotie am Genort PGI-B für Stieleiche als für Traubeneiche (SANDER 1997). Das Enzym PEP-C stellt in diesem Zusammenhang einen Sonderfall dar. Es ist in aller Regel im Winter nur in Blattknospen von Stieleichen, nicht aber in solchen von Traubeneichen aktiv. Im Frühjahr, kurz vor Austrieb der Blattknospen, ist das Enzym in beiden Eichenarten nachweisbar. Im Grunde unterscheiden sich also die beiden Arten in der zeitlichen Expression dieses Enzyms (das den anaplerotischen Stoffwechsel kontrolliert), auch wenn zur Vereinfachung hier nur von Enzymaktivität die Rede ist. Wahrscheinlich hat sich dieser Unterschied im Laufe der Anpassung beider Arten (Ökotypen) an verschiedene klimatische Verhältnisse ihrer bevorzugten Standorte herausgebildet. Die Aktivität des Enzyms ist von Stieleiche zu Stieleiche verschieden. Dies ist aber im genannten Zusammenhang unerheblich, da es hier nur darauf ankommt, *ob* im Winter in Blattknospen Enzymaktivität gemessen werden kann oder nicht.

Die bisherigen Erkenntnisse zur Entstehung von „Übergangsformen“ lassen darauf schließen, dass sich unter diesen ein hoher Anteil an introgressiven Hybriden befindet. Bisher konnten wir in Bezug auf die Merkmale „Buchtennerven“ und „PEP-C-Aktivität“ mindestens 25% an Hybriden nachweisen. Insgesamt, also für weitere Merkmale, dürften es jedoch weit mehr sein. Hierauf weist die Tatsache hin, dass die Bestimmung von Stieleichen, Traubeneichen und „Übergangsformen“ bei Anwendung von vier verschiedenen Klassifizierungsarten nur in 47% der Fälle zu einem übereinstimmenden Ergebnis führt. Dies bedeutet, dass der Begriff der „Biologischen Art“ als einer „durch ihre sexuell-reproduktive Isolation objektiv definierten taxonomischen Kategorie“ (EHRENDORFER 1984) nicht streng auf die „Arten“ *Quercus petraea* und *Quercus robur* angewendet werden kann. Vielmehr ist davon auszugehen, dass der Artbildungsprozess in der Gattung *Quercus* nicht abgeschlossen ist und es mehrere interfertile Ökotypen gibt. Dies entspricht auch den Erkenntnissen aus umfangreichen Kreuzungsexperimenten (STEINHOFF 1997). Andererseits könnten sich am Rande des Verbreitungsgebietes beider Formen „reine“ Traubeneichen (Spanien) bzw. „reine“ Stieleichen (Westrussland) dadurch bilden, dass sie keine Möglichkeit haben, mit Individuen des anderen Formenkreises fertile Nachkommen zu bilden (VULICEVIC & ROTHE 1995).

Das Anpassungspotential der introgressiven Formen dürfte an „Übergangsstandorten“ größer sein als das der „reinen“ Formen („Arten“), weshalb sie nicht durch den Versuch einer ausschließlichen Vermehrung der „reinen Arten“ von der Reproduktion ausgeschlossen werden sollten.

Danksagung

Die Arbeiten wurden finanziell durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft (FAWF) Rheinland-Pfalz im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Johannes Gutenberg-Universität Mainz „Identifizierung von Stieleichen (*Quercus robur* L.) und Traubeneichen (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.) mit biochemischen Methoden“ sowie dem Zentrum für Umweltforschung der Johannes Gutenberg-Universität Mainz unterstützt.

5 Literatur

- AAS, G. (1988): Untersuchungen zur Trennung und Kreuzbarkeit von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* [MATT.] LIEBL.). Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der forstwissenschaftlichen Fakultät der Maximilians Universität, München, 168 Seiten.
- AAS, G. (1991): Kreuzungsversuche mit Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* [MATT.] LIEBL.). *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung*, 162.Jg., S.462-465.
- BEUSCHEL, G. (1974): Untersuchungen über die Vererbung und umweltbedingte Veränderung quantitativer und qualitativer Eigenschaften bei freiabgeblühten Traubeneichen. Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Forstwissenschaftlichen Fakultät der Ludwigs Maximilians-Universität München, 231 Seiten.
- BURGER, H. (1921): Über morphologische und biologische Eigenschaften der Stiel- und Traubeneiche und ihrer Erziehung im Forstgarten. *Mitteilungen der Schweizerischen Gesellschaft für das forstliche Versuchswesen*, XI, S.306-377.
- COUSENS, J.E. (1963): Variation of some diagnostic characters of the sessile and pedunculate oaks and their hybrids in Scotland. *Watsonia*, 5, S.273-286
- DENGLER, A. (1941): Bericht über Kreuzungsversuche zwischen Trauben- und Stieleiche (*Quercus sessiliflora* SMITH und *Quercus pendunculata* EHRH. bzw. *robur* L.) und zwischen europäischer und japanischer Lärche (*Larix europaea* D.C. bzw. *decidua* MILLER und *L. leptolepis* MURRAY bzw. *Kämpferi* SARGERZT.). *Mitteilungen der H.-Görling Akademie der deutschen Forstwissenschaft*, 1, S.87-109.
- DUPOUEY, J.-L. & BADEAU, V. (1993): Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* [MATT.] LIEBL., *Quercus pubescens* WILLD.) in northeastern France: preliminary results. *Annales des Sciences Forestières*, 50, Supp. 1, pp.35s-40s.
- EHRENDORFER, F. (1984): Artbegriff und Artbildung in botanischer Sicht. *Zeitschrift für zoologische Systematik und Evolutionsforschung*, 22, S.234-263.
- GODET, J.-D. (1987): Godet-Gehölzfürer: Bäume und Sträucher, Einheimische und eingeführte Baum- und Straucharten. Arboris Verlag, Hinterkappelen Bern (CH), 216 Seiten.
- HECKER, U. (1985): Laubgehölze, Wildwachsende Bäume, Sträucher und Zwerggehölze. Spektrum der Natur, BLV Intensivführer, Verlagsgesellschaft, München, Zürich, 478 Seiten.
- JONES, E.W. (1959): Biological flora of the British Isles, *Quercus* L. *Journal of Ecology*, 47, pp.169-222.
- JONES, E.W. (1968): The taxonomy of the British species of *Quercus*. *Proceedings of the Botanical Society of the British Islands*, 7, pp.183-184.

KOSCH, A. (1941): Was ist das für ein Baum? Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 25. - 28. Auflage, 192 Seiten.

KRAHL-URBAN, I. (1951): Trauben- und Stieleiche in Schweden. *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 70, S.319-336.

KRAHL-URBAN, I. (1959): Die Eiche, Forstliche Monographie der Traubeneiche und Stieleiche. Verlag Paul Parey, Hamburg, Berlin, 288 Seiten.

MÜLLER-STARCK, G.; HERZOG, S. & HATTEMER, H.H. (1993): Intra- and interpopulational genetic variation in juvenile populations of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* LIEBL.. *Annales de Sciences Forestières*, 50, Suppl. 1, pp.233-244.

NOVAK, F.A. (1973): Das große Bilderlexikon der Pflanzen. Lizenzausgabe der Verlagsgruppe Bertelsmann, Bertelsmann Lexikon-Verlag Gütersloh, Berlin, München, Wien, 598 Seiten.

OLSSON, U. (1975): A morphological analysis of phenotypes in populations of *Quercus* (*Fagaceae*) in Sweden. *Bot. Notiser*, 126, pp.53-68.

PHILLIPS, R. (1986): Das Kosmosbuch der Bäume. Über 500 Wald und Parkbäume. Ein großer Kosmos-Naturführer. Übersetzt von B. BRÜNING, bearbeitet von E.R. BRÜNING. Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 4. Auflage, 208 Seiten.

RECHINGER, K.H. (1957) In: G. HEGI (Hrsg.): Illustrierte Flora von Mitteleuropa Band III, 1. Teil 2. Auflage, *Fagaceae*, Berlin und Hamburg, S.197-244.

ROMMEL, M.; ROTHE, G.M.; MAURER, W.D. & TABEL, U. (1995): Artbestimmung bei Stiel und Traubeneichen. In: W. MAURER. & U. TABEL (Hrsg.): Genetik und Waldbau unter besonderer Berücksichtigung der heimischen Eichenarten. *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 34/95, Trippstadt, S.310-320.

ROTHE, G.M. (1990): Efficiency and limitations of isozyme studies in forest tree genetics. Forest Genetic Resources, Information-No 18, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp.2-15.

ROTHE, G.M. (1994): Molecular relationship and possible evolution of 15 enzyme loci in five *Pinaceae* species. In: Z.-S. KIM & H.H. HATTEMER (eds.): Conservation and manipulation of genetic resources in forestry. Proceedings of the First Joint Korean-German Symposium on Forest Genetics. Kwang Moon Kag Publishing Co. Seoul, Republic of Korea, ISBN 89-7093-0205, pp.116-141.

ROTHE, G.M. & ROMMEL, M. (1997): Biochemical traits of European sessile oak (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. and pedunculate oak (*Quercus robur* L.). In: K.C STEINER (ed.): Proceedings of the Conference on Diversity and Adaptation in Oak Species, Pennsylvania State University, University Park, PA, U.S.A. October 12-17, 1997, pp.141-142.

RUSHTON, B.S. (1977): Artificial hybridization between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* [Matt.] Liebl. *Watsonia*, 11, pp.229-236.

SACHS, L. (1978): Angewandte Statistik, Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 91 Seiten.

SANDER, T. (1997): Genetic comparison of *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Baden-Württemberg. In: K.C. STEINER (ed.): Proceedings of the Conference on Diversity and Adaptation in Oak Species, Pennsylvania State University, University Park, PA, U.S.A. October 12-17, K.C. 97, pp.143-146.

SCHMEIL, O. & FITSCHEN, J. (1988): Flora von Deutschland. Quelle und Meyer-Verlag, 88. Auflage, Heidelberg, Wiesbaden, 608 Seiten.

SCHÜTT, P.; SCHUCK, H.J. & STIMM, B. (Hrsg.) (1992): Lexikon der Forstbotanik, Morphologie, Pathologie, Ökologie und Systematik wichtiger Baum und Straucharten. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech, ISBN 3-609-65800-2, 581 Seiten.

STEINHOFF, S. (1997): Results of *Quercus* hybridization work from 1989-1996 at Escherode (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. and *Quercus robur* L.). In: K.C. STEINER (ed.): Proceedings of the Conference on Diversity and Adaptation in Oak Species, Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, U.S.A. October 12-17, 1997, pp.156-164.

TROLL, W. (1957): Praktische Einführung in die Pflanzenmorphologie. Band 2, G. Fischer Verlag Stuttgart, S.174.

VULICEVIC, I. & ROTHE, G.M. (1995): Differenzen im Winterstoffwechsel von Stieleiche (*Quercus robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* [MATT.] LIEBL.). *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 50(5), S.233-238.

Anschriften der Autoren:

Prof. Dr. Gunter M. Rothe, Michaela Rommel und Ivan Vulicevic, Institut für Allgemeine Botanik, Fachbereich Biologie, Johannes Gutenberg-Universität, Saarstrasse 21, D-55099 Mainz

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Molekulargenetische Untersuchungen an rheinland-pfälzischen Stieleichenbeständen mit dem Ziel der Erfassung ihrer Differenzierung durch RAPD-Marker

GUNTER M. ROTHE, OLIVER WERNER, WERNER D. MAURER UND UWE TABEL

Keywords: Pedunculate oak, *Quercus robur*, genetic differentiation, PCR, RAPD

Abstract:

Title of the paper: A molecular-genetic study on Rhineland-Palatinate pedunculate oak stands with the objective of assessing their differentiation by using RAPD markers.

In this study RAPD (random amplified polymorphic DNA) markers were employed to assess the genetic differentiation of five pedunculate oak (*Quercus robur* L.) stands selected in different regions of Rhineland-Palatinate (forest districts Hagenbach, Mayen, Simmern, Speyer, and Trippstadt). Approximately 40 pedunculate oaks per stand were analyzed. RAPD profiles were generated by the PCR (polymerase chain reaction) amplification procedure using the following primers: 5'-ACGGATCCTG-3' (no. 26); 5'-ACGGTACCAG-3' (no. 28) and 5'-TGCTGCAGGT-3' (no. 29) (MOREAU et al. 1994). The number of interpretable amplified DNA domains (loci) was 11 by applying primer no. 29, 12 by primer no. 28, and 13 by primer no. 26. The sizes of interpreted loci ranged from 120 to 1.050 base pairs (bp). At an average, 57% (range: 0.6 – 100%) of the investigated loci are polymorphic. The average expected heterozygosity is 31% (range: 0 to 50%). Most of the total genetic diversity (H_T) resides within the stands (91%) whereas the genetic diversity between the stands is low ($G_{ST} = 9\%$). The average genetic similarity between one of the five stands and the remaining complement of the four stands was found to be for $S = 0,6637$. Subpopulation similarity increased in the stands in the sequence stand Speyer, Mayen, Trippstadt, Simmern, and Hagenbach. The similarities of the stands Mayen and Speyer were lower than the average, while the similarities of the stands Hagenbach, Simmern and Trippstadt were larger. Consequently the stands Mayen and Speyer differed more from the complement than the stands Hagenbach, Simmern and Trippstadt.

Schlagwörter: Stieleiche, *Quercus robur*, genetische Differenzierung, PCR, RAPD

Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde die DNA-Untersuchungsmethode RAPD (random amplified polymorphic DNA) verwendet, um die genetische Differenzierung von fünf in verschiedenen Regionen von Rheinland-Pfalz (Forstamtsbereiche Hagenbach, Mayen, Simmern, Speyer und Trippstadt) ausgewählten Stieleichenbeständen (*Quercus robur* L.) mit Blick auf eine Herkunftsidentifizierung zu erfassen. Untersucht wurden jeweils etwa 40 Bäume pro Bestand. RAPD-Profile wurden mit Hilfe des PCR-Verfahrens (Polymerase-Kettenreaktion) und je einem der folgenden Primer erzeugt: Primer Nr. 26 (5'-ACGGATCCTG-3'), Primer Nr. 28 (5'-ACGGTACCAG-3') sowie Primer Nr. 29 (5'-TGCTGCAGGT-3') (MOREAU et al. 1994). Insgesamt konnten auf dem Genom der Stieleichen bei Verwendung von Primer Nr. 29 elf DNA-Abschnitte (Loci), mit Primer Nr. 28 12 DNA-Loci und mit Primer Nr. 26 13 Loci erfasst werden. Ihre Größe reicht von 120 bis 1.050 Basenpaare (bp). Von diesen erwiesen sich im Mittel 57% (Bereich: 0,6 bis 100%) als polymorph. Die durchschnittliche Zahl erwarteter heterozygoter Genorte betrug 31% (Bereich: 0 bis 50%). Der überwiegende Teil der gesamtgenetischen Diversität (H_T) wurde innerhalb der Bestände ermittelt ($H_S = 91,06\%$), während die genetische Diversität zwischen den Beständen gering ist ($G_{ST} = 8,94\%$). Die durchschnittliche genetische Ähnlichkeit eines einzelnen Bestandes im Vergleich zu dem Komplement der restlichen vier Bestände (Subpopulations-Ähnlichkeit) beträgt $S = 0,6637$. Sie nahm bestandesweise in der Reihenfolge Bestand Speyer, Mayen, Trippstadt, Simmern und Hagenbach zu. Die Subpopulations-Ähnlichkeit der Bestände Mayen und Speyer ist kleiner als der berechnete Mittelwert, die Ähnlichkeiten der übrigen drei Bestände sind größer. Somit

ist die Differenzierung der Bestände Mayen und Speyer vom Rest der jeweils vier Bestände größer, während die Ähnlichkeit der restlichen drei Bestände dem Komplement näher kommt.

1 Einleitung

Die Vitalität und Viabilität von Stiel- und Traubeneichenbeständen hängt sowohl von ihrer Standortangepasstheit als auch von der Herkunft des Ausgangsmaterials ab. Für die meisten heute älteren Bestände, insbesondere von Stieleiche, ist jedoch im einzelnen, wenn überhaupt, nur wenig über ihre Entstehung bekannt. Damit stellt sich vorrangig die Frage nach der Herkunft des zur Bestandesbegründung verwendeten Pflanzenmaterials. Auch sind bis dato in nur geringem Umfang Untersuchungen auf der genetischen Ebene an heimischen Stieleichenbeständen durchgeführt worden, um einen Einblick in das Ausmaß der vorhandenen genetischen Diversität bei dieser Baumart zu erhalten (MAURER & ROTHE 1991). Gerade auch mit Blick auf die generell bei allen unseren Waldbaumarten vorrangig gebotenen Generhaltungsmaßnahmen sind geeignete Entscheidungshilfen gefordert, auf deren Grundlage die Forstpraxis dann gezielt „vor Ort“ handeln kann.

Grundsätzlich sind für eine Überprüfung von Waldbaumbeständen hinsichtlich ihrer Herkunft wie auch zur Erfassung der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen Beständen sowohl biochemisch-genetische Methoden (z.B. Isoenzym-Genmarker) als auch die sich neuerdings immer mehr fortentwickelnden molekulargenetischen DNA-Verfahren geeignet. Für die vorliegenden Untersuchungen an Stieleichen aus ausgewählten Beständen in den Forstamtsbereichen Hagenbach, Mayen, Simmern, Speyer und Trippstadt wurde eine DNA-Analysentechnik eingesetzt, im speziellen Fall die RAPD-(„random amplified polymorphic DNA“)-Methode (WILLIAMS et al. 1990; WELSH & MCCLELLAND 1990; CAETANO-ANOLLÈS et al. 1991). Die RAPD-Methode wurde gewählt, da sie inzwischen zu den am meisten angewandten DNA-Techniken gehört, vergleichsweise einfach in der Handhabung und relativ kostengünstig ist (KRESOVICH et al. 1992; KOLLER et al. 1993; DAWSON et al. 1995; LUX 1995; FRITSCH & RIESEBERG 1996; WERNER et al. 1997).

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Im Mai 1995 wurden Zweige mit frisch ausgetriebenen Blättern von je ca. 50 Stieleichen, die zuvor anhand ihrer arttypischen Blatt- und Fruchtmerkmale ausgewählt worden waren, in den nachstehend genannten fünf Beständen durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz per Schrotflintenabschuss gewonnen:

- (1) Abt. VI 2a², (Streitwald) im FA Hagenbach (Staatswald);
- (2) Abt. 28c¹, im FA Mayen (Privatwald Graf v. Eltz);
- (3) Abt. 13a, im FA Simmern (Gemeindewald Argenthal);
- (4) Abt. 17¹, im FA Speyer (Gemeindewald Mutterstadt) sowie
- (5) Abt. XI 15b² (Langeck) und Abt. XI 16a³ (Schmetzeck)
im vormaligen FA Trippstadt, nunmehr FA Johanniskreuz (Staatswald).

Bis zur weiteren genetischen Untersuchung wurde das Pflanzenmaterial in einem gekühlten Raum aufbewahrt.

2.2 DNA-Isolierung

Gesamt-DNA wurde aus jungen Blättern mit einer nach DOYLE (1991) modifizierten Methode extrahiert (WERNER et al. 1997).

2.3 PCR (Polymerase Ketten-Reaction)

Die extrahierte DNA wurde auf $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ verdünnt. Von dieser Lösung wurden jeweils $7,5 \mu\text{l}$ mit $7,5 \mu\text{l}$ Master-Mix gemischt. [Der Master-Mix setzt sich zusammen aus: $1,5 \mu\text{l}$ MgCl_2 (25 mM); $1,2 \mu\text{l}$ steriles doppelt destilliertes Wasser; $1,5 \mu\text{l}$ mit den vier desoxy-Nukleotidtriphosphaten (dNTPs) (2 mM jeweils von dATP, dCTP, dGTP und dTTP); $1,5 \mu\text{l}$ Stoffel-Puffer (100 mM KCl, 100 mM Tris, auf pH 8,3 mit HCl eingestellt); $0,3 \mu\text{l}$ DNA-Polymerase (10 U/ μl , Stoffel-fragment, Fa. Perkin Elmer, POB 101164, 7770 Überlingen) und $1,5 \mu\text{l}$ Primer (30 μMol)]. Als Primer dienten die folgenden Oligomere: Primer Nr. 26 (5'-ACGGATCCTG-3'), Primer Nr. 28 (5'-ACGGTACCAG-3') und Primer Nr. 29 (5'-TGCTGCAGGT-3') (Fa. Operon Technologies Inc., 1000 Atlantic Avenue, Suite 108, Alameda, CA 94501, USA). Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde in einem Thermocycler (MJ Research, Type PTC-200, 149 Grove Street, Watertown, MA 02172, USA) durchgeführt. Die PCR wurde mit 4 min bei 94°C eingeleitet und dauerte 40 Zyklen. Danach wurde sie mit 5 min bei 72°C beendet. Jeder Zyklus hatte folgendes Temperaturprogramm: 45 sec bei 94°C , 45 sec bei 36°C und 90 sec bei 72°C .

2.4 Agarose-Gelelektrophorese und Dokumentation

Zu $7 \mu\text{l}$ einer RAPD-Probe aus Stieleichenblättern wurden $3,5 \mu\text{l}$ Auftragspuffer (5 M Harnstoff, 0,02% Xylen Cyanole) hinzu gemischt, hiervon $8 \mu\text{l}$ auf ein 1,2%iges Agarosegel (200 x 200 x 5 mm) aufgetragen und 4 h bei 100 V elektrophoretisch aufgetrennt. Als Gel- und Elektrodenpuffer diente TBE-Puffer von pH 8,4 (in der Zusammensetzung 45 mM Tris, 40 mM Borsäure und 1,25 mM EDTA-Na_2). Als Größenmarker wurden $8 \mu\text{l}$ eines verdünnten

Größenstandards (100 bp-Ladder, Fa. Bio Ventures, Eurogentec, Darmstadt) aufgetragen. Dazu wurde ein Volumenteil DNA-Fragmente-Lösung und ein Volumenteil Auftragspuffer gemischt. Die Standardlösung umfasst folgende DNA-Fragmente: 50, 100, 200, 300, 400, 500, 525, 700 und 1.000 bp. Nach der Elektrophorese wurden die Gele 30 min in eine Lösung von $5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ Ethidiumbromid inkubiert und anschließend 30 min in Wasser gewaschen. Anschließend wurden sie unter UV-Licht bei 302 nm fotografiert (Gelbfilter, Polaroid Film 667, Blende 32, 1 min Belichtungszeit).

2.5 Auswertung von DNA-Mustern

2.5.1 Charakterisierung von Genorten

Die genetische Analyse der Amplifikations-Produkte erfolgte an den Fotografien der elektrophoretisch aufgetrennten DNA-Banden. Bei der Auswertung wurde vorausgesetzt, dass gleich große DNA-Banden, die mit demselben Primer erzeugt wurden, die gleiche Basensequenz haben. Zunächst wurde die Gesamtzahl der DNA-Banden bestimmt, die im Größenbereich von ca. 100 bis 1.000 Basenpaaren (bp) mit einem Primer in allen untersuchten Bäumen ermittelt werden konnte. Anschließend wurde die molekulare Größe dieser Banden und ihre Schwankungsbreite anhand ihrer Wanderungstrecken und den elektrophoretischen Mobilitäten der Eichsatz-DNA-Fragmente, die im gleichen Gel mitwanderten, bestimmt (vgl. DEGEN 1996). Die mit einem bestimmten Primer erzeugten DNA-Banden wurden jeweils einem Genort zugeordnet. Die Genorte wurden entsprechend der verwendeten Primer vom kleinsten zum größten Genort hin gekennzeichnet, z.B. bezeichnet der Locus 28-A einen Genort, der mit Primer Nr. 28 dargestellt werden konnte und eine Größe von 120 bp hat (vgl. Tab. 3 bis Tab. 5, weiter hinten).

2.5.2 Polymorphe Genorte

Für jeden Genort wurden die beiden Merkmalsausprägungen „Bande vorhanden“ mit „1“ und „Bande nicht vorhanden“ mit „0“ registriert (FRITSCH & RIESEBERG 1996). Das unterschiedliche Vorkommen einer Bande an einem Genort wird als polymorph bezeichnet. Unter der Annahme, dass die gleiche DNA-Bande eines Genortes stets die gleiche Sequenz hat, liefert die RAPD ein dominantes Marker-System (DAWSON et al. 1995; RIESEBERG 1996), d.h. dem Vorkommen einer Bande kann entweder der Genotyp 1/1 oder der Genotyp 1/0 zugrunde liegen, während das Nichtvorkommen einer Bande eindeutig dem homozygoten Genotyp 0/0 zugeordnet werden kann. Dies kann zur Berechnung von Allelhäufigkeiten verwendet werden (STEPHENS et al. 1992; LYNCH & MILLIGAN 1994).

2.6 Berechnung von populationsgenetischen Maßen

2.6.1 Berechnung genetischer Ähnlichkeitskoeffizienten

Die genetische Ähnlichkeit zweier Individuen aus derselben Population oder von zwei Individuen aus verschiedenen Populationen wurde über einen Ähnlichkeitskoeffizienten (S) quantifiziert. Dieser auch als *band sharing frequency* bezeichnete Quotient wird wie folgt berechnet (SCHLEGEL 1985; BORTZ et al. 1990):

$$S = (a + d) / (a + b + c + d), \text{ wobei:}$$

- a, d:** Anzahl gemeinsamer (homologer) Banden zweier Individuen mit
 - a:** Bande in jedem Individuum vorkommend,
 - d:** Bande in beiden nicht vorkommend;
- b:** Anzahl der Banden, die in Individuum 1 vorkommt, aber nicht in Individuum 2,
- c:** Anzahl der Banden, die in Individuum 1 nicht vorkommt, aber in Individuum 2.

Besitzen zwei Individuen ein identisches Bandenmuster, so ist $S = 1$, besitzen sie dagegen keine gemeinsamen Banden, so ist $S = 0$.

Die Berechnung des Ähnlichkeitskoeffizienten S erfolgt unter Verwendung einer 1/0-Matrix und ist in der Tab. 1 beispielhaft für drei Individuen (A1, A2, A3) mit Primer Nr.29 dargestellt.

Tab. 1: Beispiel für eine 1/0-Matrix.
Example of a 1/0 matrix.

| Baum Nr. | Gencluster Nr. 29 | | | | | | | | | | |
|----------|-------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K |
| A1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| A2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| A3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |

$$S_{(A_i/A_j)} = (a + d) / (a + b + c + d)$$

$$S_{(A1/A2)} = (3 + 3) / (3 + 4 + 1 + 3) = 0,5455$$

$$S_{(A1/A3)} = (6 + 3) / (6 + 1 + 1 + 3) = 0,8182$$

$$S_{(A2/A3)} = (4 + 4) / (4 + 0 + 3 + 4) = 0,7273.$$

Die *intraspezifische* Ähnlichkeit der Genotypen einer Population wurde mit dem intraspezifischen Ähnlichkeitskoeffizienten (S_i) quantifiziert. Dieser stellt das arithmetische Mittel der Ähnlichkeitskoeffizienten aller möglichen Baumpaare einer Population dar.

Der durchschnittliche intraspezifische Ähnlichkeitskoeffizient aus dem oben genannten Beispiel ist $S_i = (0,5455 + 0,8182 + 0,7273) / 3 = 0,697$.

Der *interspezifische* Ähnlichkeitskoeffizient zwischen zwei Populationen oder einer Population und einer Gruppe von Populationen (Subpopulations-Ähnlichkeit) ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der Ähnlichkeitskoeffizienten aller möglichen Baumpaarungen zwischen Individuen der einen Population und denen der anderen Population (vgl. LYNCH 1990).

2.6.2 Berechnung von Allelhäufigkeiten

Setzt man die Häufigkeit des Null(0)-Allels gleich q und die Häufigkeit des Eins(1)-Allels gleich p und nimmt man an, dass in dem Zweiallel-System der RAPDs die Genotypen nach dem HARDY-WEINBERG-Theorem verteilt sind, so gilt:

$$p + q = 1 \text{ und } p^2 + 2pq + q^2 = 1.$$

Die relative Häufigkeit p eines Banden-Allels an einem Locus k ergibt sich somit aus:

$$p_k = 1 - (1 - q_k)^{1/2}.$$

Beispielsweise war die Häufigkeit der Bande am Locus 26-A im Bestand Simmern 0,14. Somit ist die Häufigkeit des Eins(1)-Allels gleich $p_k = 1 - (1 - 0,14)^{1/2}$, d.h. $p_k = 0,0726$ und die Häufigkeit des Null(0)-Allels ist $q = 1 - p$, d.h. $q = 1 - 0,0726 = 0,9274$. Zur Berechnung von Allelhäufigkeiten und den daraus abgeleiteten genetischen Maßen wie erwartete Heterozygotie H_e und genetische Diversität (Gesamtdiversität H_T , Intrapopulationsdiversität H_S , Interpopulationsdiversität D_{ST}) und Koeffizient der genetischen Differenzierung G_{ST}) wurde das Computerprogramm „Population Genetic Analysis“ (*PopGene*, Version 1.21, YEH et al. 1997) verwendet.

2.6.3 Clusteranalyse

Clusteranalysen wurden mit der UPGMA-(unweighted pair-group method by arithmetic means)-Methode auf der Basis des Ähnlichkeitskoeffizienten S nach SNEATH & SOKAL (1973) durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Primer mit Eignung zur Bestandesdifferenzierung

Im Rahmen der RAPD-Untersuchungen wurden ca. 30 verschiedene Primer auf ihre Tauglichkeit zur Unterscheidung der fünf Stieleichenbestände Hagenbach, Mayen, Simmern, Speyer und Trippstadt untersucht.

Sieben der verwendeten Primer wurden von MOREAU et al. (1994) vorgeschlagen, von diesen haben sich drei Oligonukleotide bewährt: Primer Nr. 26, Primer Nr. 28 und Primer Nr. 30.

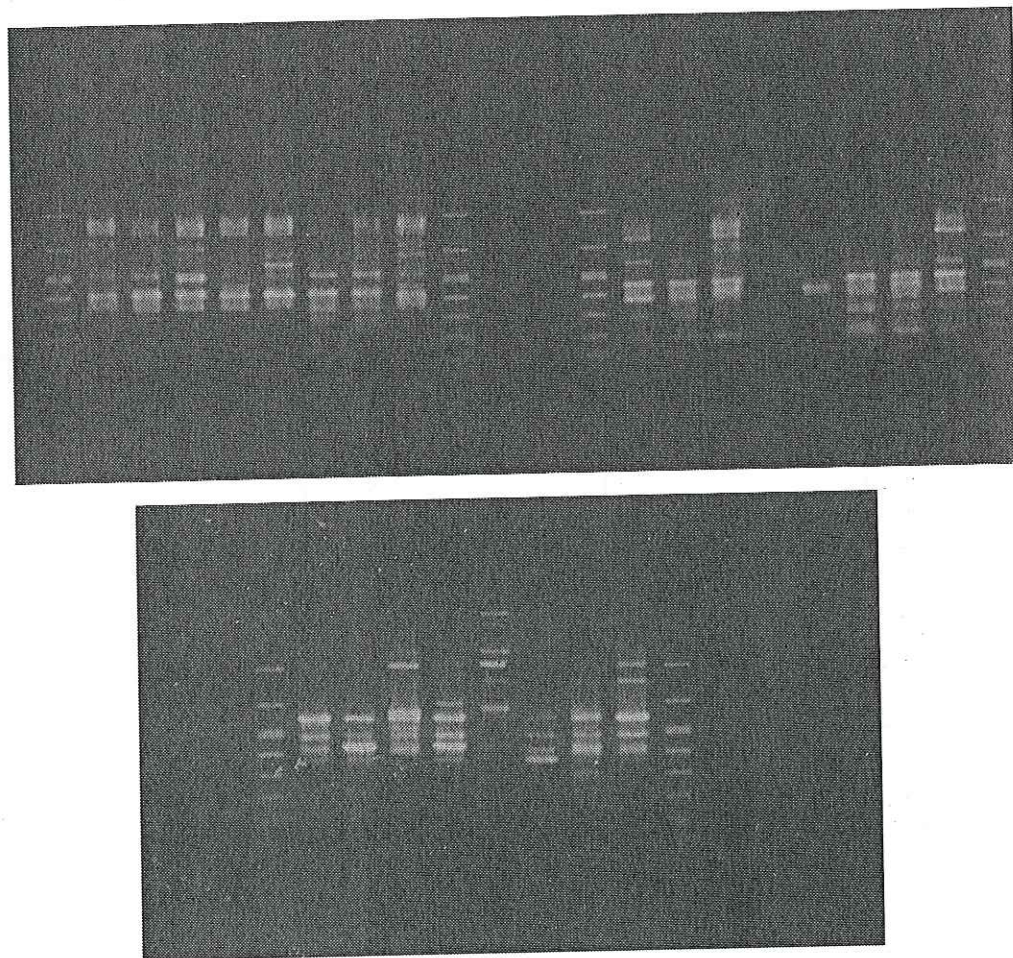


Abb. 1 RAPD-Bandenmuster, erzeugt mit DNA aus jungen Blättern von 8 Stieleichen des Bestands Mayen. Obere Abbildung, links: mit Primer Nr. 26 erzeugte Bandenmuster, rechts mit Primer Nr. 28 erzeugte Bandenmuster. Untere Abbildung: mit Primer Nr. 29 erzeugte Bandenmuster; links und rechts der Bandenmuster der Bäume das DNA-Muster des Größenstandards (WERNER et al. 1997).

Fig. 1: RAPD banding patterns generated by DNA from young leaves of 8 pedunculate oaks growing in the stand Mayen. Left part of upper photo: banding patterns generated by primer no. 26, right part of upper photo: banding patterns generated by primer no. 28; lower photo: banding patterns generated by primer no. 29. Each of the 8 banding patterns are flanked by the patterns of the DNA-size marker (WERNER et al. 1997).

DNA-Bandenmuster, wie sie mit einem der drei verwendeten Primer nach gelelektrophoretischer Auftrennung erzielt werden konnten, zeigt beispielsweise die Abb. 1.

Man erkennt deutlich, dass die mit dem gleichen Primer erzeugten DNA-Bandenmuster von Baum zu Baum verschieden sind, d.h. dass die meisten der vervielfältigten DNA-Sequenzen einen hohen Grad an Polymorphie besitzen.

Von den je 50 Proben, die pro Bestand geliefert wurden, konnten zwischen 33 und 43 ausgewertet werden (Tab. 2).

Tab. 2: Anzahl der Bäume, von denen Gesamt-DNA extrahiert und mit denen eine RAPD-Analyse durchgeführt werden konnte.

Number of pedunculate oaks from which leaves could be extracted for total DNA and used for RAPD analysis.

| <i>Primer Nr.</i> | <i>26</i> | <i>28</i> | <i>29</i> |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>Bestand</i> | | | |
| Hagenbach | 38 | 40 | 39 |
| Mayen | 41 | 43 | 37 |
| Simmern | 43 | 39 | 40 |
| Speyer | 34 | 37 | 39 |
| Trippstadt | 33 | 33 | 36 |
| Gesamtzahl | 189 | 192 | 191 |

Tabelle entnommen aus WERNER et al. (1997). *Table taken from WERNER et al. (1997).*

In allen 5 untersuchten Stieleichenbeständen waren mit dem Primer Nr. 26 insgesamt 13 Genorte (Loci) interpretierbar (Tab. 3), mit Primer Nr. 28 waren es 12 Loci (Tab. 4) und mit Primer Nr. 29 waren es 11 Loci (Tab. 5).

Tab. 3: Relative Häufigkeiten der mit Primer Nr. 26 erzeugten DNA-Banden in den fünf untersuchten Stieleichenbeständen.

Relative frequencies of DNA bands obtained by applying primer no. 26 in the five pedunculate stands under study.

| <i>Relative Häufigkeiten des Vorkommens einer DNA-Bande</i> | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Loci Größe (bp)</i> | 26-A | 26-B | 26-C | 26-D | 26-E | 26-F | 26-G | 26-H | 26-I | 26-J | 26-K | 26-L | 26-M |
| | 120 ±10 | 180 ±10 | 220 ±10 | 280 ±20 | 330 ±20 | 390 ±20 | 440 ±15 | 520 ±15 | 600 ±15 | 660 ±20 | 740 ±20 | 850 ±20 | 860 ±20 |
| <i>Bestand</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Hagenbach | 0 | 0,05 | 0,11 | 0,18 | 0,71 | 0,13 | 1 | 0,24 | 0,66 | 0,37 | 0,50 | 0,53 | 0,71 |
| Mayen | 0,37 | 0,02 | 0,22 | 0,61 | 1 | 0,34 | 1 | 0,29 | 0,90 | 0,44 | 0,78 | 0,46 | 0,83 |
| Simmern | 0,14 | 0,05 | 0,26 | 0,58 | 0,86 | 0,23 | 1 | 0,37 | 0,91 | 0,42 | 0,81 | 0,67 | 0,9 |
| Speyer | 0,21 | 0,65 | 0,62 | 0,88 | 0,82 | 0,26 | 1 | 0,62 | 0,82 | 0,41 | 0,18 | 0,38 | 0,76 |
| Trippstadt | 0,73 | 0,3 | 0,58 | 0,94 | 0,42 | 0,09 | 1 | 0,18 | 0,88 | 0,24 | 0,09 | 0,27 | 0,94 |
| Ø | 0,29 | 0,21 | 0,36 | 0,64 | 0,76 | 0,21 | 1 | 0,34 | 0,83 | 0,38 | 0,47 | 0,46 | 0,83 |

Ø: mittlere Häufigkeit einer DNA-Bande am jeweiligen Genort über alle untersuchten Bestände.
 Ø: average frequency of a DNA band at the respective gene locus over all investigated stands.

Tab. 4: Relative Häufigkeiten der mit Primer Nr. 28 erzeugten DNA-Banden in den fünf untersuchten Stieleichenbeständen.

Relative frequencies of DNA bands obtained by applying primer no. 28 in the five pedunculate stands under study.

| <i>Relative Häufigkeiten des Vorkommens einer DNA-Bande</i> | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Loci Größe (bp)</i> | 28-A | 28-B | 28-C | 28-D | 28-E | 28-F | 28-G | 28-H | 28-I | 28-J | 28-K | 28-L |
| | 120 ±10 | 180 ±10 | 220 ±10 | 280 ±20 | 330 ±20 | 390 ±20 | 440 ±15 | 520 ±15 | 600 ±15 | 660 ±20 | 740 ±20 | 850 ±20 |
| <i>Bestand</i> | | | | | | | | | | | | |
| Hagenbach | 0,20 | 0,55 | 0,15 | 0,73 | 0,98 | 0,58 | 0,80 | 0,65 | 0,42 | 0,30 | 0,98 | 0,90 |
| Mayen | 0,16 | 0,47 | 0,42 | 0,81 | 0,93 | 0,63 | 0,88 | 0,44 | 0,26 | 0,14 | 0,81 | 0,81 |
| Simmern | 0,21 | 0,67 | 0,36 | 0,87 | 0,90 | 0,87 | 0,92 | 0,72 | 0,38 | 0,54 | 0,87 | 0,87 |
| Speyer | 0,19 | 0,95 | 0,05 | 0,86 | 1 | 0,76 | 0,92 | 0,41 | 0,32 | 0,41 | 0,95 | 0,95 |
| Trippstadt | 0 | 0,45 | 0,12 | 0,67 | 0,94 | 0,61 | 0,94 | 0,42 | 0,24 | 0,27 | 0,97 | 0,97 |
| Ø | 0,15 | 0,62 | 0,22 | 0,79 | 0,95 | 0,69 | 0,89 | 0,53 | 0,32 | 0,33 | 0,92 | 0,90 |

Ø: mittlere Häufigkeit einer DNA-Bande am jeweiligen Genort über alle untersuchten Bestände.
 Ø: average frequency of a DNA band at the respective gene locus over all investigated stands.

Tab. 5: Relative Häufigkeiten der mit Primer Nr. 29 erzeugten DNA-Banden in den fünf untersuchten Stieleichenbeständen.

Relative frequencies of DNA bands obtained with primer no. 29 in the five pedunculate stands under study.

| <i>Relative Häufigkeiten des Vorkommens einer DNA-Bande</i> | | | | | | | | | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Loci | 29-A | 29-B | 29-C | 29-D | 29-E | 29-F | 29-G | 29-H | 29-I | 29-J | 29-K |
| Größe (bp) | 200 | 270 | 350 | 400 | 470 | 600 | 680 | 830 | 900 | 950 | 1050 |
| | ±10 | ±10 | ±10 | ±15 | ±15 | ±15 | ±15 | ±20 | ±20 | ±20 | ±20 |
| Bestand | | | | | | | | | | | |
| Hagenbach | 0 | 0 | 0,10 | 0,97 | 0,92 | 0,97 | 0,54 | 0,54 | 0,92 | 0,23 | 1 |
| Mayen | 0 | 0,03 | 0,30 | 0,86 | 0,65 | 0,73 | 0,73 | 0,41 | 0,41 | 0,08 | 0,73 |
| Simmern | 0 | 0 | 0,05 | 0,85 | 0,75 | 1 | 0,58 | 0,53 | 0,50 | 0,38 | 0,93 |
| Speyer | 0,03 | 0,15 | 0,26 | 0,77 | 0,67 | 0,79 | 0,51 | 0,26 | 0,67 | 0,10 | 0,79 |
| Trippstadt | 0 | 0 | 0,64 | 1 | 1 | 0,94 | 0,64 | 0,5 | 0,83 | 0,42 | 0,92 |
| Ø | 0,006 | 0,04 | 0,27 | 0,89 | 0,8 | 0,89 | 0,6 | 0,45 | 0,67 | 0,24 | 0,87 |

Ø: mittlere Häufigkeit einer DNA-Bande am jeweiligen Genort über alle untersuchten Bestände.
 Ø: average frequency of a DNA band at the respective gene locus over all investigated stands.

3.2 Bestandestypische DNA-Phänotypen

3.2.1 Phänotypische Häufigkeitsunterschiede an einzelnen Genorten

DNA-Phänotypen (das sind die Banden im Elektrophoresegelel), die exklusiv in nur einem Bestand nachzuweisen waren, konnten nicht beobachtet werden. Dagegen war andererseits die spezifische Abwesenheit eines Phänotyps in zwei Beständen zu beobachten. Im Bestand Hagenbach war am Genort 26-A keine DNA-Bande zu beobachten, während dies in den übrigen 4 Beständen mit Häufigkeiten von 14–73% der Fall war (Tab. 6). In gleicher Weise war die Bandenhäufigkeit am Genort 28-A im Bestand Trippstadt gleich Null, während sie in den übrigen Beständen 16–21% betrug (Tab. 6).

Tab. 6: Unterschiedliche Häufigkeiten der mittels RAPD-Methode erzeugten DNA-Banden- in den fünf untersuchten Stieleichenbeständen.

Differing frequencies of DNA bands as generated by the RAPD method in the five pedunculate oak stands under study.

| <i>Genort (bp)</i> | <i>Bestand</i> | <i>Banden-Häufigkeit</i> | | | |
|--------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----|
| | | <i>%</i> | <i>übrige Bestände</i> <i>%</i> | <i>Δ Minimum</i> <i>%</i> | |
| 26-A (120) | Hagenbach | 0 | 14-73 | +14 | |
| 26-D (300) | | 18 | 58-94 | +40 | |
| 26-B (180) | Speyer | 65 | 2-30 | -35 | |
| 26-H (470) | | 62 | 18-37 | -25 | |
| 28-B (180) | | 95 | 45-67 | -28 | |
| 26-A (120) | Trippstadt | 73 | 0-37 | -36 | |
| 26-E (370) | | 42 | 71-100 | +29 | |
| 28-A (120) | | 0 | 16-21 | +16 | |
| 29-C (350) | | 64 | 5-30 | -34 | |
| 26-C (230) | Hagenbach, Mayen, Simmern | 11-26 | Speyer, Trippstadt | 58-62 | +32 |
| 26-K (650) | Speyer, Trippstadt | 9-18 | Hagenbach, Mayen, Simmern | 50-81 | +32 |

Genort: gene locus; Größe (bp): size of base pairs; übrige Bestände: remaining stands; Δ Minimum: minimum difference
(Tabelle entnommen aus WERNER et al. 1997); (table taken from WERNER et al. 1997).

An weiteren 7 Genorten waren quantitative Häufigkeitsunterschiede zu beobachten. Im Bestand Hagenbach war die Bandenhäufigkeit am Genort 26-D 18%, während sie in den übrigen Beständen um mindestens 40% größer war (Tab. 6). Im Bestand Speyer betragen die Häufigkeiten an den Genorten 26-B, 26-H und 28-B 65%, 62% bzw. 95%, in den übrigen Beständen waren sie hingegen um mindestens 35, 25 bzw. 28% geringer (Tab. 6). Im Bestand in Trippstadt wurden DNA-Phänotypen mit Häufigkeiten von 73%, 42% und 64% an den Genorten 26-A, 26-E und 29-C beobachtet, in den übrigen Beständen waren diese Häufigkeiten jedoch um mindestens 36% kleiner, um 29% größer bzw. um 34% geringer (Tab. 6). Im Rahmen dieser Analysen an einzelnen Genorten fällt auf, dass mit dem Primer Nr. 26 Häufigkeitsunterschiede an 8 von 13 Genorten aufgezeigt werden konnten, mit dem Primer Nr. 28 jedoch nur an 2 von 12 Loci und mit Primer Nr. 29 lediglich an einem von 11 Loci.

3.2.2 Genetische Ähnlichkeit der Stieleichen innerhalb der Bestände

Die genetische Ähnlichkeit der nahezu 200 untersuchten Stieleichen wurde mit dem Ähnlichkeitskoeffizienten S bestimmt, mit dem die Ähnlichkeit der generierten DNA-Muster

quantifiziert werden kann. Die durchschnittliche genetische Ähnlichkeit der Bäume innerhalb der fünf Stieleichenbestände beträgt, über alle 36 Loci gemittelt, für $S_i = 71,41\%$ (Tab. 7) (würden sich alle Bestände in dieser Hinsicht gleichen, so wäre $S_i=100\%$). Bezogen auf alle untersuchten 36 Genorte nehmen die intraspezifischen Ähnlichkeiten der Bestände in der Reihenfolge Mayen, Speyer, Simmern, Hagenbach, Trippstadt zu (Tab. 7). Somit ist die genetische Diversität innerhalb des Bestandes Mayen relativ am größten und im Bestand Trippstadt relativ am kleinsten.

Tab. 7: Intraspezifische Ähnlichkeitskoeffizienten S_i der fünf untersuchten Stieleichenbestände.
Intraspecific similarity indices S_i of the five pedunculate oak stands under study.

| Primer Nr. Bestand | Intraspezifische Ähnlichkeiten S_i der Gengruppen | | | |
|-------------------------------|---|-----------|-----------|----------|
| | 26 | 28 | 29 | Ø |
| Hagenbach | 0,6976 | 0,6770 | 0,8260 | 0,7335 |
| Mayen | 0,6711 | 0,6592 | 0,6972 | 0,6758 |
| Simmern | 0,7171 | 0,6945 | 0,7388 | 0,7168 |
| Speyer | 0,6432 | 0,7621 | 0,6910 | 0,6988 |
| Trippstadt | 0,7428 | 0,7135 | 0,7797 | 0,7453 |
| Ø | 0,6944 | 0,7013 | 0,7465 | 0,7141 |

Bezogen auf die einzelnen Gengruppen (mit einem Primer darstellbare Loci) können folgende Aussagen getroffen werden:

Die intraspezifische Ähnlichkeit im Bereich der Genorte Nr. 26 betrug über alle fünf Populationen gemittelt $S_i = 69,44\%$ (Tab. 7). An diesen Genorten waren sich die Bäume im Bestand Trippstadt am ähnlichsten und die im Bestand Speyer am unähnlichsten. In Bezug auf die mit Primer Nr. 28 lokalisierten Genorte betrug die mittlere intraspezifische Ähnlichkeit $S_i = 70,13\%$ (Tab. 7), wobei sich die Stieleichen im Bestand Speyer am ähnlichsten waren und die im Bestand Mayen am unähnlichsten. Die mittlere Ähnlichkeit an den Genorten, die mit Primer Nr. 29 amplifiziert worden waren, betrug $S_i = 74,65\%$ (Tab. 7); hierbei waren sich die Bäume des Bestands Hagenbach relativ am ähnlichsten und die im Bestand Speyer am unähnlichsten. Im Bestand Speyer sind sich demnach die Stieleichen an den Genclustern Nr. 26 und Nr. 29 relativ am unähnlichsten, während dies am Gencluster Nr. 28 im Bestand Mayen der Fall ist. Die größten Ähnlichkeiten sind am Gencluster Nr. 26 im Bestand Trippstadt zu beobachten, am Gencluster Nr. 28 im Bestand Speyer und am Gencluster Nr. 29 im Bestand Hagenbach.

3.2.3 Genetische Ähnlichkeit der Stieleichen zwischen den Beständen

Die genetische Ähnlichkeit zwischen den Beständen wurde ebenfalls über den Ähnlichkeitskoeffizienten S ermittelt. Dazu wurde einmal –vergleichbar mit der Subpopulations-Differenzierung –die Ähnlichkeit zwischen einem einzelnen Bestand und dem jeweiligen Komplement der restlichen vier Bestände ermittelt und zum andern die Ähnlichkeit zwischen den Bestandespaaren.

Die fünf Stieleichenbestände können zu 10 Bestandespaaren gruppiert werden. Berechnet man für jedes Paar den interspezifischen Ähnlichkeitskoeffizienten und benutzt man diesen für eine Clusteranalyse, so resultiert das in Abb. 2 gezeigte Dendrogramm. Danach sind sich die Bestände Simmern und Hagenbach am ähnlichsten, diesem Paar steht der Bestand Mayen am nächsten. Die Bestände Speyer und Trippstadt bilden ein eigenes Cluster.

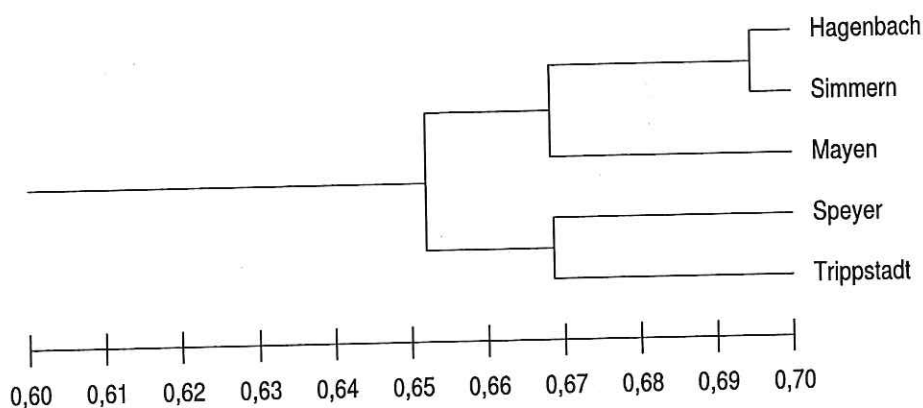


Abb. 2: Genetische Ähnlichkeit der fünf untersuchten Stieleichenbestände unter Auswertung der mit den Primern Nr. 26, 28 und 29 erzeugten RAPD-Bandenmustern (nach WERNER et al. 1997).

Fig. 2: Genetic similarities of the five pedunculate oak stands under study as established by RAPD analysis using the primers nos. 26, 28 and 29 (according to WERNER et al. 1997).

Die genetische Ähnlichkeit der fünf Stieleichenbestände bezogen auf das jeweilige Komplement der restlichen vier Bestände beträgt im Mittel $S_{ij} = 66,37\%$ (Tab. 8). An den einzelnen Genclustern erstrecken sich die Ähnlichkeitswerte von $S_{ij} = 59,3\%$ (Bestand Speyer, Primer Nr. 26) bis zu $S_{ij} = 74,29\%$ (Bestand Hagenbach, Primer Nr. 29) (Tab. 8), sie sind also auf dieser Ebene um maximal 15% verschieden. Über alle Gencluster gemittelt, weicht der Bestand Speyer am meisten vom Mittelwert nach unten ab (Abb. 3). Dieser ist also dem gesamten erfassten Genpool relativ am unähnlichsten, während der Bestand Hagenbach den Mittelwert relativ am weitesten nach oben überschreitet, also dem erfassten Genpool am

ähnlichsten ist (Abb. 3). Oberhalb des Mittelwertes sind auch die Bestände Simmern und Trippstadt angesiedelt. Der Bestand Mayen weist – neben Speyer – einen Ähnlichkeitskoeffizienten unterhalb des Mittelwertes auf (Abb. 3).

Tab. 8: Interspezifische Ähnlichkeitskoeffizienten für einen Bestand und das Komplement der restlichen vier untersuchten Stieleichenbestände.

Interspecific similarity indices related to an individual stand and the complement of the remaining four pedunculate oak stands under study.

| Primer Nr. Bestand | Interspezifische Ähnlichkeiten S_i der Gengruppen | | | |
|-----------------------|---|--------|--------|--------|
| | 26 | 28 | 29 | Ø |
| Hagenbach | 0,6145 | 0,6710 | 0,7429 | 0,6761 |
| Mayen | 0,6314 | 0,6548 | 0,6814 | 0,6559 |
| Simmern | 0,6345 | 0,6585 | 0,7112 | 0,6681 |
| Speyer | 0,5930 | 0,6776 | 0,6816 | 0,6507 |
| Trippstadt | 0,6018 | 0,6910 | 0,7103 | 0,6677 |
| Ø | 0,6150 | 0,6706 | 0,7055 | 0,6637 |

Im Mittel betrug die intraspezifische Ähnlichkeit ca. 72% und die interspezifische Ähnlichkeit ca. 66%, so dass etwa 6% der genetischen Diversität zwischen den Beständen zu finden ist.

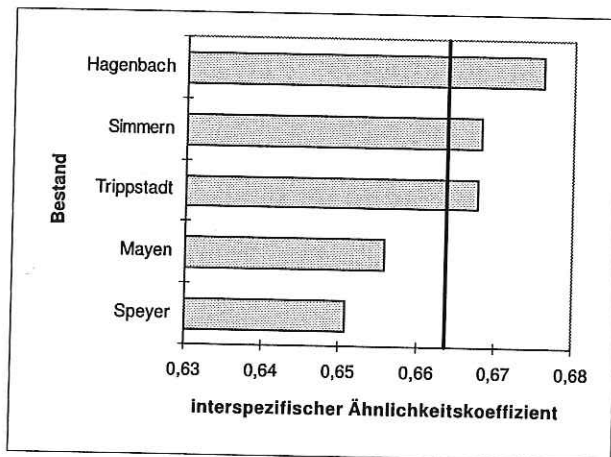


Abb. 3: Genetische Ähnlichkeit zwischen einem der fünf untersuchten Stieleichenbestände und dem jeweiligen Komplement der restlichen vier Bestände (nach WERNER et al. 1997).

Fig. 3: Subpopulation similarity of the five pedunculate oak stands under study in relation to the complement of the remaining four stands (according to WERNER et al. 1997).

3.3 Erwartete Heterozygotie H_e der Bestände

Unter der Annahme, dass es sich bei RAPD-Markern um ein Zweiallel-System handelt und die Genotypen in einer Population nach dem HARDY-WEINBERG-Gesetz verteilt sind, können aus den phänotypischen DNA-Bandenmustern die Häufigkeiten der Allele 1 und 0 berechnet werden.

Tab. 9: Erwartete Heterozygotie H_e (%) der Stieleichen in den fünf untersuchten Beständen.
Degree of expected heterozygosity H_e (%) of pedunculate oaks in the five stands under study.

| Primer Nr. | Bestand | | | | |
|-----------------------|------------------|--------------|----------------|---------------|-------------------|
| | Hagenbach | Mayen | Simmern | Speyer | Trippstadt |
| 26 | 25,6 | 29,1 | 31,1 | 35,8 | 27,8 |
| 28 | 36,0 | 37,1 | 41,2 | 31,7 | 30,2 |
| 29 | 23,0 | 32,1 | 27,7 | 32,9 | 27,2 |
| ∅ | 28,2 | 32,7 | 33,4 | 33,5 | 28,4 |

Zur Ermittlung der genetischen Variabilität der untersuchten Stieleichenbestände kann damit auch die erwartete Heterozygotie bestimmt werden. Diese ist relativ hoch und beträgt im Mittel 31,2% (Tab. 9). Der kleinste Wert beträgt 23,0% (Primer Nr. 29, Bestand Hagenbach), der größte 41,2% (Primer Nr. 28, Bestand Simmern). Innerhalb eines Bestandes sind damit die erwarteten Heterozygotien vom untersuchten Gencluster abhängig (Tab. 9).

3.4 Genetische Differenzierung nach NEI

Aus den Allelhäufigkeiten kann auch die gesamtgenetische Diversität H_T , die Diversität innerhalb der Populationen H_S und die Differenzierung zwischen den Beständen G_{ST} nach NEI (1977) bestimmt werden. Über alle Genorte gemittelt, wurde NEIs Koeffizient der genetischen Differenzierung G_{ST} mit 8,94% ermittelt (Tab. 10). Je nach untersuchtem Gencluster schwankt dieser Wert zwischen 6,99% (Primer Nr. 28) und 10,14% (Primer Nr. 26) (Tab. 10).

Tab. 10: Genetische Gesamtdiversität (H_T), genetische Diversität innerhalb der Populationen (H_S) und NEI's Koeffizient der genetischen Differenzierung G_{ST} [$G_{ST} = (H_T - H_S)/H_T$].
Total genetic diversity (H_T), genetic diversity within populations (H_S) and NEI's coefficient of genetic differentiation G_{ST} [$G_{ST} = (H_T - H_S)/H_T$].

| <i>Genorte der Primer Nr.</i> | <i>Genetische Diversität bzw. Differenzierung (%)</i> | | |
|-----------------------------------|---|-------|----------|
| | H_T | H_S | G_{ST} |
| 26 | 34,01 | 30,53 | 10,14 |
| 28 | 36,43 | 33,67 | 6,99 |
| 29 | 31,48 | 27,92 | 9,70 |
| ∅ | 33,97 | 30,71 | 8,94 |

Mithin ist die genetische Diversität zu 91,06% (89,86–93,01%) innerhalb der Bestände anzutreffen und die genetische Differenzierung zwischen den Beständen mit 8,94% sehr gering.

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden fünf rheinland-pfälzische Stieleichenbestände auf mögliche genetische Differenzen untersucht. Von diesen sind vier, nämlich die Bestände Hagenbach, Simmern, Speyer und Trippstadt von nicht bekannter Herkunft, während der Bestand Mayen eine spätaustreibende slawonische Herkunft darstellt.

Für die Untersuchungen wurde die RAPD-Methode eingesetzt, die bereits für die Differenzierung bei Apfel (*Malus sp.*) (KOLLER et al. 1993) und Esche (*Fraxinus excelsior L.*) (LUX 1995) verwendet wurde. Die Methode bietet den Vorteil, jede Region des Genoms eines Organismus untersuchen zu können, ohne dass hierzu Sequenzinformationen erforderlich sind. Mit Primern von 10 Nukleotiden Länge können etwa ein Dutzend DNA-Abschnitte mit einer durchschnittlichen Länge von ca. 500 Basenpaaren untersucht werden (CAETANO-ANOLLÉS et al. 1991). Somit bedarf es mehrerer Hundert Primer, um das ganze Genom einer höheren Pflanze vollständig auf populationspezifische Differenzen zu durchsuchen. Dies würde bei 200 zu untersuchenden Probanden, wie im vorliegenden Fall, mehrere 10.000 Analysen erfordern. Satt dessen haben wir nur 30 Primer geprüft, von denen 7 zur Differenzierung französischer Stiel- und Traubeneichen-Vorkommen verwendet worden waren (MOREAU et al. 1994). Von den 7 Primern mit einer Länge von 10 Basenpaaren

ergaben drei für die untersuchten rheinland-pfälzischen Stieleichen sowohl reproduzierbare als auch interpretierbare DNA-Muster nach PCR.

Die mit einer RAPD-Analyse vervielfältigten DNA-Bandenmuster können nach phänotypischen Merkmalen oder nach genotypischen Merkmalen ausgewertet werden. Das Auftreten bzw. Ausbleiben einer vervielfältigten DNA-Region kann als phänotypisches Merkmal gewertet werden, da es sowohl dem Genotypen 1/1 als auch dem Typ 1/0 entsprechen kann. Genotypische Merkmale lassen sich ermitteln, wenn man annimmt, dass die Phänotypen a) auf einem Zweiallel-System beruhen und b) die sich hieraus ergebenden Genotypen nach dem HARDY-WEINBERG-Gesetz verteilt sind. Auch wenn dies generell der Fall zu sein scheint (RIESEBERG 1996), so können sich im konkreten Fall Abweichungen ergeben. Deshalb haben wir uns insbesondere auf die phänotypischen Merkmale konzentriert.

Die vorgefundenen phänotypischen Merkmale (d.h. Bande ist vorhanden bzw. Bande ist nicht vorhanden) können genort-spezifisch oder auf alle untersuchten Genorte bezogen, zur Differenzierung der Bestände herangezogen werden. Bezogen auf einzelne Genorte wurden folgende Beobachtungen gemacht: Eine vervielfältigte DNA-Region wurde ausschließlich in einem einzigen Bestand aufgefunden (Bestand Speyer: Genort 29-A). Dagegen wiesen die beiden Bestände Hagenbach und Trippstadt als einzige jeweils an einem unterschiedlichen Genort (26-A, 28-A) kein Amplifikationsprodukt auf.

An weiteren 7 Genorten waren quantitative Häufigkeitsunterschiede zu beobachten, am Genort 26-D im Bestand Hagenbach in Bezug zu allen anderen Beständen, an den Genorten 26-B, 26-H und 28-B im Bestand Speyer in Bezug zu allen übrigen Beständen sowie an den Genorten 26-A, 26-E, 28-A und 29-C im Bestand Trippstadt in Bezug zu den restlichen Beständen.

Über alle 36 untersuchten Genorte gemittelt, sind sich die Bestände sehr ähnlich. Die interspezifische Diversität der Bestände beträgt nur 6%. Gruppiert man die Bestände paarweise, so sind sich die Bestände Simmern und Hagenbach am ähnlichsten, diesem Bestandespaar steht der Bestand Mayen am nächsten. Die Bestände Speyer und Trippstadt bilden ein eigenes Cluster.

Die genetische Ähnlichkeit eines jeden der fünf Stieleichenbestände kann auch auf das Komplement der restlichen vier Bestände bezogen werden. Über alle untersuchten Gencluster gemittelt, ist hiernach der Bestand Speyer dem Komplement am unähnlichsten, danach folgt der Bestand Mayen. Dem Komplement am ähnlichsten sind die Bestände Trippstadt und Simmern mit nahezu gleichen Ähnlichkeiten sowie der Bestand Hagenbach. Mithin weicht der Bestand Mayen, der nichtheimischen Ursprungs ist, an den untersuchten Genorten

zusammen mit dem Bestand Speyer stärker vom Mittel der untersuchten Populationen ab, als die restlichen untersuchten Populationen. Dies schließt nicht aus, dass unter hinzuziehen weiterer DNA-Marker der Bestand Mayen am stärksten von den übrigen Beständen differenziert.

Danksagung

Die Arbeiten wurden finanziell durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Johannes Gutenberg-Universität Mainz: „*Genetische Differenzierung von Stieleichen (Quercus robur L.)-Beständen in Rheinland-Pfalz mittels RAPD-Markern*“ und dem Zentrum für Umweltforschung der Universität Mainz unterstützt.

5 Literatur

- BORTZ, J.; LIENERT, G.A. & BOEHNKE, K. (1990):** Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Springer Verlag, Berlin.
- CAETANO-ANOLLÉS, G.; BASSAM, B.J. & GRESSHOFF, P.M. (1991):** DNA amplification fingerprinting: a strategy for genome analysis. *Plant Molecular Biological Report*, 9, pp.292-305.
- DAWSON, J.K.; SIMONS, A.J.; WAUGH, R. & POWELL, W. (1995):** Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Gliricidia sepium* revealed by PCR-based assays. *Heredity*, 74, pp.10-18.
- DEGEN, B. (1996):** CoTriX version 2.0, a computer programme for analysis of DNA banding patterns. Institut für Forstgenetik, Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Sieker Landstrasse 2, D-22927 Großhansdorf, Germany.
- DOYLE, J. (1991):** DNA protocols for plants. *Molecular techniques in taxonomy*. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, pp.283-293.
- FRITSCH, P. & RIESEBERG, L.H. (1996):** The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In: T. SMITH & R.K. WAYNE (eds.): *Molecular genetic approaches in conservation*, Oxford University Press, N. Y., U.S.A., pp.54-73.
- KOLLER, B.; LEHMANN, A.; MCDERMOTT, J.M. & GESSLER, C. (1993):** Identification of apple cultivars using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, pp.901-904.
- KRESOVICH, S.; WILLIAMS, J.G.K.; MCFERSON, J.R.; ROUTMAN, E.J. & SCHAAL, B.A. (1992):** Characterization of genetic identities and relationship of *Brassica oleracea* L. via a random amplified polymorphic DNA assay. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, pp.190-196.
- LUX, H. (1995):** Erste Ergebnisse der DNA-Analyse zur Identifikation einer Herkunft von Esche (*Fraxinus excelsior* L.) aus Sachsen-Anhalt. In: *Die Erhaltung der genetischen Ressourcen von Bäumen und Sträuchern*, Institut für Weiterbildung und Beratung im Umweltschutz e. V., Magdeburg. IWU Tagungsberichte, S.207-214.

- LYNCH, M. & MILLIGAN, B.G. (1994):** Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3, pp.91-99.
- MAURER, W.D. & ROTHE, G.M. (1991):** Genetic variability as determined by isozyme analyses of oak (*Q. petraea*, *Q. robur*) stands in Rheinland-Pfalz (South West Germany) [Posterpräsentation]. In: Program of the Meeting of the IUFRO Working Party S2 02 22 „Genetics of Oaks“, Arboretum National des Barres, September 2 – 6, 1991.
- MOREAU, F.; KLEINSCHMITT, J.R.G. & KREMER, A. (1994):** Molecular differentiation between *Q. petraea* and *Q. robur* assessed by random amplified DNA fragments. *Forest Genetics*, 1(1), pp.51-64.
- NEI, M. (1977):** F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics*, 41, pp.225-233.
- RIESEBERG, L.H. (1996):** Homology among RAPD fragments in interspecific comparisons. *Molecular Ecology*, 5, pp.99-105.
- SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. (1973):** Numerical Taxonomy. H.W. Freeman & Co., San Francisco (USA).
- STEPHENS, J.C.; GILBERT, D.A.; YUHKI, N. & O'BRIEN, S.J. (1992):** Estimation of heterozygosity for single-probe multilocus DNA fingerprints. *Molecular Biology and Evolution*, 9(4), pp.729-743.
- SCHLEGEL, H.G. (1985):** Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart
- WELSH, J. & MCCLELLAND, M. (1990):** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Research*, 18, pp.7213-7218.
- WERNER, O.; ROTHE, G.M.; MAURER, W.D. & TABEL, U. (1997):** Differentiation of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) populations by DNA amplification fingerprinting. In: K.C. STEINER (ed.): Proceedings of the Conference on Diversity and Adaptation in Oak Species, Pennsylvania State University, University Park, PA, U.S.A. October 12-17, 1997, pp.22-36.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. (1990):** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*, 18, pp.6531-6535.
- YEH, F.C.; YANG, R.C. & BOYLE, T. (1997):** PopGene Version 1.21. Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis (<http://www.ualberta.ca/~fyeh>).

Anschriften der Autoren:

Prof. Dr. Gunter M. Rothe und Oliver Werner, Institut für Allgemeine Botanik, Fachbereich Biologie, Johannes Gutenberg-Universität, Saarstrasse 21, D-55099 Mainz

Dr. Werner D. Maurer und Dr. Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Genetische Variation innerhalb und zwischen Herkünften eines Stieleichen- Provenienzversuchs (*Quercus robur* L.)

GERHARD MÜLLER-STARCK, WERNER D. MAURER, UWE TABEL UND ROLAND SCHUBERT

Keywords: Pedunculate oak, *Quercus robur*, enzyme gene loci, geographical variation, heterozygosity, diversity, differentiation, adaptation, provenance

Abstract

Title of the paper: Genetic variation within and between provenances of a pedunculate oak (*Quercus robur* L.) provenance trial.

In a four-year-old provenance trial, samples from 30 locations in Germany and the Netherlands were genetically characterized. Based on a sample size of 100 individuals per provenance, a total of 3.000 individuals were genotyped at 20 enzyme coding gene loci.

Intrapopulation variation is verified to be large as compared to other species. The average number of alleles per locus is 4.1, the observed heterozygosity is 25%. As compared to reference data from adult stands, the provenance samples do not seem to reveal substantially restricted genetic variation. Small genetic differentiation is indicated among provenance samples. In spite of this, certain samples deviate significantly from each other in the way they represent the gene pool of all studied material. It turns out, that the official standard for this provenance trial represents the entire gene pool at minimum. Maximum deviations among samples are obtained with respect to the hypothetical gametic multilocus diversity, which is an important indicator of the adaptive potential of populations. Impacts of the results on the choice of provenances are outlined.

Schlagwörter: Stieleiche, *Quercus robur*, Enzymgenloci, geographische Variation, Heterozygotie, Diversität, Differenzierung, Adaptation, Provenienz

Zusammenfassung

In einen vierjährigen Stieleichen-Herkunftsversuch wurden die einzelnen, von 30 verschiedenen Quellen aus Deutschland und den Niederlanden stammenden Herkünfte genetisch charakterisiert. Bei einer Probengröße von jeweils 100 Einzelpflanzen pro Herkunft wurden insgesamt 3.000 Individuen an 20 verschiedenen Enzymgenloci genotypisch bestimmt.

Im Vergleich zu anderen Baumarten stellt sich die Variation innerhalb der Populationen als groß dar. Die durchschnittliche Anzahl der Allele pro Genort beträgt 4,1, die beobachtete Heterozygotie liegt bei 25%. Verglichen mit Vergleichsdaten aus Altbeständen scheinen die Herkunftsproben nicht wesentlich in ihrer genetischen Variation eingeschränkt zu sein. Eine geringe genetische Differenzierung kommt zwischen den Herkunftsproben zum Ausdruck. Dennoch weichen bestimmte Herkünfte voneinander dahingehend ab, als sie den Genpool des gesamten Untersuchungsmaterials repräsentieren. Es stellt sich heraus, dass der offizielle Standard für diesen Herkunftsversuch den Gesamt-Genpool am wenigsten repräsentiert. Größte Abweichungen treten zwischen den Herkünften bezüglich der hypothetischen gametischen Multilocus-Diversität auf, die ein wichtiger Indikator des adaptiven Potentials von Populationen darstellt. Die Auswirkungen der Ergebnisse auf die Auswahl von Herkünften werden diskutiert.

1 Einführung

Die Überprüfung der genetischen Variation und ihre Dynamik in Waldbaumpopulationen eröffnet vielfältige Nutzungsmöglichkeiten aus ökologischer und ökonomischer Sicht. Genetische Erhebungen ermöglichen die Beschreibung der geographischen Variation, den Nachweis von Risikosituationen infolge von Genverlusten und Inzuchtbelastungen, die Überprüfung der Auswirkungen von forstlicher Bewirtschaftung und von Umweltstress sowie die Charakterisierung und den Schutz genetischer Ressourcen von Waldbeständen. Aus diesen Informationen können Entscheidungshilfen für die forstliche Praxis und die Gesetzgebung abgeleitet werden. Genetische Inventuren sind notwendige Bestandteile einer genetisch nachhaltigen Waldbewirtschaftung (s. z.B. MÜLLER-STARCK 1996) und wichtige Voraussetzungen zur Erhaltung und Verbesserung der Anpassungsfähigkeit und damit der Überlebensfähigkeit von Waldökosystemen. Die Erfassung genetischer Merkmale ist auch ein wichtiges Instrument der Forstpflanzenzüchtung. Der Nachweis von Korrelationen zwischen genetischen Merkmalen und Wuchsleistung oder Qualitäts- bzw. Resistenzeigenschaften hat unmittelbaren wirtschaftlichen Nutzen.

In Rheinland-Pfalz hat die Stieleiche auf der Basis von rund 527.000 ha Wirtschaftswald im Staats- und Kommunalwald zusammen mit der Traubeneiche einen Flächenanteil von rund 14% [Rang 4 hinter Fichte (26%), Buche (24%) und Kiefer (18%)] (EDER & ROSE 1995). Gegenüber der Traubeneiche kommt ihr dabei zwar nur ein Siebtel dieser Eichenfläche zu, dennoch ist sie, regional gesehen, im planaren bis submontanen Wärmestufenbereich von waldbaulicher Bedeutung, dies auch mit Blick auf die waldbaulichen Konzeptionen bezüglich einer längerfristigen konsequenten Weiterverfolgung des Waldumbaus in Rheinland-Pfalz (EDER 1990). Mit rund 80 ha größtenteils hervorragender heimischer Stieleichenbestände der Plus- und A-Kategorie stehen hinsichtlich der Versorgung mit herkunftsgesichertem Saat- und Pflanzgut zwar bewährtes Ausgangsmaterial zur Verfügung, ein Vergleich mit Stieleichenprovenienzen aus anderen mitteleuropäischen Regionen, in dem sich das Leistungs- und Resistenzverhalten der heimischen Herkünfte gegenüber (a)biotischen Stressoren widerspiegelt, steht jedoch soweit aus. Mit der Schwammspinner-Kalamität in Rheinland-Pfalz von 1992-1994 ist zudem eine massive regionale Gefährdung der Stieleiche in besonderem Maße offenkundig geworden (ANONYMUS 1999).

In den Versuchsanlagen Thiergarten (FA Neupfalz) und Landscheid (nunmehr FA Wittlich, zuvor FA Salmtal) wurden 30 Herkünfte der Stieleiche eingebracht, um die für Rheinland-Pfalz geeigneten Provenienzen insbesondere hinsichtlich der Wüchsigkeit, der Wuchsformen und nicht zuletzt auch der Frostresistenz zu testen und die Ergebnisse für Anbauempfehlungen zu nutzen. Für die hier behandelten genetischen Erhebungen wurden Isoenzym-Genmarkern (Allozyme) eingesetzt. Diese Genmarker haben sich in der Vergangenheit vielfach bewährt. Es gibt daher in ausreichendem Umfang Referenzdaten, die sich auf Stieleichen und viele andere Waldbaumarten beziehen. Dies trifft für vergleichbare molekulargenetische Marker (DNA-Marker im Kerngenom) noch nicht zu.

DNA-Marker befinden sich in einer Phase intensiver Entwicklung und werden künftig für Belange der forstlichen Praxis zusätzlich in vielfältiger Weise genutzt werden können, wie insbesondere extranukleare DNA-Marker (Chloroplasten, Mitochondrien).

Isoenzyme weisen eindeutige Vorteile (i), aber auch einige Begrenzungen (ii) auf:

- (i) Isoenzyme werden in den meisten Fällen kodominant exprimiert (d.h. beide Elternanteile des jeweiligen Genorts kommen in gleicher Stärke und Wirkung zum Ausdruck, vgl. HATTEMER et al. 1993, Kap. 3.2), so dass homozygote und heterozygote Genotypen individuell eindeutig identifiziert werden können. Isoenzymanalysen sind unter Nutzung verschiedener Gewebe in der Regel einfach durchzuführen und für die Untersuchung großer Individuenzahlen geeignet.
- (ii) Isoenzyme beziehen sich notwendigerweise nur auf eine kleine, nicht-zufallsmäßige Stichprobe von Struktur-Genorten. Es können nur solche Nukleotidsubstitutionen in der DNA-Struktur nachgewiesen werden, welche in Form unterschiedlicher elektrophoretischer Mobilität der Enzymmoleküle in Erscheinung treten.

Ziel dieser Arbeit ist die genetische Charakterisierung der in den Versuchsanlagen Thiergarten und Landscheid repräsentierten Herkünfte der Stieleiche (*Quercus robur* L.) und die Erfassung ihrer genetischen Differenzierung. Zu diesem Zweck wurden Stichproben der vorhandenen 30 Provenienzen genetisch untersucht. Auf der Basis dieses Datenmaterials soll eine Quantifizierung der genetischen Variation innerhalb und zwischen Herkunftsstichproben vorgenommen werden.

2 Material und Methoden

Die Versuchsanlagen Landscheid und Thiergarten wurden 1992 in Form eines Blockversuchs mit jeweils drei Wiederholungen in randomisierter Anordnung der Provenienzen etabliert. Im Frühjahr und Herbst 1996 wurden von 30 Stieleichen-Herkünften (s. Tab. 1) Blattknospenproben beschafft. Die geographische Herkunft dieses Materials ist aus Abb. 1 ersichtlich. Bei der Beerntung wurden Parzellen mit den geringsten Ausfällen bevorzugt, um Unterschiede hinsichtlich der genetischen Zusammensetzung des Provenienzmaterials möglichst unverfälscht von selektiven Einflüssen am Anbauort nachweisen zu können. Die Ausfälle von 1992 bis 1996 betragen im Durchschnitt auf der Fläche Landscheid 6% (1-21% min-max) und 17% (1-49% min-max) auf der Fläche Thiergarten. Details zur Mortalitätsrate wie auch zum Wuchsverhalten in Frühstadium der Entwicklung sind bei MAURER et al. (2000) zu finden.

Tab. 1: Bezeichnung und Stichprobenumfänge der untersuchten Stieleichen-Herkünfte.
Origin and sample size of the pedunculate oak provenances under study.

| Original-Nummer | Anzahl Individuen | Herkunft (HK) |
|-----------------|-------------------|-------------------------------|
| 1 | 100 | Barlohe |
| 2 | 100 | Rendsburg |
| 3 | 100 | Bentheim |
| 4 | 100 | Stadtforst Lübeck |
| 5 | 100 | Eutin (SH) |
| 6 | 100 | Peine (Späteiche) |
| 7 | 100 | Steinfurt (L. Lintel) |
| 8 | 100 | Eitdorf (Graf Nesselrode) |
| 9 | 100 | Duingenwald |
| 10 | 100 | Walkenried |
| 11 | 100 | Plantage Berkel |
| 12 | 100 | Argenthal/Hunsrück |
| 13 | 100 | Burg Eltz (Späteiche) |
| 14 | 100 | Mutterstadt |
| 15 | 100 | Nidderau, Stadt Langenselbold |
| 16 | 100 | Wolfgang (Standard) |
| 17 | 100 | Wasserburg |
| 18 | 100 | Ebrach (Standard) |
| 19 | 100 | Schwerin (Gemisch) |
| 20 | 100 | Hagenow (Gemisch) |
| 21 | 100 | Menz |
| 22 | 100 | Zehdenik |
| 23 | 100 | Bremerberg (NL) |
| 24 | 100 | Elsendorp (NL) |
| 25 | 100 | Niederlande, Hauptgebiet III |
| 26 | 100 | Stadt Viersen |
| 27 | 100 | Hofgeismar |
| 28 | 100 | Mündersbach/ Westerwald |
| 29 | 100 | Hagenbach |
| 30 | 100 | Stadskanaal (NL) |

Jede Herkunft ist durch eine Stichprobe von 100 Individuen repräsentiert. Der Stichprobenumfang beträgt insgesamt 3.000 Individuen. Für jedes Individuum wurde mit Hilfe der Stärkegel-Elektrophorese dessen genotypische Struktur an 20 Genorten ermittelt [Verfahren sowie Nachweis der genetischen Kontrolle der Enzym-Genmarker siehe ZANETTO et al. (1996) und MÜLLER-STARCK et al. (1996)]. Die dazu verwendeten Enzymsysteme und die kodierenden Genorte sind in Tab. 2 aufgelistet.



Abb. 1: Geographische Lage der untersuchten 30 Stieleichen-Herkünfte.

Fig. 1: Geographical locations of the 30 pedunculate oak provenances under study.

Tab. 2: Zusammenstellung der untersuchten Enzymsysteme mit den kodierenden Enzym-Genorten.
A compilation of the enzyme systems and coding enzyme gene loci under study.

| <i>Enzymsystem (Abk./EC-Nummer)</i> | <i>Quartär- struktur</i> | <i>Genorte</i> |
|---|------------------------------|---------------------|
| Aspartataminotransferase (AAT/2.6.1.1) | dimer | AAT-B, AAT-C, AAT-D |
| Aconitase (ACO/4.2.1.3) | monomer | ACO-A |
| Alkoholdehydrogenase (ADH/1.1.1.1) | dimer | ADH-A |
| Aminopeptidase (AP/3.4.11.1) | monomer | AP-A, AP-B |
| Esterase (EST/3.1.1.1) | monomer | EST-A |
| Glutamatdehydrogenase (GDH/1.4.1.2) | polymer | GDH-A |
| Isocitratdehydrogenase (IDH/1.1.1.42) | dimer | IDH-A, IDH-B |
| Malatdehydrogenase (MDH/ 1.1.1.37) | dimer | MDH-B, MDH-C |
| Menadionreduktase (MNR/1.6.99.2) | tetramer | MNR-A |
| 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6PGDH/1.1.1.44) | dimer | 6PGDH-A, 6PGDH-B |
| Phosphoglucoseisomerase (PGI/5.3.1.9) | dimer | PGI-A, PGI-B |
| Phosphoglucomutase (PGM/2.7.5.1) | monomer | PGM-A |
| Shikimatdehydrogenase (SKDH/1.1.1.25) | monomer | SKDH-A |

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Genetische Variation innerhalb der Herkunftsstichproben

3.1.1 Heterozygotie

Die beobachtete Heterozygotie H_A (Heterozygotenanteil, "Heterozygotiegrad") kennzeichnet eine Kategorie von Genotypen, die an den jeweils betrachteten Genorten zwei verschiedene Allele aufweist (diploide Organismen), d.h. maximale individuelle genetische Vielfalt. Damit ist die Heterozygotie zugleich ein Variationsmaß, welches auf Individuen und auf Populationen bezogen werden kann. Hohe H_A -Werte lassen erwarten, daß die betreffenden Individuen bzw. Populationen breitere ökophysiologische Reaktionsmuster aufweisen und besonders im Falle komplexer Streßbedingungen eine größere Anpassungsfähigkeit zeigen (vgl. z.B. MÜLLER-STARCK 1993; ROTHE & BERGMANN 1995).

Die Werte für die beobachteten mittleren Heterozygotenanteile variieren zwischen 21% (Herkunft 19, Schwerin) und 30% (Herkunft 9, Duingerwald). Das Gesamtmittel der 30 Proben beträgt 25%. Die Werte für die einzelnen Genorte und die Gesamtmittel der Herkunftsstichproben sind in Tab. 4 zusammengestellt. Im Vergleich zu anderen Inventuren (s. Tab. 3) liegen diese Werte etwas über

dem Durchschnitt der bisher mit vergleichbaren Markern in Europa für Stiel- und Traubeneichen-Kollektive nachgewiesenen Werte. Lediglich die z.Z. durchgeführte Inventur in bayerischen Saatgut-Erntebeständen weist einen geringfügig höheren Heterozygotenanteil auf ($H_A=28\%$; STREHLE & MÜLLER-STARCK, unveröffentlicht). Die extrem niedrigen Werte einer Inventur in Ostösterreich gehen auf die außergewöhnlich geringe Anzahl Allele zurück (Fixierung an der Mehrzahl der untersuchten Genorte). Hierbei können methodische Probleme nicht ausgeschlossen werden. Diese Studie bezieht sich zudem auf sehr kleine Stichprobenumfänge (maximal 25 Individuen pro Population).

Tab. 3: Genetische Variation in Eichenpopulationen in Europa im Vergleich zu den Ergebnissen der gegenwärtigen Inventur (H_a = Heterozygotiegrad; A_L = Anzahl Allele pro Genort).

Genetic variation as found in European oak populations compared to the results of this inventory (H_a = degree of heterozygosity; A_L = number of alleles per gene locus).

| Eichenart Referenz (geographischer Bereich) | A n z a h l | | | | |
|--|-------------------|-----------------|--------------|--------------------|-------------------|
| | Popula- tionen | Indi- viduen | Gen- orte | H_a (%) | A_L |
| <i>Quercus robur L.</i> | | | | | |
| MÜLLER-STARCK/ZIEHE 1991 (Deutschland) | 5 | 830 | 13 | 21,3 | 3,2 |
| ZANETTO <i>et al.</i> 1994 (Europa) | 7 | 808 | 13 | 18,4 | 2,7 |
| SAMUEL <i>et al.</i> 1995 (Österreich) | 6 | 226 | 14 | 4,7 | 1,4 |
| HERTEL/ZASPEL 1996 (Brandenburg) | 6 | 262 | 11 | 24,5 | 3,7 |
| HERZOG/KRABEL 1996 (Nordrh. - Westfalen) | 2 | 191 | 7 | 25,3 | 3,2 |
| STREHLE/MÜLLER-STARCK, unveröff.(Bayern) | 27 | 2.700 | 17 | 28,0 | 4,1 |
| Gegenwärtige Untersuchung | 30 | 3.000 | 20 | 25,0 | 4,1 |
| <i>Quercus petraea MATT. (LIEBL.)</i> | | | | | |
| KREMER <i>et al.</i> 1991 (Frankreich) | 32 | 3.840 | 15 | 27,5 ¹⁾ | 3,2 |
| MÜLLER-STARCK/ZIEHE 1991 (Deutschland) | 5 | 775 | 13 | 21,9 | 3,1 |
| HERZOG/MÜLLER-STARCK 1993 (Europa) | 9 | 700 | 7 | 22,9 | 3,1 ²⁾ |
| ZANETTO <i>et al.</i> 1994 (Europa) | 7 | 855 | 13 | 22,2 | 2,7 |
| SAMUEL <i>et al.</i> 1995 (Österreich) | 8 | 308 | 14 | 5,5 | 1,4 |
| ZANETTO/KREMER 1995 (Europa) | 81 | 9.720 | 13 | 22,8 | 2,6 |
| HERTEL/ZASPEL 1996 (Brandenburg) | 4 | 118 | 11 | 24,5 | 3,4 |
| JÜNGER 1997 (Bayern) | 7 | 802 | 17 | 21,9 | 4,0 |

¹⁾ erwartete Heterozygotie H_e ; ²⁾ pers. Mitteilung

Die hier für die Stieleiche nachgewiesenen Heterozygotenanteile sind nahezu identisch mit den Werten für die Buche (*Fagus sylvatica L.*), die auch zu den Baumarten mit großem und kontinuierlichem Verbreitungsgebiet zählt. Ein Vergleich der Informationen aus genetischen Inventuren in Europa (300 Populationen mit annähernd 15.000 Individuen) erbrachte durchschnittliche Heterozygotenanteile von 27,5% (MÜLLER-STARCK 1991).

3.1.2 Genetische Vielfalt

Dieser Parameter ist eine wichtige Eingangsgröße für die Beurteilung der in einer Population realisierten genetischen Variation. Im Gegensatz zur Diversität (s. Abschnitt 2.1.3) fehlt jedoch die Berücksichtigung der Häufigkeiten der genetischen Typen (Allele, Genotypen). Genetische Vielfalt ist daher eine Basisinformation, die unter dem Aspekt der Verlustwahrscheinlichkeit zusammen mit der genetischen Diversität betrachtet werden muss.

Tab. 5 ist zu entnehmen, daß die Mittelwerte der Stichproben zwischen 3,6 und 4,7 Allelen pro Genort variieren (Herkünfte 23/Bremerberg bzw. 22/Zehdenik). Das Gesamtmittel über alle Stichproben beträgt 4,1. Hinter diesen Werten verbirgt sich eine sehr große genetische Variabilität, d.h. Potential zur Erzeugung genetischer Variation (s. Abschnitt 2.1.3).

Die hohe mittlere Anzahl von Allelen pro Genort ist ein auffallendes Merkmal des überprüften Herkunftsversuches im Vergleich zu anderen Inventurergebnissen (s. Tab. 3). Dieser Wert wird nur von den Ergebnissen der z.Z. durchgeführten Inventur in bayerischen Saatgut-Erntebeständen der Stieleiche übertroffen ($A_L = 4,5$; STREHLE & MÜLLER-STARCK, unveröff.). Vor allem die Werte der großräumigen Inventuren liegen überraschend deutlich unterhalb des in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesenen Mittelwertes von $A_L = 4,1$. Hierzu könnte die Auswahl der Genorte beigetragen haben, obwohl der größte Teil der Genorte allen Untersuchungen gemeinsam ist. Die extrem niedrigen Werte einer Inventur in Ostösterreich gehen auf die außergewöhnlich geringe Anzahl Allele zurück (Fixierung an der Mehrzahl der untersuchten Genorte). Aus den oben genannten Gründen (s. Abschnitt 2.1.1) kann diese Untersuchung nicht als repräsentativ eingestuft werden.

Die für die Stieleiche nachgewiesenen A_L -Werte liegen deutlich über den Werten für die Buche (*Fagus sylvatica* L.). In den genetischen Inventuren in Europa (300 Populationen mit annähernd 15.000 Individuen) betragen die A_L -Werte durchschnittlich 2,4 (MÜLLER-STARCK 1991).

3.1.3 Genetische Diversität

Genetische Diversität ist eine mit den Häufigkeiten der genetischen Typen (Allele oder Genotypen) gewogene genetische Vielfalt. Die Diversität nach GREGORIUS (1978) hat einen Mindestwert von $v = 1$, wenn nur ein genetischer Typ an einem Genlocus existiert (Fixierung) und ist gleich der Anzahl genetischer Typen (genetische Vielfalt), wenn diese gleich verteilt sind.

Tab. 4: Beobachtete Heterozygotenanteile für 20 Genorte für die 30 untersuchten Stieleichenherkünfte.

Observed heterozygosities of the 20 gene loci as determined for the 30 pedunculate oak provenance samples under study.

| Herkunft | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | Bereich | |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|---------|--|
| AAT-B | .30 | .01 | .15 | .07 | .08 | .14 | .17 | .06 | .18 | .09 | .15 | .11 | .28 | .03 | .23 | .18 | .03 | .03 | .13 | .10 | .13 | .06 | .03 | .05 | .13 | .29 | .35 | .09 | .11 | .05 | .01-.35 | |
| AAT-C | .31 | .22 | .23 | .14 | .22 | .26 | .24 | .11 | .17 | .23 | .09 | .27 | .19 | .10 | .24 | .14 | .16 | .12 | .23 | .21 | .14 | .20 | .09 | .18 | .35 | .27 | .17 | .31 | .16 | .34 | .09-.35 | |
| AAT-D | .09 | .10 | .14 | .04 | .12 | .14 | .06 | .00 | .17 | .11 | .03 | .09 | .14 | .15 | .12 | .19 | .10 | .03 | .14 | .06 | .08 | .20 | .00 | .03 | .24 | .34 | .11 | .25 | .15 | .19 | 0-34 | |
| ACO-A | .49 | .40 | .52 | .45 | .36 | .51 | .57 | .50 | .75 | .39 | .41 | .58 | .52 | .54 | .59 | .51 | .45 | .40 | .53 | .47 | .47 | .40 | .59 | .36 | .57 | .52 | .57 | .50 | .55 | .47 | .36-.75 | |
| AP-A | .29 | .37 | .50 | .40 | .26 | .41 | .31 | .47 | .68 | .37 | .44 | .46 | .40 | .39 | .39 | .38 | .37 | .39 | .20 | .38 | .26 | .34 | .30 | .44 | .42 | .32 | .48 | .57 | .46 | .26-.68 | | |
| AP-B | .36 | .43 | .63 | .43 | .41 | .59 | .43 | .54 | .75 | .53 | .63 | .44 | .53 | .37 | .52 | .51 | .43 | .49 | .29 | .37 | .24 | .43 | .57 | .45 | .53 | .52 | .43 | .51 | .61 | .51 | .24-.75 | |
| ADH-A | .12 | .41 | .28 | .73 | .42 | .64 | .39 | .40 | .29 | .39 | .31 | .17 | .26 | .34 | .22 | .26 | .38 | .50 | .23 | .35 | .31 | .26 | .45 | .49 | .20 | .14 | .30 | .32 | .27 | .45 | .12-.73 | |
| EST-A | .25 | .42 | .34 | .47 | .38 | .36 | .78 | .52 | .43 | .26 | .50 | .35 | .63 | .30 | .58 | .34 | .31 | .47 | .45 | .43 | .36 | .25 | .48 | .30 | .45 | .15 | .52 | .33 | .33 | .33 | .15-.78 | |
| GDH-A | .45 | .29 | .51 | .38 | .41 | .26 | .43 | .26 | .53 | .68 | .35 | .40 | .40 | .32 | .52 | .56 | .44 | .28 | .50 | .30 | .30 | .43 | .32 | .37 | .50 | .35 | .58 | .31 | .58 | .44 | .26-.68 | |
| IDH-A | .29 | .32 | .51 | .33 | .54 | .40 | .45 | .24 | .62 | .57 | .29 | .36 | .51 | .37 | .48 | .39 | .42 | .26 | .33 | .39 | .34 | .40 | .35 | .40 | .45 | .40 | .38 | .18 | .48 | .32 | .18-.62 | |
| IDH-B | .42 | .37 | .43 | .37 | .65 | .47 | .31 | .38 | .29 | .41 | .44 | .39 | .32 | .48 | .54 | .50 | .44 | .41 | .41 | .45 | .44 | .46 | .27 | .37 | .33 | .59 | .34 | .42 | .36 | .43 | .27-.65 | |
| MDH-B | .06 | .01 | .06 | .00 | .05 | .04 | .00 | .05 | .08 | .13 | .02 | .06 | .01 | .00 | .08 | .11 | .02 | .00 | .12 | .01 | .02 | .07 | .00 | .02 | .15 | .11 | .14 | .11 | .20 | .07 | 0-20 | |
| MDH-C | .11 | .04 | .04 | .01 | .00 | .07 | .09 | .04 | .06 | .12 | .06 | .02 | .05 | .06 | .06 | .16 | .04 | .04 | .07 | .02 | .02 | .06 | .01 | .11 | .10 | .12 | .17 | .07 | .17 | .07 | .01-.17 | |
| MNR-A | .06 | .09 | .02 | .17 | .11 | .08 | .08 | .15 | .07 | .00 | .01 | .20 | .04 | .08 | .03 | .00 | .22 | .15 | .03 | .13 | .14 | .20 | .13 | .24 | .08 | .07 | .09 | .08 | .06 | .13 | 0-24 | |
| 6PGD-B | .02 | .01 | .26 | .00 | .14 | .11 | .15 | .05 | .10 | .15 | .04 | .05 | .01 | .07 | .05 | .07 | .10 | .03 | .02 | .05 | .06 | .10 | .00 | .06 | .06 | .03 | .05 | .10 | .29 | .10 | 0-29 | |
| 6PGD-C | .10 | .05 | .24 | .17 | .01 | .05 | .21 | .22 | .09 | .06 | .05 | .14 | .08 | .02 | .12 | .11 | .03 | .04 | .16 | .15 | .13 | .15 | .17 | .06 | .06 | .13 | .04 | .20 | .19 | .10 | .01-.24 | |
| PGI-A | .16 | .03 | .08 | .01 | .01 | .00 | .00 | .01 | .02 | .10 | .14 | .00 | .00 | .14 | .03 | .11 | .06 | .14 | .01 | .00 | .07 | .05 | .05 | .04 | .10 | .01 | .02 | .01 | .00 | .00 | 0-14 | |
| PGI-B | .27 | .21 | .12 | .17 | .11 | .17 | .27 | .19 | .11 | .20 | .33 | .17 | .22 | .19 | .25 | .34 | .12 | .19 | .08 | .15 | .19 | .17 | .20 | .26 | .24 | .11 | .17 | .15 | .16 | .16 | .11-.34 | |
| PGM-A | .32 | .46 | .39 | .57 | .59 | .52 | .50 | .53 | .48 | .38 | .56 | .38 | .48 | .53 | .53 | .38 | .49 | .38 | .30 | .48 | .56 | .55 | .57 | .42 | .38 | .43 | .20 | .47 | .36 | .20-.59 | | |
| SKDH-A | .32 | .00 | .06 | .10 | .04 | .07 | .19 | .07 | .18 | .08 | .01 | .13 | .04 | .10 | .04 | .17 | .10 | .07 | .04 | .04 | .05 | .13 | .06 | .08 | .11 | .18 | .16 | .17 | .10 | .17 | 0-32 | |
| Mittel | .24 | .21 | .28 | .25 | .25 | .26 | .28 | .24 | .30 | .26 | .24 | .24 | .26 | .23 | .28 | .27 | .24 | .22 | .21 | .23 | .22 | .25 | .23 | .23 | .27 | .26 | .26 | .25 | .29 | .26 | .25 | |

Tab. 5: Zusammenstellung der an 20 Genorten nachgewiesenen Anzahl von Allelen für die 30 untersuchten Stieleichenherkünfte (genetische/alleleische Vielfalt).
An overview of the number of alleles as identified at the 20 gene loci for the 30 sessile oak provenance samples under study (genic / allelic multiplicity).

| Herkunft | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | Bereich |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|
| AAT-B | 4 | 3 | 3 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 4 | 3 | 2 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2-5 |
| AAT-C | 7 | 6 | 7 | 8 | 6 | 7 | 6 | 5 | 6 | 8 | 6 | 6 | 8 | 5 | 6 | 8 | 5 | 5 | 7 | 5 | 5 | 7 | 5 | 6 | 7 | 6 | 7 | 5 | 6 | 5-8 | |
| AAT-D | 6 | 4 | 3 | 5 | 6 | 6 | 3 | 2 | 3 | 5 | 3 | 5 | 3 | 5 | 5 | 7 | 4 | 6 | 7 | 7 | 5 | 2 | 4 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4 | 2-7 | | |
| ACO-A | 4 | 5 | 4 | 5 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3-5 | |
| AP-A | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3-5 | |
| AP-B | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 4-5 | |
| ADH-A | 4 | 5 | 6 | 5 | 3 | 4 | 5 | 7 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 7 | 7 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 5 | 3-7 |
| EST-A | 6 | 5 | 4 | 6 | 5 | 5 | 6 | 5 | 5 | 4 | 5 | 6 | 5 | 5 | 5 | 6 | 5 | 6 | 6 | 6 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 | 6 | 5 | 6 | 5 | 4-6 | |
| GDH-A | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3-5 | |
| IDH-A | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3-5 |
| IDH-B | 4 | 2 | 5 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 5 | 3 | 3 | 2 | 4 | 5 | 4 | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 5 | 3 | 3 | 4 | 4 | 2-5 | |
| MDH-B | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1-4 | |
| MDH-C | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 4 | 3 | 3 | 5 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1-5 | |
| MNR-A | 5 | 6 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 4 | 2 | 2 | 5 | 6 | 5 | 3 | 2 | 8 | 6 | 4 | 7 | 7 | 5 | 8 | 5 | 4 | 4 | 5 | 3 | 5 | 2-8 | |
| 6PGD-B | 3 | 2 | 4 | 1 | 5 | 3 | 5 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 5 | 3 | 3 | 4 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 3 | 2 | 2 | 4 | 4 | 3 | 1-5 | |
| 6PGD-C | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2-4 | |
| PGI-A | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1-4 | |
| PGI-B | 3 | 7 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5 | 7 | 5 | 5 | 2 | 3 | 5 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 5 | 4 | 6 | 6 | 7 | 5 | 7 | 4 | 3 | 5 | 5 | 4 | 2-7 |
| PGM-A | 6 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 6 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 3-6 | |
| SKDH-A | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 5 | 3 | 2 | 3 | 3 | 5 | 2 | 3 | 3 | 5 | 3 | 4 | 4 | 2-5 | |
| Mittel | 4,2 | 4,0 | 4,1 | 4,1 | 4,1 | 4,2 | 4,3 | 4,3 | 4,1 | 3,8 | 3,7 | 4,1 | 4,2 | 4,0 | 4,2 | 4,2 | 4,6 | 3,7 | 4,1 | 4,2 | 4,4 | 4,7 | 3,6 | 4,1 | 4,2 | 4,2 | 4,0 | 4,1 | 4,1 | 3,9 | 4,1 |

In Waldbaumpopulationen treten häufig starke Abweichungen von einer solchen Gleichverteilung auf, wobei einzelne genetische Typen in ihrer Häufigkeit eindeutig dominieren ("Minorpolymorphismus"). Im Vergleich dazu sind geringe Abweichungen von der Gleichverteilung genetischer Typen selten ("Majorpolymorphismus").

Genetische Diversität ist ein wichtiges Element der genetischen Variabilität, d.h. des Potentials einer Population, genetische Variation zu erzeugen und dadurch wichtige Voraussetzungen für Anpassung und Überleben zu schaffen. Für Waldbaumpopulationen ist große genetische Variabilität eine unverzichtbare Bedingung für das Überleben unter sehr heterogenen und nicht konkret vorhersehbaren Umweltverhältnissen. Dies gilt vor allem für die einheimischen Eichenarten, die aufgrund ihrer hohen natürlichen Lebensdauer und den extrem langen forstlichen Bewirtschaftungszeiträumen mit einer besonders hohen Komplexität der Umweltverhältnisse konfrontiert sind.

Als Beispiel für die Variabilität der hier untersuchten Herkunftsstichproben sind in Abb. 2 zwei Multilocus-Diversitäten dargestellt, die aus den Diversitäten der untersuchten 20 Genorte berechnet wurden. Im vorliegenden Fall handelt es sich um ein Diversitätsmaß, welches "hypothetische gametische Multilocus-Diversität" genannt wird (v_{gam} ; GREGORIUS et al. 1985). Dieses Maß bezieht sich auf Allele und quantifiziert das Potential der jeweiligen Stichproben, genetisch verschiedenartige Gameten bilden zu können. Die Werte entstehen durch Multiplikation der auf Allele bezogenen Einzellocus-Diversitäten und sind gleich der Anzahl von Gameten, die mit Bezug auf 20 Genorte bildbar sind. Diese Art der Quantifizierung trägt dem Sachverhalt Rechnung, daß die Anpassungsfähigkeit von Populationen ganz entscheidend von ihrem Potential abhängt, genetisch verschiedenartige Gameten hervorzubringen und damit genetisch heterogenes forstliches Vermehrungsgut für die nächste Generation bereitzustellen.

Die Stichproben weisen erhebliche Unterschiede hinsichtlich der v_{gam} -Werte auf. Die größten Werte werden von den Proben HK-Nr. 25/Niederlande III und HK-Nr. 7/Steinfurt ($v_{gam} = 22.839$ bzw. 19.227) erreicht, die niedrigsten Werte zeigen die Proben HK-Nr. 19/Schwerin und HK-Nr. 23/Bremerberg ($v_{gam} = 2.492$ bzw. 2.740). Die Relation von Minimum zu Maximum beträgt 1 : 9,2.

Die für die Stieleiche nachgewiesenen A_L -Werte liegen deutlich über den Werten für die Buche (*Fagus sylvatica* L.). In den genetischen Inventuren in Europa (300 Populationen mit annähernd 15.000 Individuen) betragen die A_L -Werte durchschnittlich 2,4 (MÜLLER-STARCK 1991).

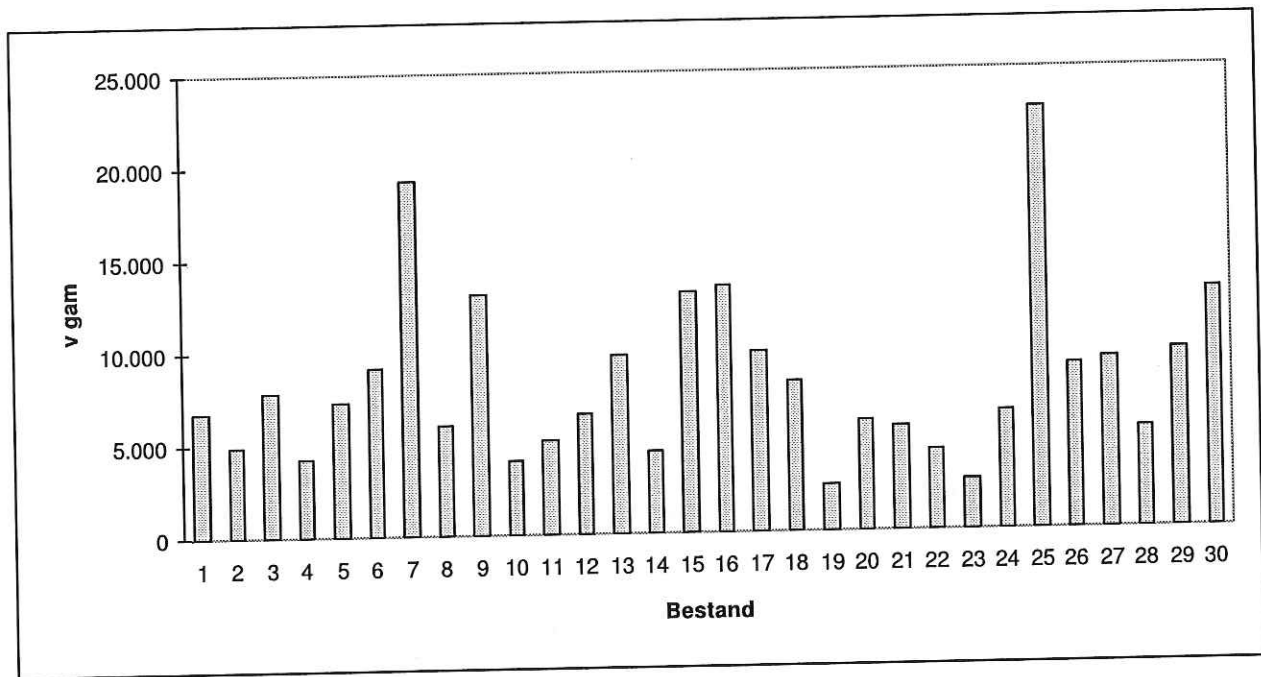


Abb. 2: Hypothetische gametische Multilocus-Diversität (v_{gam}) für die 30 untersuchten Stieleichen-Herkünfte.
Fig. 2: Hypothetical gametic multilocus diversity (v_{gam}) for the 30 pedunculate oak provenances studied.

Bei Berücksichtigung der geographischen Herkunft der Stichproben (s. Abb. 1) zeigen sich keine offensichtlichen Trends. Mit Ausnahme von HK-Nr. 24/Elsendorp gibt es im westlichen Bereich etwas häufiger Proben mit hohen v_{gam} -Werten (z.B. HK-Nr. 25/Niederlande III, HK-Nr. 7/Steinfurt, HK-Nr. 30/Stadskanaal). Auffallend ist, daß beide Gemische (HK-Nr. 19/Schwerin und HK-Nr. 20/Hagenow) weit unterdurchschnittliche v_{gam} -Werte zeigen.

3.2 Genetische Variation zwischen den Herkunftsstichproben

3.2.1 Genetische Differenzierung

Wie auch bei anderen Baumarten mit kontinuierlichem Verbreitungsgebiet (z.B. Buche) sind die genetischen Unterschiede zwischen den Stieleichenproben weniger stark ausgeprägt als die genetische Differenzierung innerhalb der Proben. Die nachweisbaren Unterschiede zwischen den Proben betreffen mehrere Genorten. In den Abb. 3a — 3c ist die genetische Differenzierung zwischen den 30 Herkunftsstichproben exemplarisch für 10 verschiedene Genorte sowie den Genpool (Gesamtheit von 20 Genorten) dargestellt.

Die Berechnungen basieren auf dem Konzept von GREGORIUS & ROBERDS (1986). In jeder Graphik gibt der Radius die jeweilige mittlere Differenzierung an, während die Kreissegmente die

Differenzierung der einzelnen Proben im Vergleich zu der aus allen anderen Proben bestehenden Komplementpopulation darstellen. Je länger die Radien der Kreissegmente sind, um so stärker unterscheidet sich eine Probe von dem zusammengefassten Restkollektiv. Kreissegmente, die nahe dem Zentrum liegen, zeigen eine geringe Differenzierung, d.h., sie enthalten einen überdurchschnittlich großen Teil der genetischen Gesamtinformation. Die angegebene Skalierung ist gleich dem Anteil der probenspezifischen Allele.

Der Graphik für den Genpool (s. Abb. 3c) ist zu entnehmen, daß die HK-Nr. 18/Ebrach mit einigem Abstand die insgesamt größte Differenzierung zeigt. Dieses Ergebnis ist bemerkenswert, weil HK-Nr. 18 als Standard für die Vergleichsprüfung verwendet wird. Dies erscheint aus der vorliegenden genetischen Ergebnissicht nicht sinnvoll, weil diese Probe - mehr als alle anderen - spezifische genetische Information enthält, und damit die geringste Repräsentanz für das gesamte Versuchsmaterial aufweist. Das Gegenteil trifft für die Proben zu, die im Zentrum der Genpool-Graphik liegen. Dies gilt vor allem für die HK-Nr. 21/Menz. Zum Verständnis sei angemerkt, dass als Standards phänotypisch durchschnittliche Bestände administrativ ausgewiesen werden (ANONYMUS 1979).

Die auf einzelne Genorte bezogenen Graphiken demonstrieren Unterschiede, die mit spezifischen Selektionsbedingungen an diesen Genorten zusammenhängen. Die Betrachtung einzelner Genorte oder ausgewählter Kombinationen erlaubt eine schrittweise Unterscheidung zwischen den einzelnen Stichproben. So zeigt die HK-Nr. 27/Hofgeismar am Genort AAT-B und die HK-Nr. 18/Ebrach an den Genorten AAT-C, AP-A, AP-B eine starke Differenzierung gegenüber dem jeweiligen Restkollektiv (s. Abb. 3a). Ähnliches gilt für die Proben HK-Nr. 11/Plantage Berkel für EST-A, die HK-Nr. 5/Eutin für IDH-A sowie die HK-Nr. 12/Argenthal für PGM-A (s. Abb. 3b und Abb. 3c). Kombinationen von Genorten können bewirken, daß die in der Einzellocus-Betrachtung wenig auffälligen Proben sich dennoch vom Restkollektiv unterscheiden lassen. Dies gilt vor z.B. für die Probe HK-Nr. 26/Stadt Viersen in der Kombination AAT-B und IDH-B oder für die HK-Nr. 28/Mündersbach in der Kombination AAT-C und IDH-B.

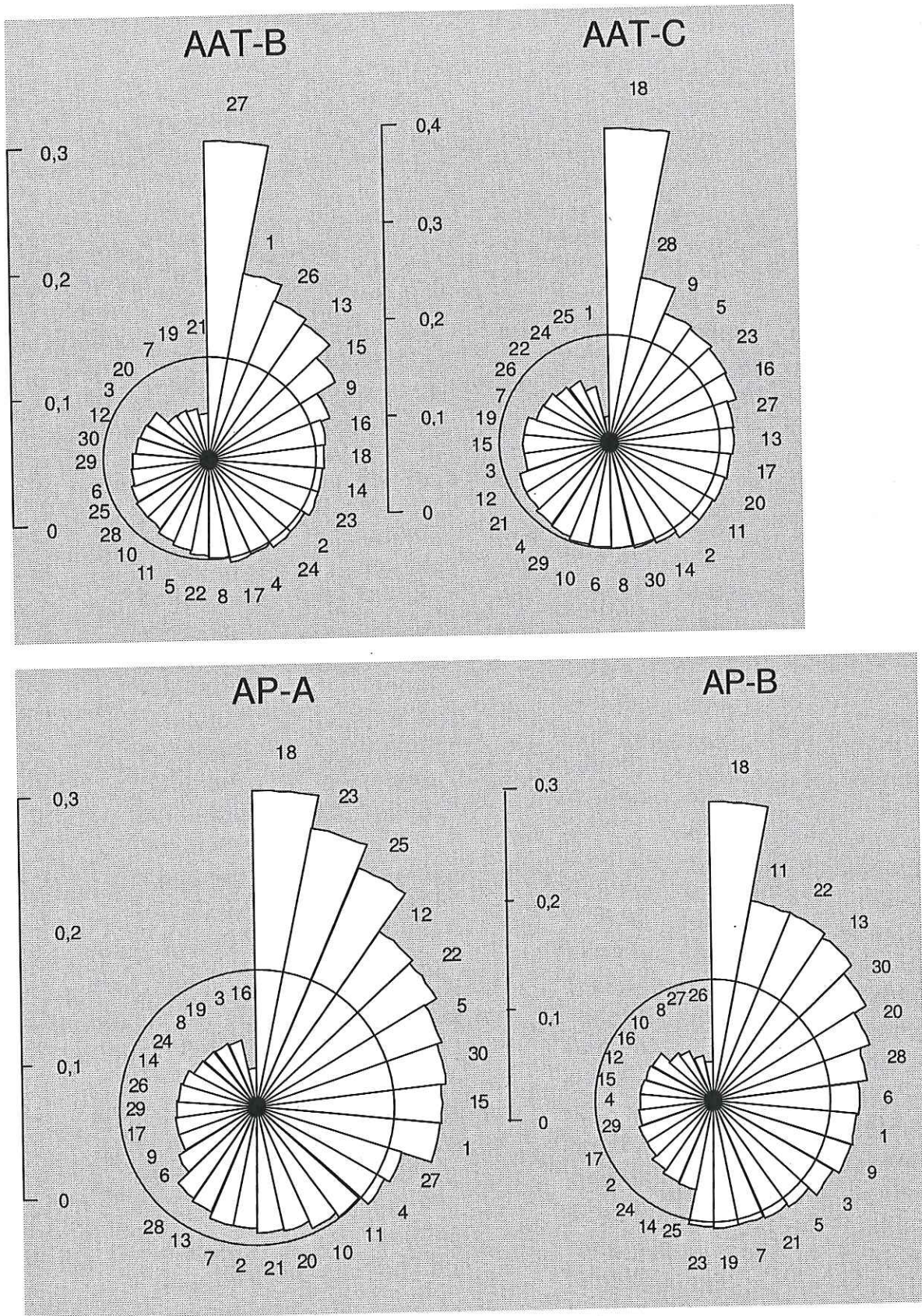


Abb. 3a: Genetische Differenzierung für die 30 untersuchten Stieleichen-Herkünfte an den Genorten AAT-B, AAT-C, AP-A und AP-B.

Fig. 3a: Genetic differentiation for the 30 pedunculate oak provenances studied at the gene loci AAT-B, AAT-C, AP-A and AP-B.

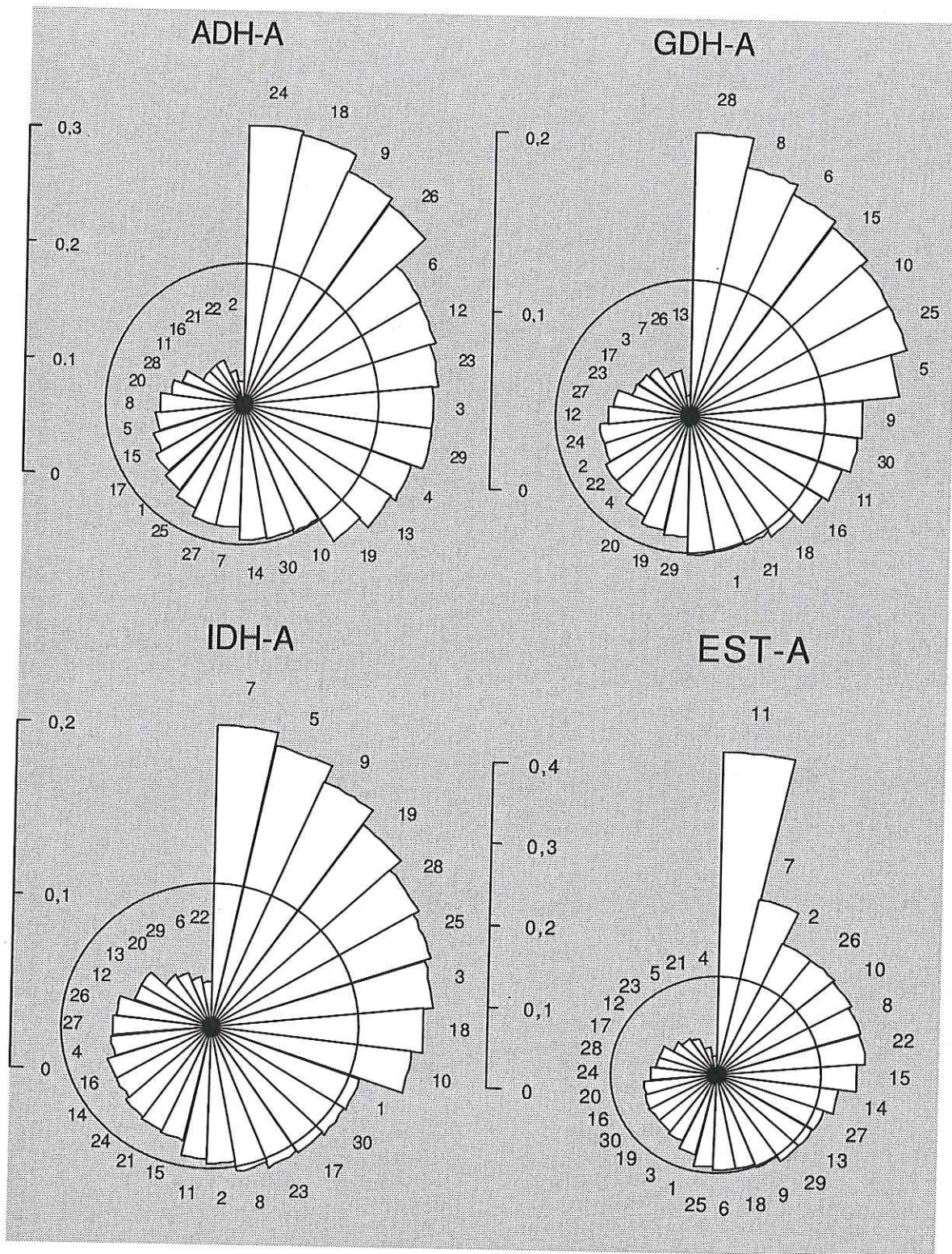


Abb. 3b: Genetische Differenzierung für die 30 untersuchten Stieleichen-Herkünfte an den Genorten ADH-A, GDH-A, IDH-A und EST-B.

Fig. 3b: Genetic differentiation for the 30 pedunculate oak provenances at the gene loci ADH-A, GDH-A, IDH-A, and EST-B.

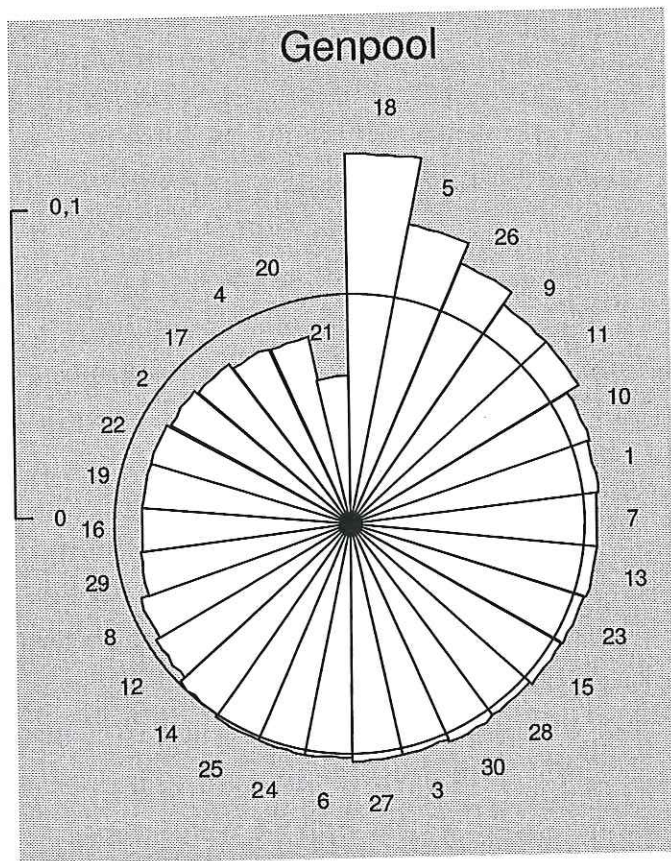
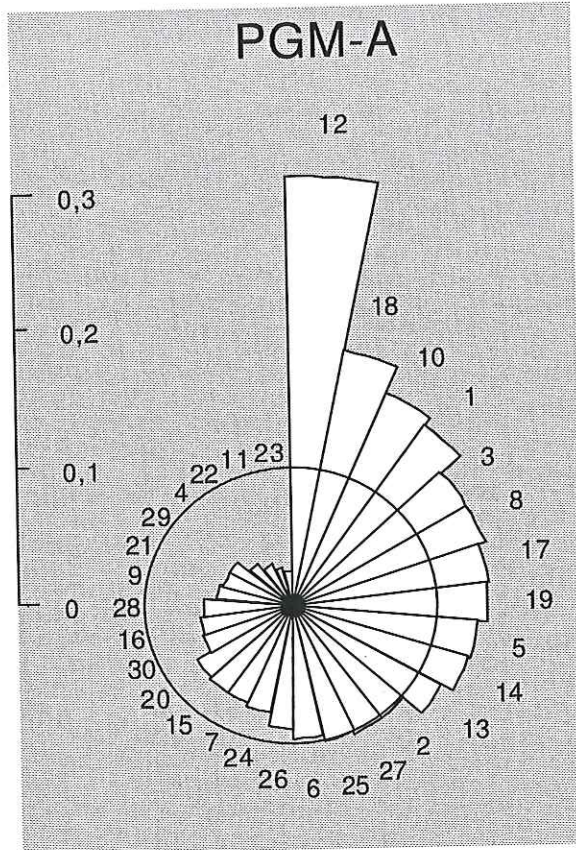
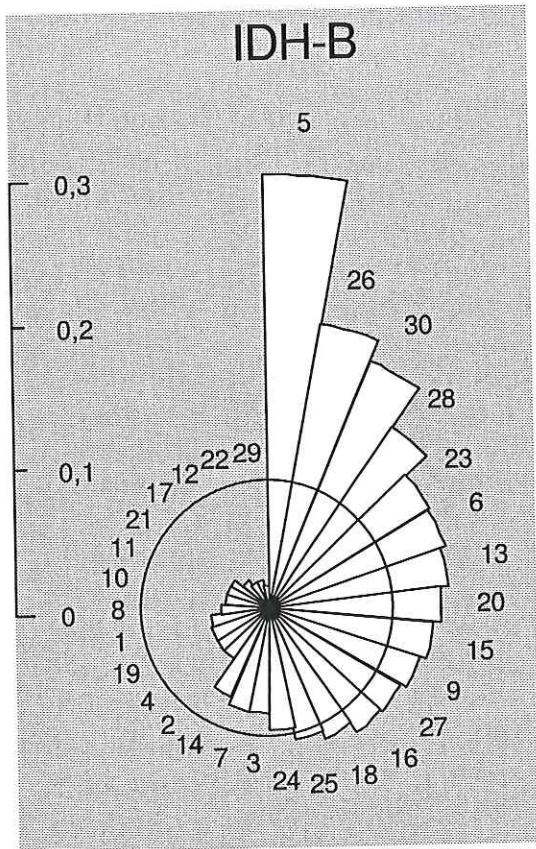


Abb. 3c: Genetische Differenzierung für die 30 untersuchten Stieleichen-Herkünfte an den Genorten IDH-B, PGM-A und für den Genpool (20 Genorte).

Fig. 3c: Genetic differentiation for the 30 pedunculate oak provenances studied at the gene loci IDH-B, PGM-A and for the gene pool (20 gene loci).

3.2.2 Quantifizierung genetischer Abstände im Rahmen eines Dendrogramms

In Abb. 4 sind die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den 30 Stichproben in Form eines Dendrogramms dargestellt. Berechnungsgrundlage sind die genetischen Abstände nach GREGORIUS (1974); vgl. hierzu Tab. 6 im Anhang.

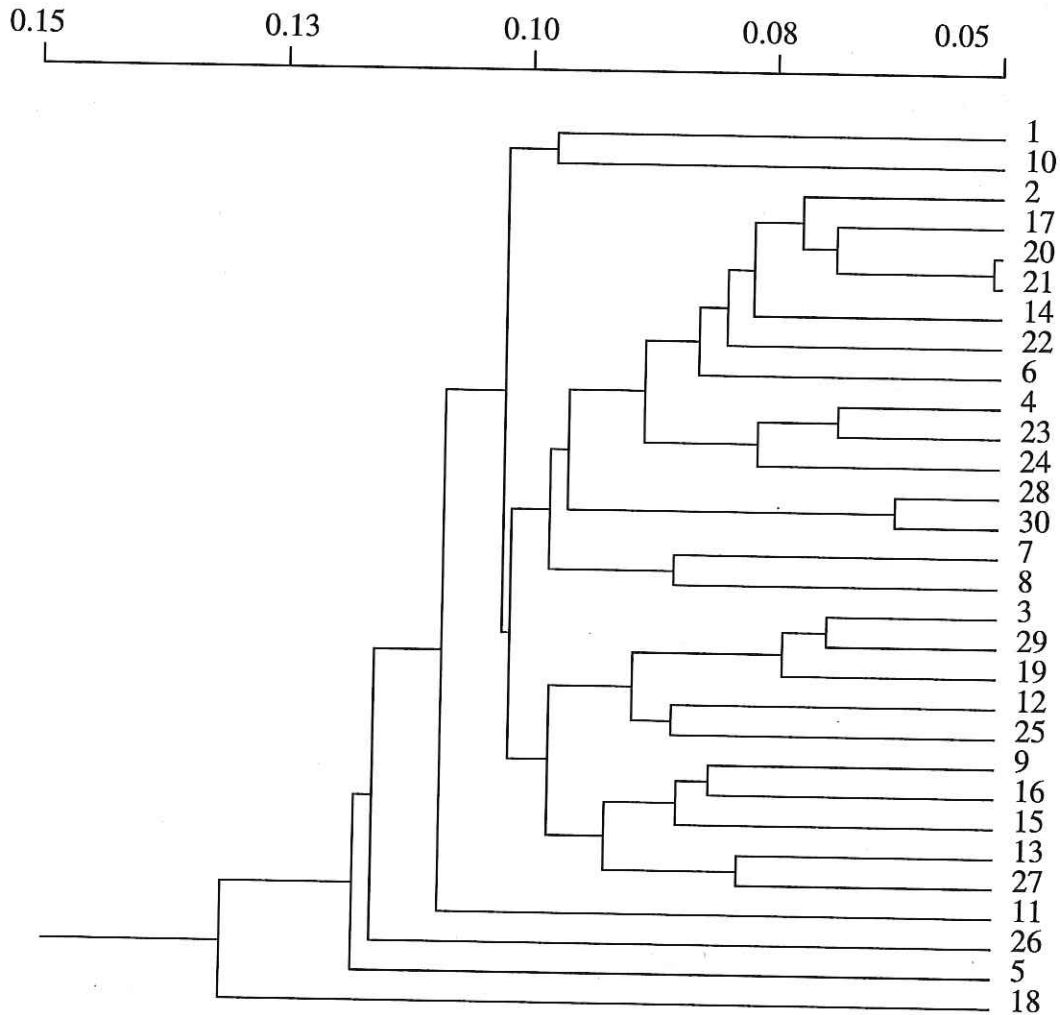


Abb. 4: Dendrogramm für den Genpool (20 Genorte) der 30 untersuchten Stieleichen-Herkünfte auf der Basis der genetischen (allelischen) Abstände.

Fig. 4: Dendrogram calculated for the gene pool (20 gene loci) of the 30 pedunculate oak provenances on the base of the genic (allelic) distances.

Das Dendrogramm zeigt eine Reihe von Gruppierungen, die um so aussagefähiger sind, je mehr die Werte der genetischen Abstände ansteigen (s. Skalierung). Werte um 0,1 und darüber weisen bereits auf deutliche genetische Unterschiede zwischen den jeweiligen Gruppen oder Einzelproben hin.

Das auf den Genpool bezogene Dendrogramm zeigt keine eindeutige Strukturierung nach geographischen Gesichtspunkten. Dennoch sind einige Trends erkennbar. So stammen die im oberen Teil des Dendrogramms gruppierten Proben HK-Nr. 2, 20, 21, 22 und 4 alle aus Norddeutschland, während die Proben HK-Nr. 12, 16, 15 und 13 (s. unterer Teil des Dendrogramms) aus dem

südwestlichen Teil kommen. Diese Informationen können u.U. durch Auswahl bestimmter Genorte noch verdichtet werden.

4 Schlussbemerkungen

Die Ergebnisse zeigen sehr deutlich, daß die Stichproben aus einem Provenienzversuch der Stieleiche eine sehr große genetische Variation innerhalb der Herkünfte aufweisen. Dies gilt auch im Vergleich zu den bisherigen genetischen Inventuren in Deutschland und anderen europäischen Ländern. Die Gewinnung des im Herkunftsversuch repräsentierten Materials war offensichtlich nicht mit einer Einschränkung der genetischen Variation verbunden.

Auffallend ist auch die vergleichsweise geringe Differenzierung zwischen den Herkünften. Dies muß als ein Charakteristikum von kontinuierlich verbreiteten Baumarten in Kombination mit effektivem Genfluß angesehen werden. Ähnliche Trends zeigen die Ergebnisse zahlreicher genetischer Erhebungen in europäischen Buchenbeständen.

Trotz der relativ geringen genetischen Variation zwischen den Herkunftsstichproben unterscheiden sich einzelne Proben deutlich von dem jeweils gepoolten Restkollektiv. Detailstudien in Zusammenarbeit mit der FAWF Rheinland-Pfalz ermöglichen sehr wahrscheinlich noch weitergehende Differenzierungen. Es steht bereits fest, daß einige Proben - darunter auch eine als Standard fungierende Herkunftsstichprobe - sich deutlich vom Restkollektiv unterscheiden und daher eine geringe Repräsentativität aufweisen. Dies eröffnet Möglichkeiten der Identifizierung solcher Proben. Andere Proben enthalten einen so großen Teil der genetischen Information des Gesamtmaterials, daß eine Unterscheidbarkeit nicht zu erwarten ist. Diese Herkunftsstichproben sind wertvolle Träger eines repräsentativen Teils der insgesamt erfaßten genetischen Variation.

Bei der genetischen Charakterisierung der Proben fallen besonders die großen Unterschiede zwischen den Multilocus-Diversitäten (bezogen auf das Potential zur Erzeugung genetisch unterschiedlicher Gameten) der einzelnen Herkunftsstichproben auf. Die Differenz von Maximum zum Minimum entspricht einem Zuwachs von über 800%. Diese Dimension verdeutlicht, daß Populationen über ein sehr unterschiedliches Potential zur Erzeugung genetischer Variation und damit zur Anpassung an heterogene Umweltverhältnisse verfügen.

Danksagung

Herrn Gerd Maack danken wir für die professionelle Durchführung der Laboranalysen ebenso wie Frau Eliane Röschter für ihre sehr effektive Hilfe bei der Zusammenstellung von Daten und der Erstellung der Graphiken. Dieses Projekt wurde aus Mitteln der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz im Rahmen des Forschungsauftrags „*Isoenzymatische Untersuchungen an ausgewählten Herkünften von Stieleiche (*Quercus robur* L.) zwecks genetischer Inventarisierung eines Herkunftsversuchs und Erfassung der genetischen Differenzierung der Herkünfte*“ mit dem Lehrbereich Forstgenetik der TU München (vormals Ludwig-Maximilians-Universität München) unterstützt.

5 Literatur

- ANONYMUS (1979):** Anforderungen an die Vergleichsprüfungen für die Zulassung von Ausgangsmaterial, das für die Erzeugung von „Geprüftem Vermehrungsgut“ bestimmt ist. Anlage II zum FSAatG, Bundesgesetzblatt, Jg. 1979, Teil 1, S.1252.
- ANONYMUS (1999):** Untersuchungen zur Schwammspinner-Kalamität von 1992 bis 1994 in Rheinland-Pfalz (H. DELB & J. BLOCK, Hrsg.). *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, Nr. 45/99, 241 Seiten.
- Eder, W. (1990):** Naturnaher Waldbau aus der Sicht der Landesforstverwaltung Rheinland-Pfalz. In: G.-W. Guse (Schriftleitung): Naturnahe und naturgemäße Waldwirtschaft. *Schriftenreihe des Landesverbands Rheinland-Pfalz der SDW*, Nr. 9, S.3-10.
- EDER, W. & ROSE, B. (1995):** Waldbauliche Bedeutung der heimischen Eichenarten in Rheinland-Pfalz. In: W. MAURER & U. TABEL (Hrsg.): Genetik und Waldbau unter Berücksichtigung der heimischen Eichenarten. *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, 34/95, S.1-21.
- GREGORIUS, H.-R. (1974):** Genetischer Abstand zwischen Populationen. 1. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica*, 23, S.22-27.
- GREGORIUS, H.-R. (1978):** The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Mathematical Bioscience*, 41, pp.253-271.
- GREGORIUS, H.-R.; HATTEMER, H.H.; BERGMANN, F. & MÜLLER-STARCK, G. (1985):** Umweltbelastung und Anpassungsfähigkeit von Baumpopulationen. *Silvae Genetica*, 34, S.230-241.
- GREGORIUS, H.-R. & ROBERDS, J.H. (1986):** Measurement of genetical differentiation among subpopulations. *Theoretical and Applied Genetics*, 71, pp.826-834.
- HATTEMER, H.H.; BERGMANN, F. & ZIEHE, M. (1993):** Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft. Zweite, neubearbeitete und erweiterte Auflage, J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. M., S.34ff..
- HERTEL, H. & ZASPEL, I. (1996):** Investigations on vitality and genetic structure in oak stands. *Annales des Sciences Forestières*, 53, pp.761-773.
- HERZOG, S., & KRABEL, D. (1996):** Genetic studies on leaf retention in *Quercus robur*. *Silvae Genetica*, 45, pp.272-276.
- HERZOG, S. & MÜLLER-STARCK, G. (1993):** Untersuchungen zur genetischen Differenzierung bei Stieleichen (*Quercus robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* LIEBL.): Konsequenzen für die Erhaltung genetischer Ressourcen. *Forstarchiv*, 64, S.88-92.
- JÜNGER, F. (1997):** Genetische Variation in Beständen und Nachkommenschaften der Traubeneiche (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.). Diplomarbeit Forstwissenschaftliche Fakultät LMU München.
- KREMER, A.; PETIT, R.; ZANETTO, A.; FOUGÈRE, V.; DUCOUSSO, A.; WAGNER, D. & CHAUVIN, C. (1991):** Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Quercus petraea*. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (Hrsg.): Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. M., S.141-166.
- MAURER, W.D.; TABEL, U.; KÖNIG, A.O.; STEPHAN, B.R. & MÜLLER-STARCK, G. (2000):** Provenance trials on *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. in Rhineland-Palatinate (Germany): Preliminary results of phenotypic and genetic surveys. In: J. VUKELIC & I. ANIC (eds.): Glasnik za šumske pokuse – Annales experimentis silvarum culturae prove-hendis, no. 37. Proceedings of the International Conference “Oak 2000 – Improvement of Wood Quality and Genetic Diversity of Oaks”, Zagreb (HRO), 20.-25. Mai 2000, pp.329-345.

MÜLLER-STARCK, G. (1991): Survey of genetic variation as inferred from enzyme gene markers. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (Hrsg.): Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. M., S.20-37.

MÜLLER-STARCK, G. (1993): Auswirkungen von Umweltbelastungen auf genetische Strukturen von Waldbeständen am Beispiel der Buche (*Fagus sylvatica* L.) Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen. Forstlichen Versuchsanstalt. J. D. Sauerländer's Verlag Frankfurt a. M., 163 Seiten.

MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M. (1991): Genetic variation in populations of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., and *Quercus petraea* LIEBL. in Germany. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (Hrsg.): Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. M., S.125-140.

MÜLLER-STARCK, G. (1996) (HRSG.): Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg, 340 Seiten.

MÜLLER-STARCK, G.; ZANETTO, A.; KREMER, A. & HERZOG, S. (1996): Inheritance of isoenzymes in sessile oak (*Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.) and offspring from interspecific crosses. *Forest Genetics*, 3(1), pp.3-14.

ROTHE, G.M. & BERGMANN, F. (1995): Increased efficiency of Norway spruce heterozygous phosphoenolpyruvate carboxylase phenotype in response to heavy air pollution. *Angewandte Botanik*, 69, S.27-30.

SAMUEL, R.; PINSKER, W. & EHRENDORFER, F. (1995): Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from Eastern Austria. *Botanica Acta*, 108, pp.290-299.

ZANETTO, A. & KREMER, A. (1995): Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. I. Monolocus patterns of variation. *Heredity*, 75, pp.506-517.

ZANETTO, A.; ROUSSEL, G. & KREMER, A. (1994): Geographic variation of inter-specific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL. *Forest Genetics*, 1(2), pp.111-123.

ZANETTO, A.; KREMER, A.; MÜLLER-STARCK, G & HATTEMER, H.H. (1996): Inheritance of isoenzymes in the genus *Quercus*: I. Pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Journal of Heredity*, 87, pp.364-370.

Anschriften der Autoren:

Prof. Dr. Gerhard Müller-Starck und Dr. Roland Schubert, Lehrbereich Forstgenetik der TU München, Am Hochanger 13, D-85354 Freising

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF), Schloss, D-67705 Trippstadt

6 Anhang

Tab. 6: Genetische Abstände (GREGORIUS 1974) zwischen den 30 untersuchten Stieleichenherkünften.
Genetic distances (GREGORIUS 1974) for the 30 provenances of pedunculate oak under study.

| Herkunft No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 0.000 | | | | | |
| 2 | 0.105 | 0.000 | | | | |
| 3 | 0.115 | 0.110 | 0.000 | | | |
| 4 | 0.096 | 0.074 | 0.098 | 0.000 | | |
| 5 | 0.129 | 0.098 | 0.115 | 0.118 | 0.000 | |
| 6 | 0.113 | 0.078 | 0.109 | 0.084 | 0.099 | 0.000 |
| 7 | 0.109 | 0.106 | 0.095 | 0.087 | 0.119 | 0.114 |
| 8 | 0.112 | 0.075 | 0.095 | 0.070 | 0.123 | 0.095 |
| 9 | 0.119 | 0.117 | 0.095 | 0.105 | 0.138 | 0.121 |
| 10 | 0.097 | 0.092 | 0.101 | 0.093 | 0.115 | 0.098 |
| 11 | 0.119 | 0.082 | 0.113 | 0.107 | 0.134 | 0.103 |
| 12 | 0.105 | 0.093 | 0.089 | 0.086 | 0.110 | 0.105 |
| 13 | 0.108 | 0.074 | 0.119 | 0.086 | 0.131 | 0.098 |
| 14 | 0.087 | 0.086 | 0.112 | 0.089 | 0.125 | 0.090 |
| 15 | 0.100 | 0.087 | 0.097 | 0.102 | 0.118 | 0.100 |
| 16 | 0.090 | 0.110 | 0.091 | 0.094 | 0.119 | 0.107 |
| 17 | 0.098 | 0.076 | 0.109 | 0.090 | 0.107 | 0.078 |
| 18 | 0.131 | 0.112 | 0.143 | 0.101 | 0.142 | 0.131 |
| 19 | 0.091 | 0.097 | 0.075 | 0.089 | 0.116 | 0.103 |
| 20 | 0.089 | 0.073 | 0.105 | 0.078 | 0.096 | 0.075 |
| 21 | 0.085 | 0.064 | 0.096 | 0.065 | 0.099 | 0.081 |
| 22 | 0.103 | 0.081 | 0.109 | 0.084 | 0.100 | 0.089 |
| 23 | 0.120 | 0.081 | 0.101 | 0.067 | 0.123 | 0.103 |
| 24 | 0.106 | 0.086 | 0.105 | 0.072 | 0.099 | 0.092 |
| 25 | 0.105 | 0.102 | 0.090 | 0.107 | 0.117 | 0.123 |
| 26 | 0.112 | 0.131 | 0.104 | 0.127 | 0.128 | 0.117 |
| 27 | 0.095 | 0.086 | 0.111 | 0.087 | 0.141 | 0.106 |
| 28 | 0.115 | 0.088 | 0.089 | 0.094 | 0.127 | 0.095 |
| 29 | 0.099 | 0.111 | 0.068 | 0.093 | 0.125 | 0.109 |
| 30 | 0.116 | 0.089 | 0.104 | 0.099 | 0.118 | 0.097 |

| Herkunft No. | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 7 | 0.000 | | | | | |
| 8 | 0.084 | 0.000 | | | | |
| 9 | 0.104 | 0.110 | 0.000 | | | |
| 10 | 0.119 | 0.110 | 0.098 | 0.000 | | |
| 11 | 0.113 | 0.090 | 0.133 | 0.111 | 0.000 | |
| 12 | 0.112 | 0.091 | 0.111 | 0.108 | 0.124 | 0.000 |
| 13 | 0.106 | 0.103 | 0.091 | 0.105 | 0.107 | 0.116 |
| 14 | 0.117 | 0.092 | 0.114 | 0.097 | 0.106 | 0.094 |
| 15 | 0.099 | 0.091 | 0.087 | 0.101 | 0.101 | 0.109 |
| 16 | 0.106 | 0.101 | 0.080 | 0.092 | 0.105 | 0.096 |
| 17 | 0.121 | 0.094 | 0.110 | 0.090 | 0.106 | 0.089 |
| 18 | 0.131 | 0.129 | 0.150 | 0.147 | 0.136 | 0.112 |
| 19 | 0.101 | 0.091 | 0.099 | 0.095 | 0.098 | 0.086 |
| 20 | 0.100 | 0.078 | 0.114 | 0.102 | 0.105 | 0.091 |
| 21 | 0.100 | 0.075 | 0.105 | 0.085 | 0.091 | 0.081 |
| 22 | 0.110 | 0.101 | 0.122 | 0.092 | 0.108 | 0.104 |
| 23 | 0.098 | 0.086 | 0.104 | 0.107 | 0.107 | 0.114 |
| 24 | 0.099 | 0.100 | 0.115 | 0.100 | 0.118 | 0.097 |
| 25 | 0.101 | 0.108 | 0.083 | 0.103 | 0.119 | 0.084 |
| 26 | 0.140 | 0.125 | 0.113 | 0.120 | 0.137 | 0.111 |
| 27 | 0.096 | 0.095 | 0.086 | 0.108 | 0.109 | 0.111 |
| 28 | 0.109 | 0.087 | 0.116 | 0.111 | 0.113 | 0.107 |
| 29 | 0.097 | 0.094 | 0.083 | 0.090 | 0.117 | 0.090 |
| 30 | 0.113 | 0.106 | 0.113 | 0.119 | 0.112 | 0.113 |

| Herkunft No. | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 13 | 0.000 | | | | | |
| 14 | 0.108 | 0.000 | | | | |
| 15 | 0.089 | 0.112 | 0.000 | | | |
| 16 | 0.106 | 0.092 | 0.080 | 0.000 | | |
| 17 | 0.103 | 0.074 | 0.116 | 0.099 | 0.000 | |
| 18 | 0.122 | 0.123 | 0.147 | 0.142 | 0.127 | 0.000 |
| 19 | 0.108 | 0.088 | 0.101 | 0.079 | 0.086 | 0.136 |
| 20 | 0.103 | 0.075 | 0.092 | 0.099 | 0.069 | 0.128 |
| 21 | 0.086 | 0.069 | 0.096 | 0.091 | 0.066 | 0.114 |
| 22 | 0.109 | 0.079 | 0.111 | 0.097 | 0.079 | 0.140 |
| 23 | 0.098 | 0.108 | 0.103 | 0.101 | 0.106 | 0.121 |
| 24 | 0.096 | 0.092 | 0.116 | 0.094 | 0.086 | 0.101 |
| 25 | 0.092 | 0.103 | 0.091 | 0.086 | 0.107 | 0.125 |
| 26 | 0.136 | 0.103 | 0.111 | 0.094 | 0.109 | 0.171 |
| 27 | 0.077 | 0.107 | 0.085 | 0.089 | 0.098 | 0.127 |
| 28 | 0.116 | 0.097 | 0.112 | 0.102 | 0.097 | 0.131 |
| 29 | 0.115 | 0.097 | 0.097 | 0.072 | 0.098 | 0.152 |
| 30 | 0.110 | 0.099 | 0.108 | 0.101 | 0.098 | 0.133 |

| Herkunft No. | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 19 | 0.000 | | | | | |
| 20 | 0.078 | 0.000 | | | | |
| 21 | 0.077 | 0.051 | 0.000 | | | |
| 22 | 0.093 | 0.082 | 0.073 | 0.000 | | |
| 23 | 0.103 | 0.090 | 0.084 | 0.089 | 0.000 | |
| 24 | 0.097 | 0.092 | 0.087 | 0.076 | 0.079 | 0.000 |
| 25 | 0.090 | 0.103 | 0.090 | 0.118 | 0.114 | 0.104 |
| 26 | 0.085 | 0.102 | 0.103 | 0.116 | 0.131 | 0.129 |
| 27 | 0.089 | 0.101 | 0.099 | 0.113 | 0.096 | 0.103 |
| 28 | 0.085 | 0.091 | 0.086 | 0.094 | 0.094 | 0.113 |
| 29 | 0.070 | 0.092 | 0.096 | 0.096 | 0.110 | 0.107 |
| 30 | 0.093 | 0.097 | 0.090 | 0.091 | 0.094 | 0.106 |

| Herkunft No. | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 25 | 0.000 | | | | | |
| 26 | 0.112 | 0.000 | | | | |
| 27 | 0.085 | 0.118 | 0.000 | | | |
| 28 | 0.107 | 0.121 | 0.103 | 0.000 | | |
| 29 | 0.085 | 0.095 | 0.091 | 0.093 | 0.000 | |
| 30 | 0.099 | 0.119 | 0.099 | 0.061 | 0.098 | 0.000 |

Anmerkung:

Der genetische (allelische) Abstand stellt die Grundlage dar für alle weiteren Berechnungen der genetischen Differenzierung von Baumpopulationen, hier der einzelnen Herkünfte. Im Paarvergleich nimmt dieses Maß seinen minimalen Wert Null dann an, wenn bei den beiden Pärchengliedern übereinstimmende allelische Strukturen vorhanden sind, d.h., die beiden **alle** Allele gemeinsam haben und diese zudem mit gleicher Häufigkeit besitzen. Der maximale Wert von 1 wird dann erreicht, wenn die beiden Pärchenglieder keine Allele gemeinsam haben.

Wegen ihrer Größe mit 30 x 30 Herkunfts-Vergleichsgliedern ist die Tab. 6 zerlegt in fünf aufeinander folgende Teilstücke dargestellt.

Die genetische Charakterisierung südwestdeutscher Edelkastanien (*Castanea sativa* MILL.) mittels molekularer Marker

MARTIN SCHIFFER, WERNER D. MAURER, UWE TABEL UND FRIEDRICH LEIBENGUTH

Keywords: Sweet chestnut, *Castanea sativa*, provenances, South-west Germany, genetic similarity, genetic distance, RAPD marker, RAMPO marker

Abstract

Title of the paper: Genetic characterization of Southwest German sweet chestnuts (*Castanea sativa* MILL.) by use of molecular markers.

Four provenances of sweet chestnut (*Castanea sativa* MILL.) originating from Southwest Germany and comprising 160 young trees were analyzed by using two types of molecular markers in order to determine the extent of genetic variability within the provenances and the degree of differentiation among them. DNA extracted from mature leaves was amplified by using two 10-base-primers *via* polymerase chain reaction (PCR). In this way reproducible random amplified polymorphic DNA (RAPD) banding patterns were generated after electrophoretic separation. After transferring the PCR products on PVDF membranes by the Southern blotting method and hybridization by the digoxigenin-labeled probe (GTG)₅, new markers were produced [denominated "Random Amplified Microsatellite Polymorphisms" (RAMPO)]. The RAPD and RAMPO profiles of all trees were compared pair-wise with each other bringing about similarity indices which served as a measure for both the variability inherent to the provenances tested and also for the genetic dissimilarity between them.

The results obtained by the two primers were found to be almost identical for all provenances tested. High RAPD similarities (0.70-0.84) faced only slightly slower RAMPO values. The similarity indices between the provenances were found to be barely slower resulting consequently in only insignificant genetic distances (for RAPD 0,035 and for RAMPO 0,031).

It is concluded that the four tested provenances (and probably all south-west German sweet chestnuts) belong to the very same basic population. This assumption is supported by a screening using 20 different primers: neither the RAPD nor the RAMPO markers tested were found to be of particular provenance specificity. Since these results coincide with isozyme data of different European populations, it may be assumed that sweet chestnut was exposed to genetic impoverishing during its migration from its East Turkey glacial refugium into the West Mediterranean regions, this reduction in variability did not further increase, however, during its spreading in Germany.

Schlagwörter: Edelkastanie, *Castanea sativa*, Herkünfte, Südwest-Deutschland, genetische Ähnlichkeit, genetische Distanz, RAPD-Marker, RAMPO-Marker

Zusammenfassung

Vier südwestdeutsche Edelkastanien-Herkünfte mit 160 jungen Bäumen wurden mit zwei Typen molekularer Marker analysiert, um das Ausmaß der genetischen Variation innerhalb der Provenienzen und den Grad der Differenzierung zwischen ihnen zu ermitteln. DNA von Blättern wurde mit zwei 10-Basen-Primern *via* Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert; diese lieferte nach der elektrophoretischen Auftrennung reproduzierbare Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-Bandenmuster. Nach Übertragung dieser PCR-Produkte durch Southern-Blotting auf PVDF-Membranen und Hybridisierung mit der Digoxigenin-markierten Sonde (GTG)₅ entstanden neue Marker-Sets [Random Amplified Microsatellite Polymorphisms (RAMPO)]. Die RAPD- und RAMPO-Profile aller Bäume wurden paarweise miteinander verglichen und resultierten in Ähnlichkeitsindices als Maß für sowohl herkunftsinterne Variabilität als auch für die genetische Verschiedenheit

zwischen den Herkünften. Die mit beiden Primern erzielten Werte waren für alle vier Herkünfte nahezu identisch. Hohen RAPD-Ähnlichkeiten (0,70-0,84) standen nur geringfügig niedrigere RAMPO-Werte (0,61-0,69) gegenüber. Die Ähnlichkeitsindices zwischen den Herkünften waren kaum geringer und ergaben infolgedessen nur unbedeutende genetische Distanzen (0,035 für RAPD sowie 0,031 für RAMPO). Die Schlußfolgerung, dass die vier Herkünfte (und wahrscheinlich alle südwestdeutschen Edelkastanien) ein und derselben Population angehören, wird gestützt durch ein Screening mit 20 Primern: kein RAPD- und RAMPO-Marker erwies sich als herkunftsspezifisch. Da unsere Ergebnisse mit Isoenzymdaten an anderen europäischen Populationen übereinstimmen, kann angenommen werden, dass die Edelkastanie während ihrer vom Menschen forcierten Wanderung vom osttürkischen Glazialrefugium in die westmediterranen Länder zwar eine genetische Verarmung erfahren hat, diese jedoch im Zuge ihrer Ausbreitung nach Deutschland nicht weiter zunahm.

1 Einleitung

Langlebige Baumarten mit weiter Verbreitung, Fremdbefruchtung und Samenverbreitung durch Wind und Tiere sind generell durch eine hohe genetische Diversität innerhalb der Arten und Populationen ausgezeichnet, zeigen jedoch geringe Differenzierung zwischen den Populationen (vgl. hierzu MÜLLER-STARCK 1991; HAMRICK et al. 1992; MÜLLER-STARCK et al. 1992; KREMER 1994). Ein bedeutender Anteil der Variation zwischen den Arten kann allerdings möglicherweise auf deren jüngere Evolutionsgeschichte zurückgeführt werden. Ursprungsgebiete und Migrationsrouten aus Glazialrefugien können ebenso wie die menschliche Einflussnahme ein artspezifisches Muster an Zufallseffekten und Selektionsdrucken hinterlassen haben.

Für die europäische Edelkastanie (*Castanea sativa* MILL.) ist die Klärung solcher komplexer Einflussnahmen bereits begonnen worden. Die zur Familie der *Fagaceae* gehörende Art ist trotz ihrer Monözie fremdbefruchtend. Sie überlebte die Würm-Eiszeit in einem südwestasiatischen Refugium. Palynologische Studien (ZAHARY & HOPF 1988) und Isoenzymdaten (VILLANI & PIGLIUCCI 1991; FRASCARIA et al. 1993; MACHON et al. 1996) lassen ihr Refugium in der östlichen Türkei vermuten. Von dort erfolgte zunächst eine langsame natürliche Migration westwärts, die abgelöst wurde durch eine rasche, wahrscheinlich vom Menschen betriebene Ausbreitung nach Griechenland, Italien und die übrigen mediterranen Länder. Auf diesem Wege fand, wahrscheinlich infolge Gendrift, eine dramatische Verarmung ihres Genpools statt.

Wie die Edelkastanie nach Südwestdeutschland (insbesondere nach Rheinland-Pfalz und das Saarland) kam, wird noch kontrovers diskutiert (MAURER & TABEL 1997). Ihre Verbreitung in Verbindung mit der Weinrebe (*Vitis vinifera*), ihre Biologie und ökologischen Anforderungen wurden umfassend von LANG (1970) beschrieben. Über ihre genetische Konstitution ist jedoch nichts bekannt. Wir haben daher vier von 16 Populationen eines 1991 im Bereich der Pfalz mit drei Flächen angelegten Herkunftsversuches (MAURER & TABEL 1997) unter folgenden Gesichtspunkten untersucht: es sollte

1. das Ausmaß der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen den Herkünften ermittelt werden, um festzustellen, ob ihr Genpool reichhaltiger oder dem italienischer und französischer Populationen vergleichbar ist oder ob er durch die Ausbreitung nördlich der Alpen noch weiter verarmte;
2. nach molekularen Markern gesucht werden, die herkunftsspezifisch sind.
3. anstelle der Isoenzym-Technik zwei neuere Typen von DNA-Markern verwendet werden, die wahrscheinlich nicht-codierende und daher keiner Selektion unterworfen DNA-Sequenzen betreffen. Mit der Random Amplified Polymorphic DNA Technik wurden zunächst auswertbare polymorphe RAPD-Profile erstellt (WILLIAMS et al. 1990; WEISING et al. 1995; MICHELI & BOVA 1997), die nach Übertragung auf eine Membran mit der mikrosatelliten-spezifischen Sonde (GTG)₅ hybridisiert wurden. Die resultierenden RAMPO-Profile [Random Amplified Microsatellite Polymorphism (RICHARDSON et al. 1995)] lieferten auf Grund ihrer neuen Polymorphismen zusätzliche Informationen über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen den Edelkastanienherkünften. Außerdem könnten mit diesen Methoden Bäume mit einzigartiger genetischer Konstitution erkannt und ggf. der Generhaltung unterworfen werden.
4. Der Kritik (MÜLLER-STARCK 1991), dass sich die forstgenetische Forschung in der Vergangenheit überwiegend mit ökonomisch wertvollen Koniferen befasst hat und soweit nicht in größerem Umfange auf die ökologische Bedeutung von Angiospermen-Arten eingegangen ist, kann die vorliegende Studie entgegenwirken. Die Edelkastanie ist zwar in Deutschland eine wirtschaftlich eher unbedeutende Baumart, doch sie vermehrt den Artenreichtum (MAURER & TABEL 1997), trägt zur Bodenverbesserung bei und bereichert das Waldbild ästhetisch.

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial stammt aus der Edelkastanien-Herkunftsversuchsfläche Weilach, einer von drei Wiederholungsflächen (FÄ Bad Dürkheim, Bad Bergzabern und Kusel), die 1991 in Rheinland-Pfalz durch Pflanzung zweijähriger Sämlinge verschiedener deutscher Herkünfte aus den Bereichen des Haardtrandes, des Moseltals, der Ortenau-Region am Westrand des Schwarzwalds sowie der Samenplantage Berkel (Grohnde, Niedersachsen) begründet wurden. Unser Testplot liegt bei Bad Dürkheim am Ostrand des Pfälzerwaldes (Haardtrand) im FA

Bad Dürkheim (vormals FA Hardenburg) und umfaßt 16 Herkünfte mit jeweils vier Wiederholungen. Für die vorliegende Studie wurden vier möglichst weit voneinander entfernte Herkünfte ausgewählt. Ihre Identifizierungsnummern und Ursprungsorte sind:

- Prüfglied HK5: Bobenheim (FA Bad Dürkheim, nördlicher Haardtrand);
- Prüfglied HK7: Wintrich (FA Bernkastel, östliches Moseltal);
- Prüfglied HK9: Oberkirch (FA Oberkirch in der Ortenau, Süd-Baden);
- Prüfglied HK15: Waldbühl (FA Annweiler, südlicher Haardtrand).

Die Bäume innerhalb jeder Herkunft wurden so beprobt, dass verschiedene Phänotypen (d.h. mit einem und mehreren Leittrieben, buschige und gegabelte Typen) Berücksichtigung fanden. Im September 1996 wurde von 160 Bäumen (40 je Prüfglied) Blattmaterial geerntet und bei -80° C bis zur Untersuchung eingefroren.

2.2 DNA-Isolierung

Die leicht seneszenten Blätter wurden in flüssigem Stickstoff homogenisiert. Die DNA-Isolierung geschah nach der Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)-Methode (MURRAY & THOMPSON 1980; DOYLE & DOYLE 1987). Ein weiterer Reinigungsschnitt mittels RNase- und Proteinase K-Verdau entfernte DNA Polymerase-Inhibitoren. Die DNA wurde auf eine Gebrauchskonzentration von 100 ng/µl verdünnt.

2.3 RAPD-Amplifikation

Die Polymerase Kettenreaktionen wurden in Volumina von je 25 µl durchgeführt. Diese enthielten: 10 mM Tris-HCl (pH 8,8), 1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0,1% Triton X-100, 0,2 mM dNTPs, 0,2 mM Primer, 100 ng genomische DNA und 1,2 Units PrimeZyme DNA Polymerase (Biometra, Göttingen). Das PCR-Gerät (Personalcycluser mit beheizbarem Deckel, Biometra) wurde wie folgt programmiert: 1,5 min bei 94°C, 45 Zyklen bestehend aus 30 sec bei 94°C (Denaturierung), 1 min bei 42°C (Primer-Annealing), 2 min bei 72°C (Extension oder Synthesephase) und abschließend eine 10 min Extension bei 72°C. Von 40 Random-Primern (Kit 2-50 von Genosys, Cambridge, England, Kits 160, 170 und 180 von Roth, Karlsruhe), die zuvor mit DNA eines Edelkastanienbaumes getestet wurden, wählten wir zwei für die Durchführung der Versuche aus: Primer 180-08 5'CGCCCTCAGC3' und Primer 180-09 5'GCACGGTGGG3'.

Die amplifizierten DNA-Sequenzen wurden in 2% Agarose-Gelen (1x TBE Puffer) getrennt und mit 1,5 µM Bisbenzimid H 33258 (Boehringer Ingelheim Co., Heidelberg) angefärbt. Der

DNA-Molekulargewichtsmarker VI (Boehringer) diente zur Größenabschätzung der RAPD-Banden. Deren Profile wurden unter UV-Licht sichtbar gemacht und mit einer Polaroid-Kamera fotografiert.

2.4 Die Herstellung von RAMPOs

Die DNA der RAPD-Gele wurde in 0,25 M HCl depuriniert und mittels 0,5M NaOH und 1,5M NaCl denaturiert. Die mittels des Southern-Blot-Verfahrens auf Polyvinylidendifluorid (Immobilon-N PVDF) Membranen (Millipore Co., Bedford, USA) übertragene DNA wurde durch die Hitzebehandlung fixiert und mit der digoxigenierten Mikrosatelliten-Sonde (GTG)₅ (Biometra) hybridisiert. Die Sichtbarmachung der Banden geschah gemäß Dig-Detection-Kit (Boehringer Mannheim Co., Mannheim). Die RAMPO-Profile bleiben auf trockenen Membranen stabil.

2.5 Statistik

Die mit einem gegebenen Primer amplifizierten DNA-Sequenzen treten nach Elektrophorese in einem Agarosegel und Anfärbung als fluoreszierendes RAPD-Bandenmuster oder -profil und nach Blotting und Hybridisierung als Muster rötlich-blauer RAMPO-Banden in Erscheinung. Es wurden nur RAPD- bzw. RAMPO-Profile desselben Gels bzw. derselben Membran miteinander verglichen. Jeder paarweise Vergleich der Profile zweier Bäume x und y liefert einen Ähnlichkeitsindex S_{xy} nach der Formel $S_{xy} = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$, wobei n_{xy} die Zahl der beiden Individuen gemeinsamen Banden ist und n_x sowie n_y der Gesamtzahl der Banden der Individuen x und y entsprechen (NEI & LI 1979; LYNCH 1990, 1991). Die Ähnlichkeit innerhalb einer Herkunft (S_i oder S_j) errechnet sich als der Durchschnitt der S_{xy} -Werte aller möglichen paarweisen Vergleiche der Individuen einer Herkunft (i oder j), die Ähnlichkeit zwischen den Herkünften (S_{ij}) als Mittel der paarweisen Vergleiche der Individuen verschiedener Herkünfte (i und j). Alle S_i -, S_j - und S_{ij} -Werte erscheinen in unseren Tabellen unter P_b . Die Ähnlichkeitsindices innerhalb und zwischen den Herkünften dienen zur Errechnung der genetischen Distanz (D_{ij}) unter Verwendung der Berechnungsformel nach LYNCH (1991): $D_{ij} = -\ln [S_{ij} / (S_i \times S_j)^{1/2}]$. Die näherungsweise Bestimmung der Allelhäufigkeiten (q) und der Heterozygotie (h) sowie der Wahrscheinlichkeit (P_i), dass zwei Bäume völlig identische RAPD- oder RAMPO-Profile aufweisen, geschah nach Angaben der Literatur (JEFFREYS & MORTON 1987; GEORGES et al. 1988; LEIBENGUTH & SHOGHI 1998).

3 Ergebnisse und ihre Diskussion

Fast alle der 40 getesteten Primer (mit 50-80% GC-Gehalt) lieferten mehr oder weniger komplexe RAPD-Profile. Zwei Primer (180-08 und 180-09) wurden für die Analysen innerhalb und zwischen den Edelkastanienherkünften ausgewählt auf Grund der von ihnen erzeugten besonders klaren und reproduzierbaren Profile. Der Grad des Polymorphismus spielte bei der Primerwahl keine Rolle.

Beide Primer lieferten völlig verschiedene Amplifikationsprodukte, obwohl die maximale Zahl der Banden (14 bei Primer 180-08 und 13 bei Primer 180-09) annähernd gleich war. Die unterschiedlichen Amplifikationsmuster (mit der DNA desselben Baumes) werden durch die verschiedenen Primersequenzen erzeugt. Es ist bekannt (WILLIAMS et al. 1990), dass selbst einzelne Basensubstitutionen gänzlich verschiedene RAPD-Profile ergeben. Andererseits resultiert Polymorphismus (das Vorhandensein bzw. das Fehlen einer Bande), der bei verschiedenen Bäumen mit demselben Primer offenbar wird, vermutlich auf Basensubstitution(en) in der Primerbindungsstelle der Ziel-DNA. Andere Mutationstypen, wie Insertionen, Deletionen und Inversionen führen vermutlich seltener zu Polymorphismen. Ebenso selten werden codominant sich manifestierende Banden dann beobachtet, wenn eine kleine Insertion oder Deletion zu geringfügig in der Größe veränderten Amplifikationsprodukten desselben Locus führt. Solche Muster, die oberflächlich dem Verhalten monomerer Allozyme ähneln und über Homo- oder Heterozygotie des Baumes an diesem Locus Auskunft geben würden, sind in unserer Studie nicht beobachtet worden.

Im Anschluss an die Erzeugung und Auswertung der fluoreszierenden RAPD-Muster wurden zusätzliche Informationen gewonnen, indem die in den Gelen enthaltene DNA nach Southern auf Immobilon-N PVDF-Membranen geblottet und mit der digoxigenierten Mikrosatelliten-Sonde (GTG)₅ hybridisiert wurde. Sämtliche Amplifikationsprodukte, die GTG/CAC-Wiederholungen ("repeats") enthielten, mußten mit der Sonde hybridisieren und sich als polymorphe Bandenmuster zu erkennen geben. Die Technik führt zu neuen molekularen Markern, die je nach Autor entweder als „RAMPO-Marker“ (random amplified microsatellite polymorphisms (RICHARDSON et al. 1995) oder als „RAHM-Marker“ (random amplified hybridization microsatellite) (CIFARELLI et al. 1995) bezeichnet werden. Wie die RAPD-Muster sind auch die RAMPO-Profile primerspezifisch. Edelkastanien-DNA ergibt mit Primer 180-08 maximal 11 und mit Primer 180-09 14 Banden. Keiner der RAPD-Marker war als RAMPO-Marker wiederzufinden, weil sie offenbar keine hybridisierungsfähigen "repeats" enthielten. Der Nachweis der RAMPO-Banden beruht vielmehr auf dem Digoxigenin-Detektionssystem, das wesentlich sensitiver arbeitet als die Fluoreszenzfärbung der RAPD-Banden.

3.1 Die mit Primer 180-09 erzeugten RAPD- und RAMPO-Profile

Zunächst war zu prüfen, ob die vier Wiederholungen derselben Herkunft sich hinsichtlich ihrer durchschnittlichen Ähnlichkeitsindices unterscheiden oder annähernd identisch sind. In Abb. 1 werden die RAPD- und RAMPO-Profile von je 9 Bäumen der Wiederholungen 2 und 3 der Herkunft HK5 verglichen.

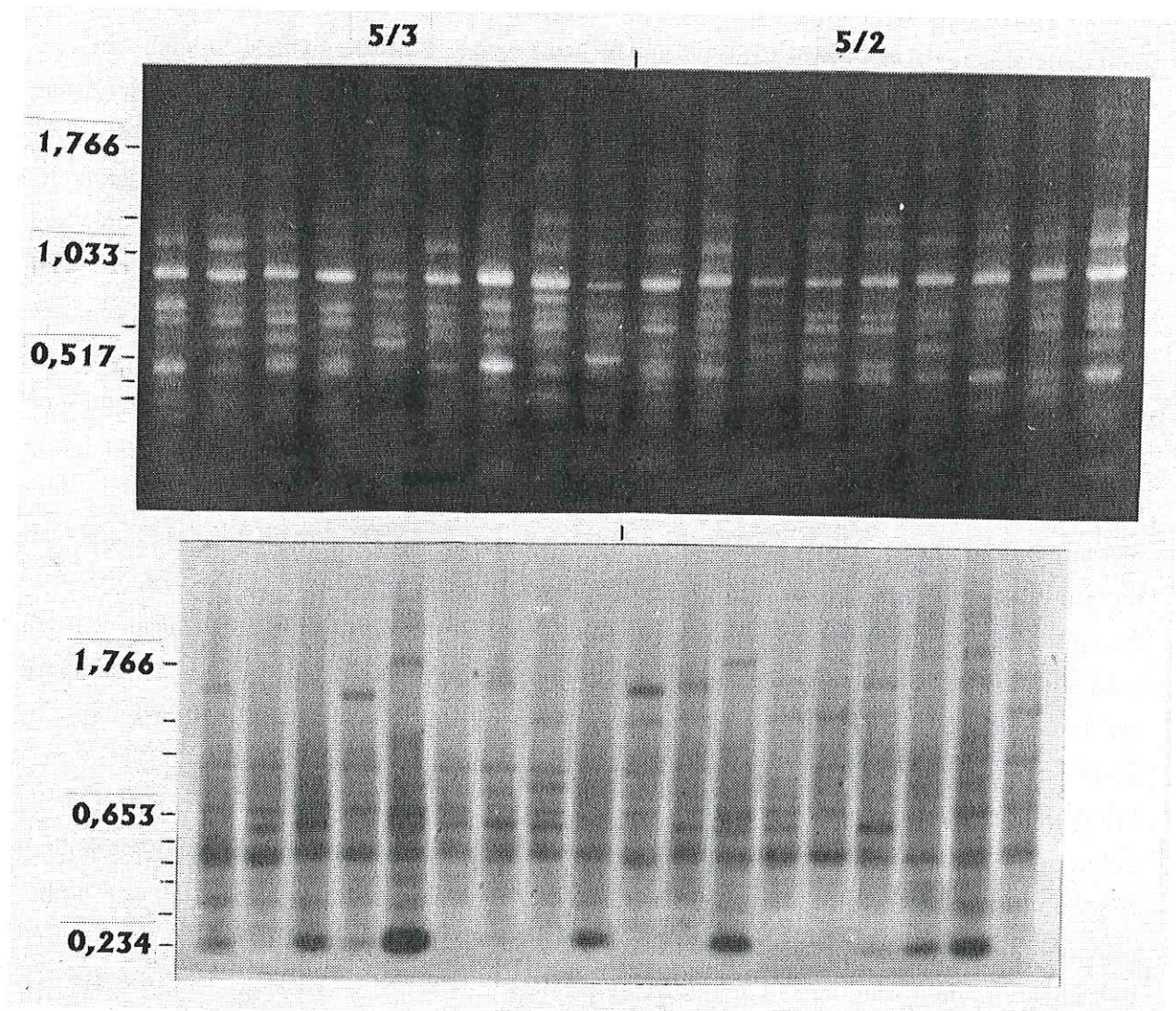


Abb. 1: RAPD- und RAMPO-Profile von je 9 Bäumen aus den Wiederholungen 2 und 3 der Edelkastanien-Herkunft 5 (5/3 bzw. 5/2). Für die Amplifikation wurde Primer 180-09 und für die Hybridisierung die Sonde $(GTG)_5$ verwendet. Die Größen der Vergleichsmarker sind links in Kilobasen angegeben.

Fig. 1: RAPD and RAMPO profiles of each 9 trees of the repeat parcels 2 and 3 belonging of sweet chestnut provenance 5 (5/3 and 5/2 on top of photo). Primer 180-09 was used for amplification and $(GTG)_5$ for hybridization. Sizes of molecular markers are given in kilobases (left margin).

Da 5 RAPD-Marker monomorph und 9 polymorph sind, resultiert daraus ein durchschnittlicher Prozentsatz an polymorphen Banden (p%) von 64%. Für beide Wiederholungen ergeben sich Ähnlichkeitsindices von $P_b(2) = 0,71 \pm 0,12$ und $P_b(3) = 0,69 \pm 0,11$ und ein Wert von $P_b(2/3) = 0,71$ für die Ähnlichkeit zwischen beiden Wiederholungen. Da auch die Wiederholungen der übrigen drei Herkünfte jeweils identisch sind, erscheint es gerechtfertigt, einen für jede Herkunft charakteristischen Durchschnittswert anzugeben (Tab. 1, rechte Hälfte).

Tab. 1: Vergleiche der RAPD- und RAMPO-Daten innerhalb der Herkünfte 5, 7, 9 und 15, die mit den Primern 180-08 (linke Hälfte) und 180-09 (rechte Hälfte) erarbeitet wurden. Durchschnittswerte von 18-25 Bäumen. Zeichenerklärung in Material und Methoden.

Within provenance comparisons with regard to RAPD and RAMPO data as obtained by the primer 180-08 (left half) and 180-09 (right half). Values for the provenances 5, 7, 9, and 15 are averages of 18-25 trees. Statistics and symbols as outlined in the section Material and Methods.

| HK | Primer 180-08 | | | | Primer 180-09 | | | |
|--------------|---------------|-------|--------|-------|---------------|-------|-------|-------|
| | 5 | 7 | 9 | 15 | 5 | 7 | 9 | 15 |
| RAPD | | | | | | | | |
| P_b | 0,76 | 0,79 | 0,84 | 0,81 | 0,72 | 0,70 | 0,76 | 0,71 |
| s_x | 0,11 | 0,093 | 0,087 | 0,078 | 0,09 | 0,10 | 0,08 | 0,11 |
| $p \%$ | 61 | 50 | 48 | 48 | 70 | 70 | 66 | 71 |
| q | 0,52 | 0,54 | 0,60 | 0,56 | 0,47 | 0,45 | 0,51 | 0,46 |
| h | 0,65 | 0,63 | 0,57 | 0,61 | 0,69 | 0,71 | 0,66 | 0,70 |
| P_i | 0,025 | 0,082 | 0,1370 | 0,086 | 0,005 | 0,005 | 0,013 | 0,005 |
| RAMPO | | | | | | | | |
| P_b | 0,67 | 0,68 | 0,69 | 0,69 | 0,63 | 0,61 | 0,67 | 0,67 |
| s_x | 0,14 | 0,15 | 0,12 | 0,11 | 0,11 | 0,13 | 0,13 | 0,12 |
| $p \%$ | 78 | 80 | 73 | 71 | 85 | 89 | 86 | 90 |
| q | 0,43 | 0,43 | 0,44 | 0,45 | 0,39 | 0,38 | 0,43 | 0,43 |
| h | 0,73 | 0,73 | 0,72 | 0,71 | 0,76 | 0,77 | 0,73 | 0,73 |
| P_i | 0,009 | 0,029 | 0,007 | 0,020 | 0,0005 | 0,001 | 0,004 | 0,001 |

Die aus den RAPD-Markern errechneten Ähnlichkeitsindices sind für alle Herkünfte ziemlich hoch. Die P_b -Werte von 0,70-0,76 deuten eine eingeschränkte genetische Variabilität an. Die vorläufigen Allelfrequenzen (q) und Heterozygotiedaten (h) sind lediglich Näherungswerte. P_i -Werte von 0,005 drücken eine Wahrscheinlichkeit aus, unter 200 Bäumen allenfalls 2 mit völlig identischen RAPD-Profilen zu finden.

Auch die auf den RAMPO-Profilen basierenden Ähnlichkeitsindices sind für alle Herkünfte annähernd gleich. Dass sie durchweg etwas geringer als für die RAPD-Werte sind, mag darauf beruhen, dass die "repeats" enthaltenden Mikrosatellitensequenzen eine höhere Mutationsrate aufweisen und darüber hinaus nicht-codierenden Regionen des Genoms angehören. Dementsprechend werden für sie auch höhere Prozentsätze an polymorphen Banden (p%) und niedrigere P_i -Werte gefunden.

Generell bedeutet ein hoher Ähnlichkeitsindex innerhalb einer Herkunft die Fixierung bestimmter Allele an den meisten Loci. Bezüglich der 4 hier untersuchten Herkünfte könnten dies jedoch entweder verschiedene oder identische Allele sein. In beiden Fällen würden sowohl hohe als auch ähnliche Indices resultieren, wie dies Tab. 1 ausdrückt.

Tab. 2: Ähnlichkeitsindices P_b zwischen den Herkünften 5, 7, 9 und 15 (obere Hälfte) und genetische Distanzen D_{ij} (untere Hälfte), basierend auf den RAPD-Profilen (über den Diagonalen) und RAMPO-Profilen (unter den Diagonalen), die mittels der Primer 180-08 und 180-09 (linke und rechte Hälfte) erzeugt wurden.

Between-provenance similarity indices P_b (upper half) and genetic distances D_{ij} (lower half) for the provenances 5, 7, 9, and 15 based on RAPD profiles (above diagonal) and RAMPO profiles (below diagonal) generated with two primers (left and right half).

| PRIMER 180-08 | | | | | PRIMER 180-09 | | | | | |
|---|-----------|----------|----------|----------|----------------------|----------|----------|----------|-----------|----------|
| Ähnlichkeitsindex P_b | | | | | | | | | | |
| A | HK | 5 | 7 | 9 | 15 | 5 | 7 | 9 | 15 | C |
| | 5 | - | 0.72 | 0.81 | 0.83 | - | 0.72 | 0.71 | 0.71 | |
| | 7 | 0.65 | - | 0.79 | 0.74 | 0.60 | - | 0.72 | 0.70 | |
| | 9 | 0.68 | 0.65 | - | 0.78 | 0.60 | 0.63 | - | 0.71 | |
| | 15 | 0.67 | 0.69 | 0.66 | - | 0.65 | | 0.64 | - | |
| Genetische Distanz D_{ij} | | | | | | | | | | |
| B | HK | 5 | 7 | 9 | 15 | 5 | 7 | 9 | 15 | D |
| | 5 | - | 0.074 | 0 | 0 | - | 0.012 | 0.053 | 0.012 | |
| | 7 | 0.034 | - | 0.018 | 0.077 | 0.029 | - | 0.047 | 0.034 | |
| | 9 | 0.008 | 0.049 | - | 0.06 | 0.074 | 0.037 | - | 0.040 | |
| | 15 | 0.025 | 0 | 0.059 | - | 0 | 0.007 | 0.06 | - | |

Um zwischen diesen Alternativen zu entscheiden, ist es erforderlich, die RAPD- bzw. RAMPO-Profile verschiedener Herkünfte auf dem gleichen Gel bzw. der gleichen Membran zu vergleichen. Die mit dem Primer 180-09 erzielten Ähnlichkeitsindices zwischen den Herkünften sind in Tab. 2 C (für RAPDs über und für RAMPOs unterhalb der Diagonalen) angegeben. Da sie sehr gut mit den Werten innerhalb der Herkünfte übereinstimmen, ist zu

schlussfolgern, dass (1) in verschiedenen Herkünften identische Allele fixiert sind, (2) nahezu die gesamte genetische Variabilität innerhalb der Herkünfte zu finden ist und (3) keinerlei herkunftsspezifische Marker identifiziert werden können.

Auf Grund dieser Befunde sind auch kaum nennenswerte genetische Distanzen zwischen den Herkünften zu erwarten. Primer 180-09 liefert tatsächlich vernachlässigbar geringe D_{ij} -Werte (vgl. Tab. 2 D). Für die RAPDs liegen sie - gemittelt über alle Herkunftsvergleiche - bei 0,033 und für die RAMPOs bei 0,034. Beide Markertypen ergeben jedoch leicht erhöhte genetische Distanzen zwischen den Herkünften HK5 (nördlicher Haardtrand) und HK9 (Südbaden).

3.2 Die mit Primer 180-08 erzeugten RAPD- und RAMPO-Profile

Da verschiedene Primer völlig verschiedene Sequenzen desselben Genoms amplifizieren, könnten Daten eines zweiten Primers zusätzliche Informationen über die Edelkastanien-Herkünfte liefern und etwaige Diskrepanzen ausgleichen.

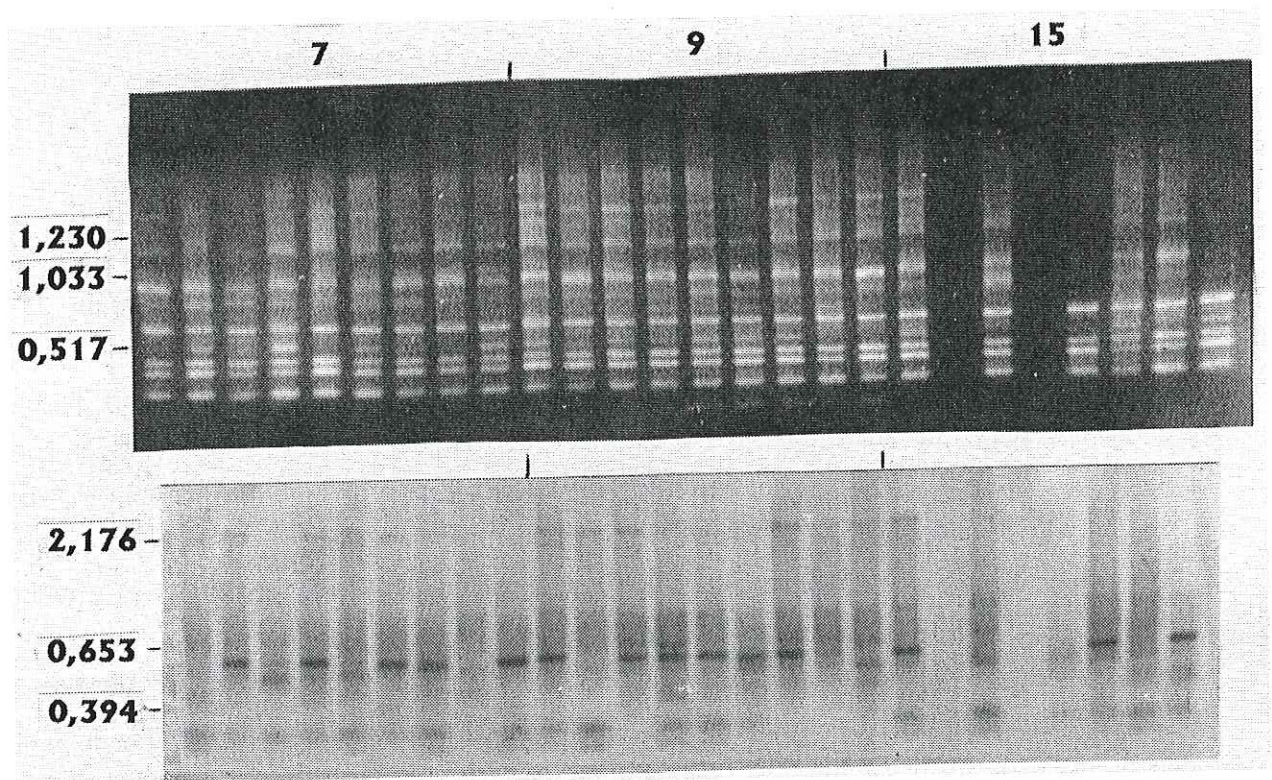


Abb. 2: RAPD- und RAMPO-Profile von 26 Bäumen der Edelkastanien-Herkünfte 7, 9 und 15, erzeugt mit Primer 180-08. Hybridisierungssonde ist das digoxigenierte $(GTG)_5$ -Oligonucleotid. Bei 2 Bäumen fand keine Amplifikation statt. Einige Größen der Vergleichsmarker sind in Kilobasen angegeben.

Fig. 2: RAPD and RAMPO profiles of 26 trees of the sweet chestnut provenances 7, 9 and 15 generated by the primer 180-08. The oligonucleotide probe labeled with digoxigenin is $(GTG)_5$. Two lanes without amplification. Sizes of molecular markers (left-most lane) are given in kilobases.

Die mit Primer 180-08 erzielten RAPD- und RAMPO-Daten (Tab. 1, linke Hälfte) sind im großen und ganzen mit denen des ersten Primers vergleichbar. Die Ähnlichkeitsindices innerhalb der Herkünfte sind jedoch etwas höher, die Prozentsätze polymorpher Banden niedriger und die P_1 -Werte folglich höher. Ein Zwischenherkunftsvergleich ist in Abb. 2 dokumentiert.

Die RAPD-Profile weisen ein Maximum von 15 Banden (10 davon polymorph) und die RAMPO-Muster 10 Banden (8 davon polymorph) auf.

Die mit Primer 180-08 erzielten Ähnlichkeitsindices zwischen den Herkünften sind für die RAPD- und RAMPO-Profile in Tab. 2 A aufgeführt. Die Durchschnittswerte (0,77 für die RAPDs und 0,66 für die RAMPOs) liegen nur unbedeutend unter denen innerhalb der Herkünfte (Tab. 1, linke Hälfte: 0,80 für die RAPDs und 0,68 für die RAMPOs). Entsprechend gering sind die genetischen Distanzen (Tab. 2 B). Ergab der erste Primer einzelne erhöhte Werte, so wurden diese mit dem zweiten offenbar wieder ausgeglichen. Auch mit diesem Primer (und einem zusätzlichen Satz von 20 Primern) konnte kein Marker identifiziert werden, der für irgendeine Herkunft spezifisch gewesen wäre.

3.3 Der Vergleich mit Isoenzymdaten aus der Literatur sowie allgemeine Schlußfolgerungen

Für die Edelkastanie liegt soweit erst eine regional begrenzte RAPD-Studie vor. Die Autoren (FINESCHI et al. 1993) untersuchten Kulturvarietäten der Südschweiz und betonten das bedeutende Individualisierungspotential der Methode. Isoenzym polymorphismen sind dagegen schon mehrmals analysiert worden. Unsere Daten können also lediglich mit diesen verglichen werden, die allerdings an Populationen der Türkei (VILLANI et al. 1991b), von Italien (VILLANI et al. 1991a; FINESCHI et al. 1994), von Spanien (PEREIRA-LORENZO et al. 1996) und von Frankreich (MACHON et al. 1996) erhoben wurden.

Wir beziehen in unseren Vergleich die Allelfrequenzen und die Heterozygotie-Werte nicht ein, da sie auf Grund der ausschließlich dominanten Vererbung der RAPD- und RAMPO-Marker ohnehin nur ungenau erhoben werden können. Nach LYNCH & MILLIGAN (1994) sind die Ähnlichkeitsindices (P_b) zuverlässigere Schätzwerte für den Vergleich mit Isoenzymdaten, wenn sie in Werte für die genetische Diversität ($1 - P_b$) transformiert werden. Dies haben wir in Tab. 3 getan, indem wir ein Maß für die totale Diversität H_T von $1 - P_b$ ableiteten, wobei die P_b -Werte die Ähnlichkeitsindices zwischen den Herkünften darstellen (Tab. 2 A und C). Das Maß H_S für die Diversität wurde aus $1 - P_b$ gewonnen, wobei die P_b -Werte diesmal die Ähnlichkeit innerhalb der Herkünfte (Tab. 1) repräsentieren. Und schließlich resultiert die Inter-Herkunftskomponente D_{ST} der totalen Diversität aus $H_T - H_S$. Generell ist festzustellen,

dass unsere so veränderten Resultate recht gut mit den Isoenzymdaten der Edelkastanienpopulationen aller anderen Länder übereinstimmen. Die höheren Diversitätswerte auf Grund der RAMPO-Marker können - wie erwähnt - auf die höhere Mutationsrate der repetitiven Sequenzen und deren fehlende selektive Ausmerze zurückgeführt werden.

Tab. 3: Vergleiche der Diversitätsmaße H_T (Gesamtdiversität zwischen den Populationen), H_S (Diversität innerhalb der Populationen) und D_{ST} (Interpopulationskomponente von H_T) von RAPD- und RAMPO-Markern mit Isoenzymdaten aus der Literatur. n gibt die Zahl der untersuchten Populationen bzw. Herkünfte an.

Comparisons of the diversity measures H_T (total between population diversity), H_S (within population diversity) and D_{ST} (between-population component of H_T) of RAPD and RAMPO markers with isozyme data from the literature. n refers to the number of populations or provenances studied.

| Population | Methode | | n | H_T (%) | H_S (%) | D_{ST} (%) | Autoren |
|-------------------------|------------------------|-------|-----|--------------|--------------|-----------------|-----------------------------|
| Osttürkei | Isoenzym- Genmarker | | 3 | 31 | 29 | 2,4 | VILLANI et al. 1991b |
| Westtürkei | | | 10 | 26 | 25 | 1,1 | VILLANI et al. 1991b |
| Nordwest-Spanien | | | 75 | 36 | 31 | 5,2 | PEREIRA-LORENZO et al. 1996 |
| Norditalien | | | 6 | 24 | 23 | 1,1 | VILLANI et al. 1991a |
| Mittelitalien | | | 7 | 23 | 21 | 2 | VILLANI et al. 1991a |
| Süditalien | | | 2 | 19 | 18 | 0,8 | VILLANI et al. 1991a |
| Frankreich | | | 6 | 28 | 23 | 4,6 | MACHON et al. 1996 |
| Südwest- Deutschland | 180-08 | RAPD | 4 | 23 | 20 | 3 | diese Studie |
| | | RAMPO | 4 | 34 | 32 | 2 | |
| | 180-09 | RAPD | 4 | 29 | 28 | 1 | |
| | | RAMPO | 4 | 37 | 36 | 1 | |

Gemittelt über alle Primer und Markertypen resultiert eine Inter-Herkunftskomponente D_{ST} für die Gesamtdiversität von etwa 2%. Dies stimmt mit dem ersten von zwei allgemeinen Befunden der Literatur (HAMRICK et al. 1992) überein, dass Baumarten geringe Differenzierung zwischen den Populationen zeigen. Der zweite Befund jedoch, dass Baumarten hohe genetische Gesamtvariationen aufweisen, ist bei der Edelkastanie hingegen nicht verwirklicht. Die von LEIBENGUTH & SHOGI (1998) ebenfalls mittels RAPD-Markern untersuchten südwestdeutschen Fichten- und Weißtannenbestände weisen mit Werten um 50% eine nahezu doppelt so hohe genetische Diversität auf wie die Edelkastanie (gemittelte Werte der Tab. 3 um 30%). Vielmehr muss die Edelkastanie auf ihrem Weg von der Osttürkei (dem mutmaßlichen Glazialrefugium) nach Westen und schließlich durch rasche menschliche

Verfrachtung in die westmediterranen Länder, möglicherweise verbunden mit selektiver Aufforstung und Pflanzung, eine Verarmung an genetischer Variabilität erfahren haben. Unsere Studie belegt jedoch, dass während ihrer Wanderung oder Verbringung nach Südwestdeutschland eine weitere Reduktion ihrer genetischen Diversität nicht stattgefunden hat.

Danksagung

Diese Untersuchung wurde teilweise finanziert durch die Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF) in Trippstadt/Pfalz im Rahmen des Forschungsvorhabens mit der Universität des Saarlandes „*Molekulargenetische Untersuchungen an ausgewählten Herkünften der Edelkastanie (Castanea sativa MILLER) zwecks Erfassung der genetischen Differenzierung der Herkünfte*“.

4 Literatur

CIFARELLI, R.A.; GALLITELLI, M. & CELLINI, F. (1995): Random amplified hybridization microsatellites (RAHM): isolation of a new class of microsatellite-containing DNA clones. *Nucleic Acid Research*, 23, pp.3802-3803.

DOYLE, J.J. & DOYLE J.L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), pp.11-15.

FINESCHI, S.; TAURCHINI, D.; MÜLLER-STARCK, G. & CONEDERA, M. (1993): Genetic characterization of cultivated varieties of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Southern Switzerland. III. Analysis of RAPDs molecular markers. In: E. ANTOGNOZZI, (organizing ed.): Proceedings of the International Congress on Chestnut, Oct. 20-23, 1993 in Spoleto (Italy), pp.309-313.

FINESCHI, S.; MALVOLTI, M.E.; MORGANTE, M. & VENDRAMIN, G.G. (1994): Allozyme variation within and among cultivated varieties of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Canadian Journal of Forestry Research*, 24, pp.1160-1165.

FRASCARIA N.; SANTI F. & GOUYON P.H. (1993): Genetic differentiation within and among populations of chestnut (*Castanea sativa* MILL.) and wild cherry (*Prunus avium* L.). *Heredity*, 70, pp.634-641.

GEORGES, M.; LEQUARRE, A.-S.; CASTELLI, M.; HAUSET, R. & VASSART, G. (1988): DNA Fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 47, pp.127-131.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. & SHERMAN-BROYLES, S. L. (1992): Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 6, pp.95-124.

JEFFREYS, A.J. & MORTON, D.B. (1987): DNA fingerprints of dogs and cats. *Animal Genetics*, 18, pp.1-15.

KREMER, A. (1994): Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. *Génétiques Sélection Evolution*, 26, pp.105-123.

- LANG, W. (1970): Die Edelkastanien, ihre Verbreitung und ihre Beziehung zu den naturgegebenen Grundlagen (Part. 2). *Mitteilungen der Pollichia*, III. Reihe, 17. Band, S.81-124.
- LEIBENGUTH, F. & SHOJI, F. (1998): Analysis of random amplified polymorphic DNA markers in three conifer species. *Silvae Genetica*, 47, pp.120-126.
- LYNCH, M. (1990): The similarity index and DNA Fingerprinting. *Molecular Biological Evolution*, 7, pp.478-484.
- LYNCH, M. (1991): Analysis of population genetic structure by DNA Fingerprinting. In: T. BURKE, G. DOLF, A.J. JEFFREYS & R. WOLFF (eds.): DNA Fingerprinting: approaches and applications. Birkhäuser-Verlag, Basel, pp.113-126.
- LYNCH, M. & MILLIGAN, B. (1994): Analysis of population genetic structures with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3, pp.91-99.
- MACHON, N.; BUREL, L.; LEFRANC, M. & FRASCARIA-LACOSTE, N. (1996): Evidence of genetic drift in chestnut populations. *Canadian Journal Forestry Research*, 26, pp.905-908.
- MAURER, W. D. & TABEL, U. (1997): Genetic investigation of German sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) provenances. In: Proceedings of the Workshop "Tree Physiology and Genetic Resources of Chestnut", COST G4 Action Multidisciplinary Chestnut Research, Torre Pellice (Italy), July 1997, pp.18-21.
- MICHELI, M.R. & BOVA, R. (1997): Fingerprinting methods based on arbitrarily primed PCR. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 400 pages.
- MÜLLER-STARCK, G. (1991): Survey of genetic variation as inferred from enzyme gene markers. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (eds.): Genetic variation in European populations of forest trees. J. D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp.20-37.
- MÜLLER-STARCK, G.; BARADAT, PH. & BERGMANN, F. (1992): Genetic variation within European tree species. *New Forests*, 6, pp.23-47.
- MURRAY, M.G. & THOMPSON, W.F. (1980): Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8, pp.4321-4325.
- NEI, M. & LI, W.-H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academic Sciences U.S.A.*, 76, pp.5269-5273.
- PEREIRA-LORENZO, S.; FERNANDEZ-LOPEZ, J. & MORENO-GONZALEZ, J. (1996): Variability and grouping of Northwestern Spanish chestnut cultivars. II. Isoenzyme traits. *Journal of the American Society of Horticulture Science*, 21, pp.190-197.
- RICHARDSON, T.; CATO, S.; RAMSER, J.; KAHL, G. & WEISING, K. (1995): Hybridization of microsatellites to RAPD: a new source of polymorphic markers. *Nucleic Acid Research*, 23, pp.3798-3799.
- VILLANI, F. & PIGLIUCCI, M. (1991): Origin and evolution of European chestnut: a population biology perspective. In: G. MÜLLER-STARCK & M. ZIEHE (eds.) Genetic variation in European populations of forest trees. J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp.173-189.

VILLANI, F.; BENEDETTELLI, S.; PACIUCCI, M.; CHERUBINI, M. & PIGLIUCCI, M. (1991a): Genetic variation and differentiation between natural populations of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) from Italy. *In: S. FINESCHI, M.E. MALVOLTI, F. CANNATA & H.H. HATTEMER (eds.):* Biochemical markers in the population genetics of forest trees SPB Academic Publishing bv, The Hague (NL), pp.91-105.

VILLANI, F.; PIGLIUCCI, M.; BENEDETTELLI, S. & CHERUBINI, M. (1991b): Genetic differentiation among Turkish chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations. *Heredity*, 66, pp.131-136.

WEISING, K.; NYBORN, H.; WOLFF, K. & MEYER, W. (1995): DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press, Boca Raton (Florida), 322 pages.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*, 18, pp.6231-6235.

ZOHARY, D. & HOPF, M. (1988): Domestication of plants in the Old World. Clarendon Press, Oxford, 164 pages.

Anschriften der Autoren:

Prof. (em.) Dr. Friedrich Leibenguth und Martin Schiffer, bis 2000 Fachrichtung Genetik der Universität des Saarlandes, D-66041 Saarbrücken

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF), Schloss, D-67705 Trippstadt

Phänologische Untersuchungen zum Blühverhalten von Klonen der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) in den beiden rheinland-pfälzischen Generhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg

WERNER D. MAURER, ECKART BEUTEL UND UWE TABEL

Keywords: Wild cherry, *Prunus avium*, clonal gene conservation seed orchards, flowering process, flowering date, flowering termination, seed harvesting

Abstract

Title of the paper: A phenological study on the flowering behavior of wild cherry (*Prunus avium* L.) in the two Rhineland-Palatinate clonal gene conservation seed orchards Lauterecken and Saarburg.

In order to get an insight into the flowering process of wild cherry (*Prunus avium* L.) clones growing in the two Rhineland-Palatinate gene conservation seed orchards Lauterecken and Saarburg, a phenological study was carried out on this subject in early spring 1998. Seed orchard Lauterecken includes 148 clones in 10-fold replicate blocks originating from occurrences that grow in elevations up to 400 m a.s.l.. In seed orchard Saarburg graftings of 93 clones are planted in 10 replications which originate from occurrences that grow above 400 m a.s.l.. For this study 3 ramets per clone were analyzed in four-day-intervals for (i) the qualitative trait "flushing status of the blossoms" together with (ii) the quantitative trait "amount of blossoms on the tree". It could be concluded from the results that the clones present in the two seed orchards differ more or less regarding the beginning of blossoming as well as the duration of blossoming. Most important, an overlapping period of time was observed when more than ¾ of the clones were in blossom. Thus pollination and fertilization of most of the blossoms is guaranteed. Even this study is the only one performed so far for these two wild cherry seed orchards, it basically confirms that both seed orchards agree with the legal regulations in view of harvesting seed crops.

Schlagwörter: Vogelkirsche, *Prunus avium*, Generhaltungssamenplantagen, Blühverlauf, Blühzeitpunkt, Blühabschluss, Saatgutbeerntung

Zusammenfassung

Für die beiden rheinland-pfälzischen Generhaltungsklonsamenplantagen für Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) - im Forstamt Lauterecken mit Pflanzlingen von Vorkommen aus Bereichen des Landes bis 400 m ü. NN (148 Klone in 10-facher Wiederholung) sowie im Forstamt Saarburg mit Pflanzlingen von Vorkommen oberhalb 400 m ü. NN (93 Klone in 10-facher Wiederholung) - wurde im Frühjahr 1998 eine Studie zum Blühverhalten der eingebrachten Klonsamenpflanzen durchgeführt. Bei dieser Untersuchung wurden an jeweils 3 Geschwistern eines jeden Klons (i) als quantitatives Merkmal der Blütenzustand und als (ii) qualitatives Merkmal der Blütenbesatz am Baum in viertägigen Zeitintervallen aufgenommen. Hauptergebnis dieser Untersuchung ist die Feststellung, dass für die verschiedenen Klone zwar unterschiedliche Zeitpunkte des Einsetzens der Blüte wie auch Unterschiede in der Blühdauer ermittelt wurden, es aber während der Blüte einen Zeitraum von ca. 2 Wochen gab, während dem mehr als ¾ aller Klone Blühbesatz aufwies. Auch wenn es sich bei der vorliegenden Blühbonitur nur um eine einmalige stichprobenartige phänologische Aufnahme handelt, so bestätigt diese letztlich, dass beide Wildkirschen-Samenplantagen die gesetzlichen Vorgaben hinsichtlich der Beerntung von Saatgut erfüllen.

1 Einleitung

Forstliche Samenplantagen sind gezielt zur Saatgutproduktion angelegte Pflanzungen von genetisch wertvollen Individuen unterschiedlicher Baumarten (siehe hierzu in diesem Band LEINEMANN et al. „*Genetische Kontrolle von Samenplantagen mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern*“). In Rheinland-Pfalz dienen diese Flächen, die bei der Umsetzung des landesspezifischen Genressourcenprogramms im Rahmen von *ex situ*-Massnahmen mehrheitlich als Generhaltungsklonsamenplantagen eingerichtet werden, zudem der Erhaltung und Sicherung von seltenen und gefährdeten Baumarten (MAURER & TABEL 1995, 2002). Zu solchen Baumarten zählt auch die Vogelkirsche (*Prunus avium* L.), die wegen ihrer ökologischen, waldbaulichen und wirtschaftlichen Bedeutung (z.B. BECK 1976, 1981; OTTO 1987; WILHELM & RAFFEL 1993; NÜBLE 1998) auf nationaler Ebene ebenfalls besondere Beachtung bei Generhaltungsmaßnahmen erfährt (PAUL et al. 2000), dies insbesondere mit Blick zum einen hinsichtlich der Gefährdung der Art durch Bastardierung mit Kultursorten über die Jahrhunderte hinweg, und zum anderen wegen ihres Vorhandenseins ausschließlich als Mischbaumart und in Kleinvorkommen (KLEINSCHMIT et al. 1996; KLEINSCHMIT & STEPHAN 1998; STEPHAN 1999). So sind für Rheinland-Pfalz aus den Schwerpunktsvorkommen im Lande zu Beginn der 90er Jahre zwei Klonsamenplantagenflächen mit Vorkommen aus dem planaren und kollinen bzw. aus dem (sub)montanen Höhenstufenbereich im FA Lauterecken bzw. im ehemaligen FA Saarburg-West (nunmehr Saarburg) angelegt worden (siehe hierzu auch den Beitrag in diesem Band von KOWNATZKI & MAURER „*Charakterisierung und Identifikation von Vogelkirschklonen (Prunus avium L.) in zwei Generhaltungsklonsamenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern*“).

Mit Blick auf eine stets hohe genetische Qualität der Saatgutproduktion in einer Samenplantage sollten grundsätzlich die Bedingungen erfüllt sein, dass (i) jeder Baum über die Jahre hinweg einen angemessenen Beitrag zum Saatgut liefert, (ii) der Beitrag eines jeden Baums als Saat- und Pollenelter gewährleistet bleibt und (iii) alle Bäume letztlich zur gleichen Zeit abblühen und rekombinieren können (GROTEHUSMANN 2001). Der Gesetzgeber hat diese Vorgaben bei den Verwaltungsvorschriften über die Zulassung von Ausgangsmaterial für forstliches Vermehrungsgut berücksichtigt, indem er eine Beerntung von Samenplantagen mit nachfolgendem Inverkehrbringen des Vermehrungsguts nur dann gestattet, wenn mindestens die Hälfte der Klone ausreichend und zur gleichen Zeit geblüht hat (ANONYMUS 1985). So ist zwar als erstes Kriterium für eine Beerntung die Blüte verhältnismäßig leicht zu erkennen, die Feststellung eines synchron ablaufenden Blühverlaufs in einer Samenplantagenfläche ist jedoch mit einem wesentlich höheren Aufwand verbunden (GROTEHUSMANN 2001).

Um in dieser Hinsicht einen ersten Einblick in das Blühgeschehen der Vogelkirsche in den beiden rheinland-pfälzischen *Prunus avium*-Klonsamenplantagen zu gewinnen, wurde im Frühjahr 1998 eine phänologische Aufnahme zum Blühverlauf durchgeführt. Bei dieser Inventur wurden mit Aufnahmen im 4-Tage-Rhythmus der Blühbeginn und -abschluss sowie die daraus abgeleitete Blühdauer der einzelnen Klone erfasst. Diese Untersuchung erfolgte auch vor dem Hintergrund, dass die Vogelkirsche als Baumart nunmehr den neuerlichen Regelungen unterliegt, die in der Richtlinie 1999/105/EG des Rats vom 22. Dezember 1999 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut (ANONYMUS 2000, 2001) vorgegeben sind. Die nationale Umsetzung der Richtlinie findet im Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) vom 22. Mai 2002 ihren Niederschlag (ANONYMUS 2002).

Die Ergebnisse dieser blühphänologischen Untersuchung werden im Folgenden dargestellt. Die vorliegende Untersuchung erfolgte u.a. im Rahmen des Werkvertrags: *„Durchführung einer Blühbonitur: Erfassung des diesjährigen Blühverlaufs (1998) in den Erhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg in jeweils drei Wiederholungen der vorhandenen Klone mit dem Ziel der Bestimmung des Blühbeginns und -abschlusses sowie der Blühdauer der einzelnen Klone, von denen die einzelnen Ortets aus verschiedenen Höhenbereichen des Landes Rheinland-Pfalz stammen“*.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungszeitraum

Die phänologische Untersuchung in den beiden Generhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg fand im Frühjahr 1998 von Ende März bis Mitte Mai statt, die Aufnahmen wurden bis zum Ende der Blüte Mitte Mai im 4-Tage-Rhythmus (aus organisatorischen Gründen zwischen 3. und 4. Aufnahme nur 3 Tage) durchgeführt. Da mit diesem Zeitintervall beide Flächen wegen der umfangreichen Probandenzahl wie auch infolge der räumlichen Entfernung zueinander nicht von einer einzelnen Person am gleichen Tag aufgenommen werden konnten, wurde die Inventur in der Saarburger Fläche jeweils einen Tag später als in der Samenplantage Lauterecken vorgenommen.

Die Bonitur wurde ausschließlich von einem der Autoren (E.B.) durchgeführt, so dass auf den beiden Samenplantagenflächen über den gesamten Erfassungszeitraum hinweg eine ebene Einschätzungen des Blühzustands zu den verschiedenen Zeitpunkten gewährleistet ist.

2.2 Untersuchungsmaterial

Die wesentlichen Angaben zu den beiden Samenplantagenflächen sind in der nachstehenden Tab. 1 enthalten. Angaben zu den abgepfropften Mutterbäumen hinsichtlich ihres jeweiligen Standorts sind im Anhang sowie in Abb. 1 des vorne genannten Beitrags von KOWNATSKI & MAURER zu finden.

Aus statistischen Gründen waren pro Klon jeweils drei Kloneschwister (Ramets) zu bonitieren. Um den großen Arbeitsaufwand so gering wie möglich zu halten, wurden unmittelbar benachbarte Wiederholungspartellen, d.h. in Lauterecken die Blöcke 6, 9 und 10 sowie in Saarburg die Blöcke 3, 4 und 5 für die Bonitur festgelegt.

Tab. 1: Übersicht über charakteristische Daten bei der Anlage der beiden rheinland-pfälzischen Generhaltungsklonsamenplantagen für Vogelkirsche.

An overview of characteristic data when establishing the two Rhineland-Palatinate wild cherry clonal gene conservation seed orchards.

| | Generhaltungsklonsamenplantage | |
|---|--|---|
| <i>gelegen im Forstamt</i> | Lauterecken | Saarburg |
| <i>Forstrevier</i> | Hinzweiler | Tobiashaus |
| <i>Anlage im</i> | Frühjahr 1990 | Frühjahr 1991 |
| <i>Größe (ha)</i> | 3,7 | 4,6 |
| <i>Verband</i> | 5 x 5 m | 7 x 7 m |
| <i>Klonanzahl</i> | 148 | 93 (nunmehr 92) |
| <i>Wiederholungen/Ramet</i> | 10 | 10 |
| <i>Mutterbäume stocken im Bereich der</i> | planaren und kollinen Höhenstufe (bis 400 m ü. NN) | (sub)montanen Höhenstufe (oberhalb 400 m ü. NN) |

In diesen Bereichen ausgefallene Bäume wurden, soweit möglich, durch vorhandene Ersatzbäume in den direkt angrenzenden Wiederholungsblöcken ergänzt. Zum Zeitpunkt der Aufnahme war der aus dem FA Hachenburg stammende Klon 238 allerdings in allen 10 Blöcken der Samenplantage Saarburg ausgefallen.

2.3 Boniturmethode und Datenauswertung

2.3.1 Boniturschema

Der Stand des Blühverlaufs in den beiden Samenplantagenflächen von Blühbeginn bis Blühende wurde über zwei Parameter folgendermaßen festgehalten:

(I) **qualitativ** bezüglich des Blütenzustands mit den Boniturnoten:

- 0: Blüte geschlossen,
- 1: Blüte aufbrechend,
- 2: Blüte entfaltet;

(II) **quantitativ** bezüglich des Blütenbesatzes am Einzelbaum in 4 Stufen mit den Boniturnoten:

- 1: Anteil bis zu einem Drittel der unter (I) genannten Blütenzustände,
- 2: Anteil zwischen einem und zwei Drittel,
- 3: Anteil von mehr als zwei Drittel,
- 4: volles Erblühen.

Als **Blühkoeffizient B** wurde eine variable Vergleichsgröße definiert, die sich aus den Werten der beiden Parameter nach der folgenden Formel zusammensetzt:

$$B = (\text{Zustand 0} \times \text{Besatz}) + (\text{Zustand 1} \times \text{Besatz}) + (\text{Zustand 2} \times \text{Besatz}).$$

B nimmt den Minimumwert Null dann an, wenn alle Blütenknospen am Einzelbaum geschlossen sind; bei voller Blüte hat **B** den Maximalwert 8.

Für einen jeden Klon wurde aus den jeweiligen Blühkoeffizienten der drei Kloneschwister ein mittlerer Blühkoeffizient als arithmetisches Mittel errechnet.

Der Blühverlauf wurde für jeden Einzelbaum mittels der Parameter „**Blühbeginn**“, „**Blühabschluss**“ und „**Blühdauer**“ bestimmt. Es wurde festgelegt als:

- **Blühbeginn** das Datum der Aufnahme zu dem Zeitpunkt, an dem zum ersten Mal der *Blütenzustand 2 (entfaltet) mit dem Besatz $\leq 1/3$* festgestellt wird;
- **Blühabschluss** das Datum der Aufnahme zu dem Zeitpunkt, an dem zum ersten Mal der *Blütenzustand 2 (entfaltet) mit dem Besatz voll* festgestellt wird und
- **Blühdauer** die Anzahl der Tage zwischen festgestelltem Blühbeginn und Blühabschluss.

2.3.2 Auswertung

Für jeden Klon wurde aus den Einzelwerten der berechneten Blühkoeffizienten der untersuchten Kloneschwister ein mittlerer Blühbeginn, ein mittlerer Blühabschluss sowie eine mittlere Blühdauer als jeweiliges arithmetisches Mittel berechnet. Dem entsprechenden Datum wurde dann jeweils eine bei 1 beginnende Rangziffer zugeordnet.

Zur Beschreibung des Blühverlaufs ergeben sich daraus als weitere Parameter, bezogen auf einen Klon bzw. auf die jeweilige Versuchsfläche,

- **der früheste und späteste Zeitpunkt des Blühbeginns** sowie die **zeitliche Spanne des Blühbeginns**;
- **der früheste und späteste Zeitpunkt des Blühabschlusses** sowie die **zeitliche Spanne des Blühabschlusses** und
- die **geringste und längste** sowie die **mittlere Blühdauer**.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Aufnahmezeitpunkte während des Blühverlaufs

Um das Einsetzen des Blühvorgangs in den beiden Vogelkirschen-Samenplantagen Lauterecken und Saarburg für das Jahr 1998 rechtzeitig zu erfassen, fanden Ende März bzw. zu Beginn April jeweils zwei Kontrollgänge durch die Lauterecker (am 27.3. und 31.3.) bzw. durch die Saarburger Fläche (am 28.3. und 1.4.) statt, bei denen die Entwicklung der Blütenknospen an den Untersuchungsbäumen überprüft wurde.

Die nachstehende Tab. 2 gibt die wesentlichen Daten für Blühbeginn, -abschluss und -dauer mit Bezug auf den Einzelbaum bzw. Klon wider. Mit dem Baum 257/3 (Bezeichnung im folgenden für einen Einzelbaum: Klon/Wiederholungsparzelle) setzte am 1. April die Blüte in der Saarburger Klonsamenplantage ein, den Blühabschluss zeigten die Bäume 226/5, 250/3 und 265/3 für diese Fläche zum 16.5. an.

Tab. 2: Eckwerte zum Blühverlauf in den Vogelkirschen-Erhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg im Frühjahr 1998.

Benchmark figures characterizing the flowering process in the wild cherry clonal conservation seed orchards Lauterecken and Saarburg as observed in spring 1998.

| Samenplantage | Datum Blühbeginn | | | Datum Blühabschluss | | | Blühdauer (Tage) | | | |
|--------------------------------------|------------------|------------|---------------|---------------------|------------|---------------|------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | frühe-ster | späte-ster | Spanne (Tage) | frühe-ster | späte-ster | Spanne (Tage) | Mittel | St.A. ¹⁾ | min ²⁾ | max ³⁾ |
| Bezug Einzelbaum (Einzelwert) | | | | | | | | | | |
| Lauterecken | 4.4. | 4.5. | 30 | 10.4. | 16.5. | 36 | 16,1 | 5,3 | „0“ ^{**} | 26 |
| Saarburg | 1.4. | 27.4. | 26 | 11.4. | 9.5. | 28 | 14,2 | 5,3 | „0“ ^{**} | 24 |
| Bezug Klon (Mittelwert) | | | | | | | | | | |
| Lauterecken | 4.4. | 2.5. | 28 | 16.4. | 14.5. | 28 | 16,0 | 4,3 | 2 | 23 |
| Saarburg | 3.4. | 25.4. | 22 | 15.4. | 7.5. | 22 | 14,2 | 4,0 | 4 | 22 |

Abkürzungen:

St.A. ¹⁾, Standardabweichung; min²⁾, max³⁾: min-/max-Wert;
 „0“^{**}) Erklärung im Abschnitt 3.2.3 Blühdauer

In der Klonsamenplantage Lauterecken bestimmte der Baum 8/5 als der am 4.4. am frühesten blühende die einsetzende Blüte auf dieser Fläche, Baum 128/9 zeigte hier den Blühabschluss zum 16.5. an. Bis zum Blühabschluss wurde - einschließlich der Kontrollphase - der Blühverlauf über eine Zeitspanne von 50 Tage hinweg bis zum 16. Mai mit jeweils 14 Aufnahmen je Samenplantagenfläche dokumentiert.

Als Beispiel für den Verlauf der Blüte bei den auf den beiden Samenplantagen vorhandenen Vogelkirschbäumen ist in der Abb. 1 auf der folgenden Seite der Blühverlauf der Klone 1, 2 und 3 graphisch dargestellt.

Aus diesen Darstellungen sind die Zeitpunkte des individuellen Blühbeginns (B = 0) und Blühabschlusses (B = 8) eines jeden der drei untersuchten Geschwisterbäume des betreffenden Klons ersichtlich. Es lässt sich hieraus leicht erkennen, wann das Einsetzen der Blüte vonstatten ging bzw. der Blühabschluss erreicht wurde und inwieweit dies gleichzeitig geschah oder nicht.

Für das jeweilige Individuum spiegelt der aus den errechneten Zwischenwerten von B zwischen 0 und 8 resultierende charakteristische Kurvenverlauf den entsprechenden Blütenbesatz mit ggf. unterschiedlichen Blütenzuständen zu einem bestimmten Zeitpunkt wider; zudem gibt er an, wie synchron die Blüte der drei Individuen im Vergleich zueinander verläuft. Dargestellt ist ebenfalls ein errechneter Mittelwert, welcher den jeweiligen Klon auf dieser Basis repräsentiert.

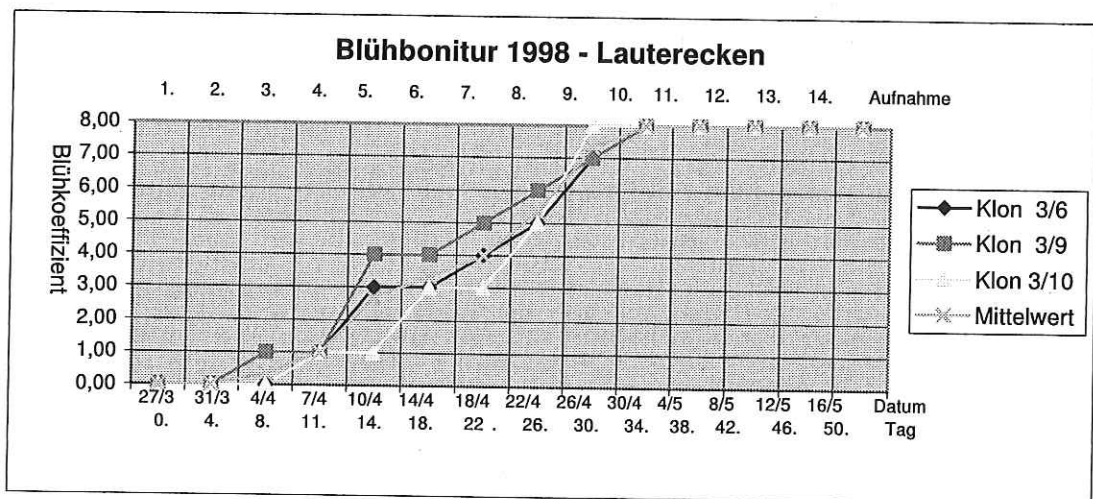
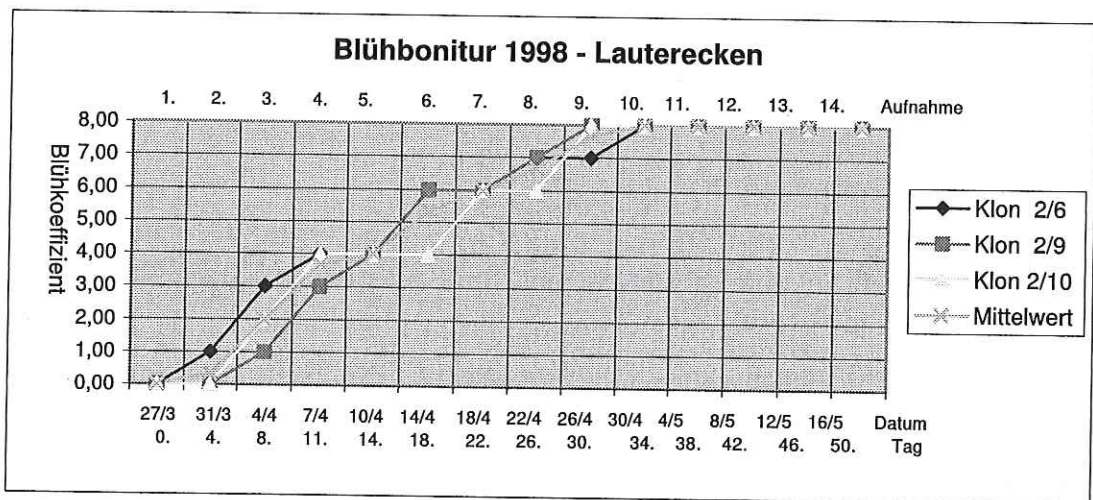
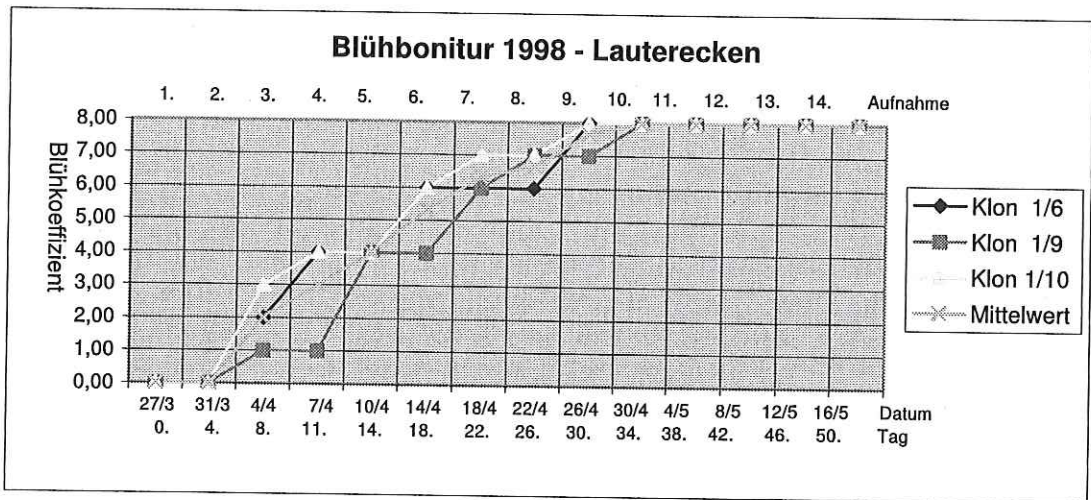


Abb. 1: Graphische Darstellung des zeitlicher Blühverlaufs der Klone 1, 2 und 3 mit den jeweiligen 3 Ramets in den Wiederholungspartellen 6, 9 und 10 sowie der berechneten Mittelwerte aus den Einzelbäumen.

Fig. 1: Graphical illustration of the flowering process for the clones no. 1, 2 and 3 represented by the respective ramets in the replicate parcels 6, 9 and 10 as well as the mean value calculated by averaging the data of the individual trees.

3.2 Der Blühverlauf in den beiden Samenplantagenflächen

Die für den Blühverlauf auf den beiden Flächen charakteristischen Eckwerte sind in der o.a. Tab. 2 aufgeführt. Für Blühbeginn und Blühabschluss ist in der nachstehenden Abb. 2 in Form von Balkendiagrammen graphisch dargestellt, wie viele Einzelbäume zu welchem Zeitpunkt mit der Blüte einsetzen bzw. diese abschlossen. In ähnlicher Darstellung gibt die Abb. 3 die jeweiligen Anzahlen an Einzelbäumen bezüglich der baumspezifischen Blühdauer in Tagen an.

3.2.1 Blühbeginn

Wie in der linken Spalte der Tab. 2 aufgeführt, setzt der Blühbeginn in der Saarburger Samenplantage mit Baum 257/3 am 1.4. um einen Aufnahmetag früher ein als in der Saarburger Fläche am 4.4.; dieser Unterschied ergibt sich allerdings nur durch einen einzigen Baum. Der Zeitraum des Blühbeginns zieht sich danach in Saarburg über 26 Tage hin bis zum 27.4., an dem der spätestblühende Baum festgestellt wird. In der Lauterecker Fläche dauert die Phase des Blühbeginns bis zum 4.5. über 30 Tage an. Bezogen auf den Einzelbaum ist der Vorgang des vollständigen Erblühens aller Vogelkirschen auf der Saarburger Fläche um vier Tage kürzer als auf der Lauterecker Fläche, mit Bezug auf (gemittelte) Klone um 6 Tage.

Wie der Darstellung in Abb. 2 zu entnehmen ist, setzt der Blühbeginn am 4.4./5.4. auf beiden Flächen in etwa gleichzeitig mit einer Intensität von jeweils etwa 20% der Bäume ein; bis zum ersten Drittel des Monats April (10./11.4.) stehen nahezu zwei Drittel der Bäume in Blüte. Am 27.4. (Saarburg) bzw. 4.5. (Lauterecken) ist dann der jeweils späteste Baum erblüht.

3.2.2 Blühabschluss

Wie in der mittleren Spalte von Tab. 2 aufgeführt, setzt der Blühabschluss mit dem 10.4. in der Lauterecker und dem 11.4. in der Saarburger Samenplantage etwa zum gleichen Zeitpunkt ein. Die Phase, bis die Blüte der jeweils spätestblühenden Bäume zum Abschluss gekommen ist, dauert jedoch auf der Lauterecker Fläche mit 36 Tagen um 8 Tage deutlich länger an als in der Saarburger Samenplantage mit 28 Tagen (Saarburg am 9.5. bzw. Lauterecken am 16.5.). Gemittelt bezogen auf die Klone beträgt der Unterschied 7 Tage. Abb. 2 verdeutlicht, dass am 26./27.4. auf beiden Flächen jeweils eine maximale Anzahl an Bäumen den Blühabschluss erreicht. D.h., dass in Saarburg für 80% der Bäume die Blüte abgeschlossen ist, auf der Lauterecker Fläche dann nur 70% der Bäume ihren Blühabschluss erreicht haben. Zum darauffolgenden Aufnahmezeitpunkt am 30.4. sind dann aber jeweils 95% aller Bäume aufgeblüht. Im Vergleich der beiden Flächen miteinander läuft der Blühabschluss vom Zeitrahmen her letztlich mehr oder weniger deckungsgleich ab.

3.2.3 Blühdauer

Die rechte Spalte der Tab. 2 gibt das zeitliche Ausmaß der Blühdauer in den beiden Samenplantagen an. Auf den Einzelbaum bezogen erreicht dieses als Maximalwert 26 Tage auf der Lauterecker Fläche für die Bäume 17/6, 20/10, 44/6 69/9 und 93/6 bzw. 24 Tage auf der Saarburger Fläche für den Baum 226/5. Die kürzeste Blühdauer liegt formal bei „0“ Tagen, d.h. dass zum gleichen Aufnahmezeitpunkt die Kriterien für Blühbeginn und Blühabschluss festgestellt wurden. Die wirkliche Blühdauer liegt notwendigerweise im Bereich von 4 Tagen, was infolge der 4(3)-Tage-Aufnahmeintervalle allerdings nicht genauer bestimmt werden konnte. Eine solche extreme Kurzblüte war bei den Bäumen 31/9, 54/10, 75/9, 78/10, 81/5 und 121/9 in Lauterecken sowie in Saarburg bei den Bäumen 210/5, 216/4, 221/6, 223/5 und 225/5 zu beobachten (als mutmaßliche Erklärung für dieses vom Gesamtuntersuchungskollektiv ganz deutlich abweichende Verhalten könnte womöglich die individuelle Vitalität der Bäume hinsichtlich eines geminderten Gesundheitszustands eine Rolle spielen; diese Fragestellung wurde aber nicht weiter verfolgt).

Die Abb. 3 fasst die Befunde der einzelbaumweise ermittelten Tage der Blühdauer in einem Überblick zusammen. Somit ergibt sich für das Gros der Bäume auf beiden Flächen für die Dauer der Blüte ein Zeitraum zwischen einer und drei Wochen. Allerdings stehen dort zudem jeweils einige wenige extrem kurzblühende bzw. über 3 Wochen hinaus in Blüte stehende Bäume.

Wie auch für eine Reihe anderer Merkmale kann die unterschiedlich lange Blühdauer wie auch die unterschiedliche, zu verschiedenen Zeitpunkten einsetzende Blüte sowie der Blühabschluss letztlich als ein genetisch verankertes Merkmal der in die Samenplantagenflächen eingebrachten Klone interpretiert werden. Die genetischen Informationen für diese spezifischen Eigenschaften wurden von den Stammlinien der Mutterbäume in der Wechselwirkung mit den Bedingungen der jeweiligen Standorte erworben und finden sich in den Pfropflingen wieder.

3.2.4 Herkunftsspezifisches Blühverhalten der Vogelkirschkclone

Die folgende Tab. 3 fasst die jeweiligen Beobachtungen zu Blühbeginn und Blühabschluss sowie der daraus resultierenden Blühdauer der Vogelkirschkclone hinsichtlich der Herkunft der Mutterbäume aus den verschiedenen Forstamtsbereichen zusammen.

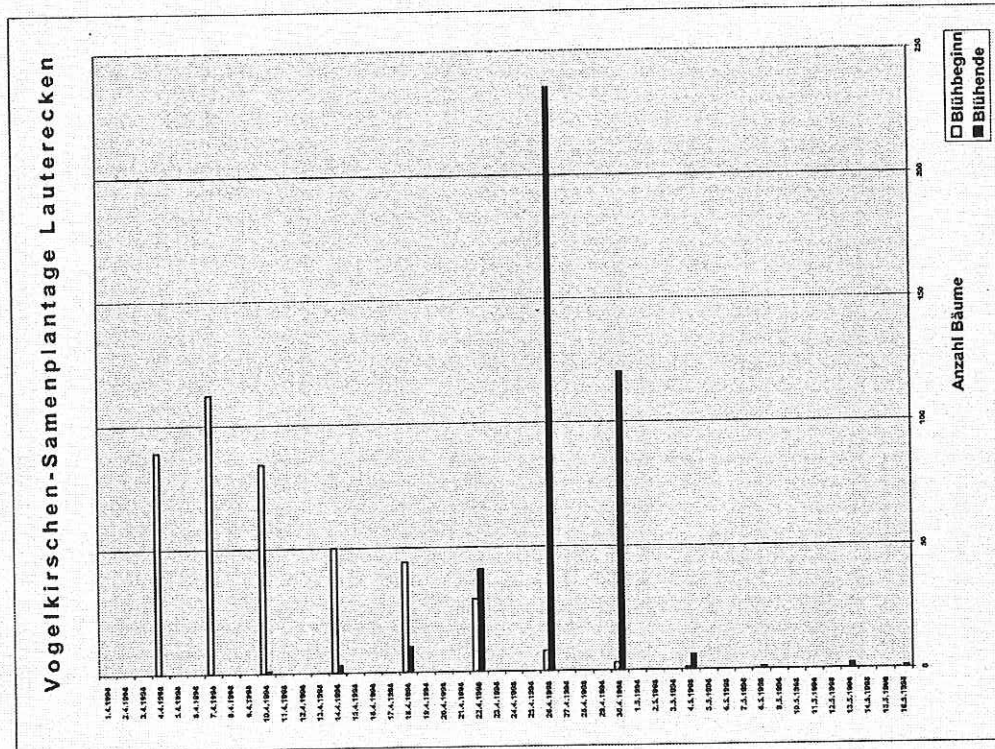
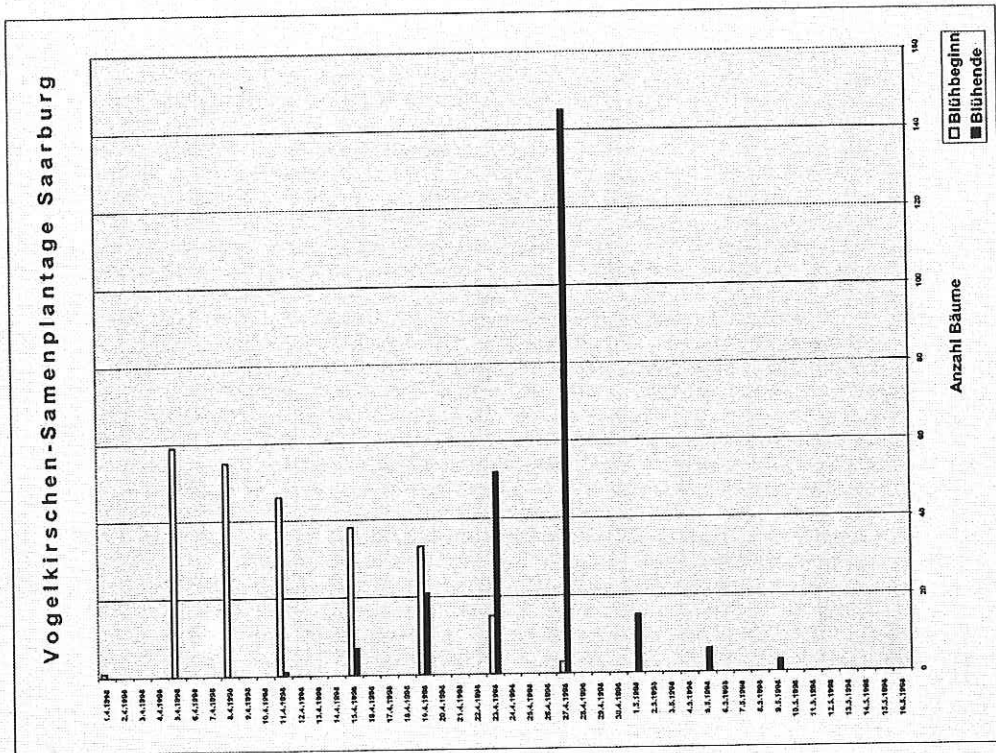


Abb. 2: Übersicht über Blühbeginn (helle Balken) und Blühabschluss (dunkle Balken) in den beiden Vogelkirschen-Samenplantagen Lauterecken (links) und Saarburg (rechts) im Frühjahr 1998; dargestellt sind die Anzahlen der Einzelbäume zum jeweiligen Aufnahmetermin.

Fig. 2: Graphical illustration of the beginning (light bars) and termination (dark bars) of blossoming in the two wild cherry seed orchards Lauterecken (left graph) and Saarburg (right graph) as determined in spring 1998; the numbers of individual trees are presented at the given surveying dates.

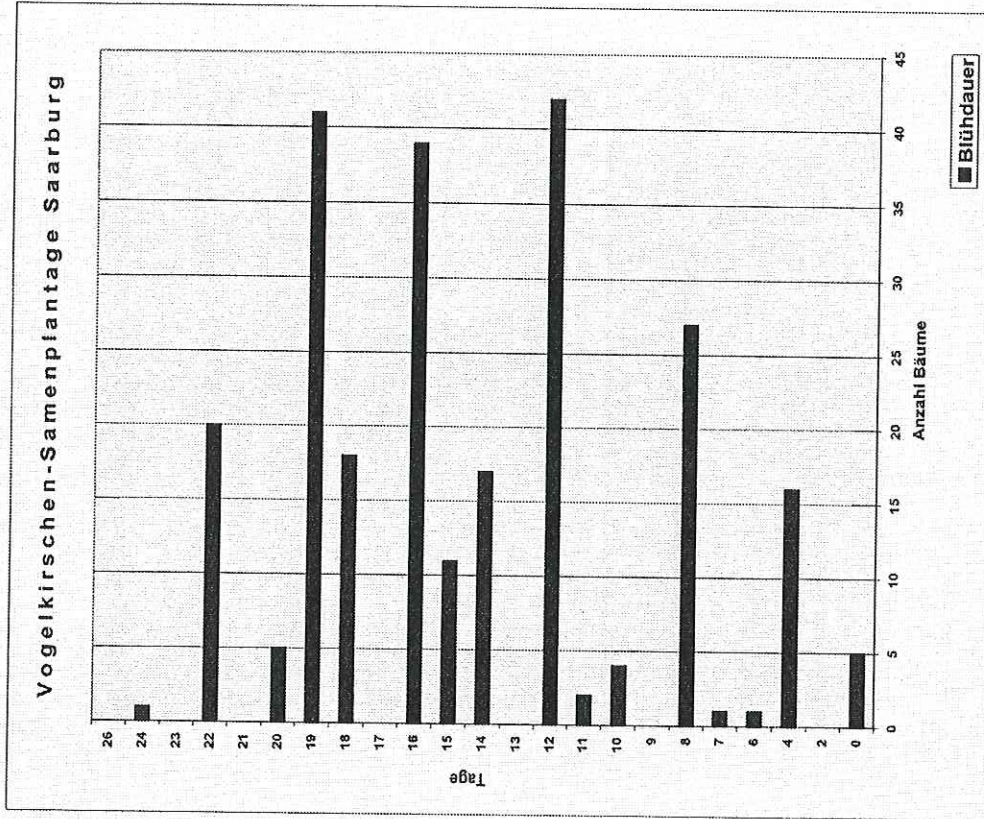
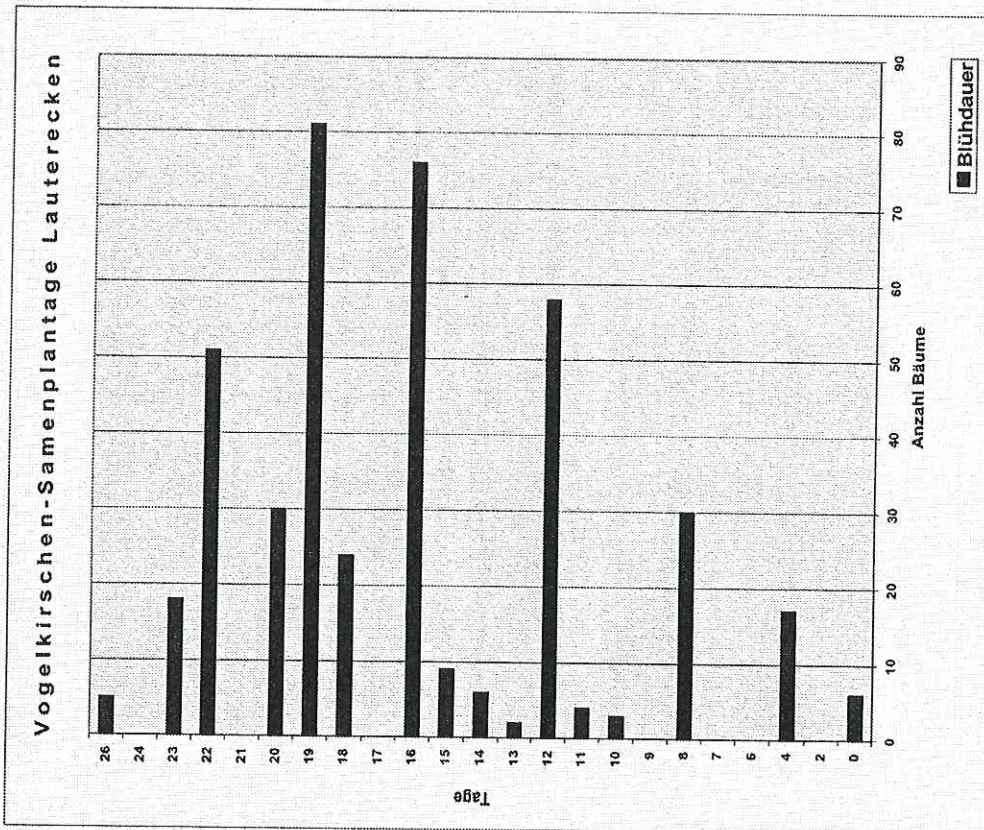


Abb. 3:

Graphische Darstellung der Blühdauer in den beiden Vogelkirschen-Samenplantagen Lauterecken (links) und Saarburg (rechts) im Frühjahr 1998; dargestellt sind die Anzahlen der Einzelbäume zum jeweiligen Aufnahmetermin.

Fig. 3:

Graphical illustration of the duration of blossoming in the two wild cherry seed orchards Lauterecken (left graph) and Saarburg (right graph) as determined in spring 1998; the numbers of individual trees are presented at the given surveying dates.

Tab. 3: Übersicht über das Blühverhalten der Vogelkirschkclone in den beiden Erhaltungsklonsamenplantagen Lauterecken und Saarburg in Abhängigkeit von der Herkunft der Mutterbäume.
An overview of the flowering behaviour of the wild cherry clones in the two clonal seed orchards Lauterecken and Saarburg in relation to the origin of the mother-trees.

| Herkunfts-Forstämter | Anzahl der Klone in GEKSP ^{*)} | Datum Blühbeginn | | | Datum Blühabschluss | | | Blühdauer (Tage) | | | |
|---|---|------------------|------------|---------------|---------------------|------------|---------------|------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | | frühe-ster | späte-ster | Spanne (Tage) | frühe-ster | späte-ster | Spanne (Tage) | Mittel | St.A. ¹⁾ | min ²⁾ | max ³⁾ |
| <i>Vogelkirsch-Mutterbäume aus Lagen bis 400 m ü. NN; Klonsamenplantage Lauterecken</i> | | | | | | | | | | | |
| Bellheim | 3 | 7.4. | 22.4. | 15 | 26.4. | 30.4. | 4 | 17,7 | 4,9 | 4 | 23 |
| Birkenfeld | 2 | 10.4. | 22.4. | 12 | 30.4. | 30.4. | 0 | 15,2 | 5,2 | 8 | 20 |
| Hagenbach | 7 | 4.4. | 18.4. | 14 | 18.4. | 30.4. | 12 | 16,7 | 4,1 | 4 | 23 |
| Irrel | 5 | 4.4. | 18.4. | 14 | 26.4. | 30.4. | 4 | 17,8 | 3,8 | 12 | 26 |
| Kandel | 6 | 4.4. | 10.4. | 6 | 14.4. | 30.4. | 16 | 18,0 | 3,4 | 10 | 26 |
| Kasel | 13 | 4.4. | 26.4. | 22 | 14.4. | 30.4. | 16 | 17,7 | 4,5 | „0 ^(**) | 23 |
| Kusel | 22 | 4.4. | 26.4. | 22 | 14.4. | 30.4. | 16 | 16,8 | 5,9 | „0 ^(**) | 26 |
| Saarburg | 21 | 4.4. | 30.4. | 26 | 10.4. | 30.4. | 20 | 16,5 | 5,5 | „0 ^(**) | 26 |
| Wittlich | 4 | 4.4. | 22.4. | 18 | 22.4. | 26.4. | 4 | 12,4 | 6,2 | „0 ^(**) | 22 |
| Zweibrücken | 64 | 4.4. | 4.5. | 30 | 18.4. | 16.5. | 28 | 15,2 | 4,8 | „0 ^(**) | 26 |
| <i>Vogelkirsch-Mutterbäume aus Lagen oberhalb 400 m ü. NN; Klonsamenplantage Saarburg</i> | | | | | | | | | | | |
| Adenau | 8 | 5.4. | 23.4. | 18 | 19.4. | 1.5. | 12 | 12,4 | 4,9 | 4 | 19 |
| Birkenfeld | 20 | 5.4. | 23.4. | 18 | 19.4. | 9.5. | 20 | 12,5 | 5,9 | „0 ^(**) | 24 |
| Hachenburg | 16 | 5.4. | 27.4. | 22 | 15.4. | 1.5. | 16 | 13,2 | 5,1 | 4 | 22 |
| Honerath | 9 | 5.4. | 23.4. | 18 | 19.4. | 9.5. | 20 | 15,8 | 4,2 | 8 | 22 |
| Idar-Oberstein | 2 | 5.4. | 23.4. | 18 | 19.4. | 1.5. | 12 | 13,3 | 4,0 | 4 | 18 |
| Kusel | 8 | 1.4. | 23.4. | 22 | 15.4. | 1.5. | 16 | 12,4 | 5,4 | 4 | 19 |
| Rennerod | 6 | 5.4. | 27.4. | 22 | 19.4. | 9.5. | 20 | 14,6 | 2,9 | 8 | 20 |
| Rhaunen | 15 | 5.4. | 19.4. | 14 | 11.4. | 5.5. | 24 | 17,1 | 3,8 | 6 | 22 |
| Simmern | 5 | 5.4. | 15.4. | 10 | 15.4. | 27.4. | 12 | 15,9 | 3,5 | 10 | 22 |
| Wallmerod | 3 | 5.4. | 19.4. | 14 | 23.4. | 1.5. | 8 | 16,2 | 4,4 | 4 | 22 |

Abkürzungen: GEKSP*); Erhaltungsklonsamenplantage;
 „0^(**)“: Erklärung im Abschnitt 3.2.3 Blühdauer
 St.A.¹⁾, Standardabweichung min²⁾, max³⁾: min-/max-Wert

Bezüglich des frühesten Einsetzens der Blüte unterscheiden sich die „Tief lagen-Mutterbäume“ mit Klompflanzen in der Lauterecker Samenplantage nur wenig von den „Hochlagen-Mutterbäumen“ mit Klompflanzen in der Saarburger Samenplantage.

Hingegen weisen die am spätesten blühenden Tief lagen-Pflanzen mit dem Einsetzen der Blüte zwischen dem 10.4. (FA Kandel) und 4.5. (FA Zweibrücken) eine Spreitung von 3½ Wochen auf. Für die Hochlagen-Pflanzen in der Saarburger Fläche ist diese mit 14 Tagen [15.4. (FA Simmern) und 27.4. (FA Hachenburg / Rennerod)] um 1½ Wochen kürzer. Die Spanne von frühest- und spätestblühenden Pflanzen liegt zwischen 6 Tagen (FA Kandel) und 30 Tagen (FA Zweibrücken) für die Tief lagen-Pflanzen in der Lauterecker Fläche und für die

Hochlagen-Pflanzen in Saarburg zwischen 10 Tagen (FA Simmern) und 22 Tagen (FA Hachenburg).

Hinsichtlich des frühesten Blühabschlusses verhalten sich die Hochlagen- und Tieflagen-Klone in etwa analog. Um den 10./11.4. kommt es zum ersten Abschluss der Blüte bei Pfropflingen von Mutterbäumen aus dem Tieflagen- (FA Saarburg) bzw. dem Hochlagenbereich (FA Rhaunen). Der späteste Blühabschluss ist bei Tieflagen-Pflanzen aus dem FA Zweibrücken mit dem 16.5. festzustellen, während dies für Hochlagenpflanzen (FA Hachenburg und FA Rhaunen) der 9.5. ist. Für die Tieflagenpflanzen liegt der Schwerpunkt aber ganz deutlich um den 30.4. und für die Hochlagen-Pflanzen mit dem 1.5. im nahezu gleichen Zeitbereich. Die Spanne von frühest- bis spätestblühenden Pflanzen liegt hier zwischen 4 Tagen (FA Bellheim) und 28 Tagen (FA Zweibrücken) für die Tieflagen-Mutterbäume sowie zwischen 8 Tagen (FA Wallmerod) und 24 Tagen (FA Rhaunen) für die Hochlagen-Pflanzen.

Die mittlere Blühdauer liegt in der Lauterecker Samenplantage für die Herkünfte aus den Tieflagen-Forstamtsbereichen zwischen 12,4 Tagen (FA Wittlich) und 18,0 Tagen (FA Kandel). In der Saarburger Fläche mit Herkünften aus den Hochlagen-Herkunftsbereichen beträgt diese 12,4 Tage (FA Adenau) und 17,1 Tage (FA Rhaunen). Daraus resultiert, gemittelt über alle Tieflagen-Mutterbäume, ein Durchschnittswert von 16,5 Tagen und entsprechend für die Hochlagen-Mutterbäume ein Wert von 14,8 Tagen für die Blühdauer. Die Minimumwerte für die mittlere Blühdauer stimmen für beide Kollektive wiederum nahezu überein, während sich für die Lauterecker Tieflagen-Pflanzen für die maximale Blühdauer im Bereich von 22-26 Tagen (Mittel: 24,4 Tage) bzw. die Saarburger Hochlagen-Pflanzen von 18-22 Tage (Mittel: 20,9 Tage) errechnet.

Damit ergibt sich im Vergleich zwischen den hier untersuchten Hoch- und Tieflagen-Pflanzen die eindeutige Tendenz, dass die Hochlagen-Mutterbäume im Durchschnitt eine um einen Tag verringerte Blühdauer aufweisen und auch deren maximale Blühdauer im Durchschnitt um 3-4 Tage verkürzt ist.

Auch diese Befunde sind mit einer offensichtlich genetisch verankerten Anpassung an die unterschiedlichen Bedingungen der Höhenstufenbereiche bis 400 m ü. NN bzw. oberhalb davon in Einklang zu bringen.

3.3 Die Bedeutung des Blühverlaufs in den beiden Samenplantagen für die Saatgutbeerntung

Wie bereits in der Einleitung angesprochen, müssen die Bäume, die in eine für eine Saatgutbeerntung eingerichtete Samenplantage eingebracht worden sind, in etwa zum gleichen Zeitpunkt blühen (GROTEHUSMANN 2001), dies insbesondere mit Blick auf eine hohe genetische Vielfalt im Saatgut, das hier erzeugt werden soll und für dessen Qualität es die entsprechenden gesetzliche Vorgaben gibt (ANONYMUS 2002).

Ohne tiefer in die Einzelheiten der zu Grunde liegenden physiologischen Prozesse eingehen zu wollen, vermehrt sich die Vogelkirsche neben der in ihrem Ausmaß nicht bekannten asexuellen Reproduktion geschlechtlich unter der Kontrolle eines gametophytischen Inkompatibilitätssystems. Dieses wirkt dahingehend, dass nach dem Bestäubungsvorgang die Befruchtung einer Eizelle durch Pollen ausschließlich zwischen kompatiblen Individuen zugelassen wird (Details siehe KOWNATZKI 2002). Da die Pollen von Insekten verbreitet werden, bestimmt die Reichweite des Insektenflugs die Transportweite des Pollens.

Somit wird das reproduktive Geschehen bei der Vogelkirsche bestimmt durch

- (i) das einzelbaumspezifische Inkompatibilitätsverhalten von potenziellen Paarungspartnern,
- (ii) den Insektenflug unter dem Einfluss der frühjahrsmäßigen Wetterbedingungen sowie
- (iii) die von Baum zu Baum unterschiedliche Blüte, deren jeweiliges Einsetzen und jeweilige Dauer, und hieraus resultierend
- (iv) insbesondere das zeitliche Überlappen des offensichtlich genetisch verankerten individuellen Blühverhaltens der Vogelkirschbäume.

Bezüglich des zeitlichen Überlappens der Blüte bei den einzelnen Klonpflanzen ergeben sich für die beiden Vogelkirsch-Samenplantagen Lauterecken und Saarburg die Übersichten, wie sie mittels Balkendiagrammen schematisch auf der nächsten Seite in der Abb. 4 für die Lauterecker und auf der übernächsten Seite in der Abb. 5 für die Saarburger Fläche gezeigt sind. Der Übersicht halber wurden für den Blühbeginn und das Blühende eines jeden Klons die jeweiligen Mittelwerte aus den individuellen Werten der 3 Ramets dargestellt. Oberhalb eines jeden Diagramms ist die Zeitachse vom 1.4. bis 10.5. für das Jahr 1998 angegeben, eingeteilt in 5-Tage-Intervalle. Rechts sind die Klonnummern hinsichtlich des zeitlichen Einsetzens der Blüte aufgeführt. Die Balken repräsentieren die Zeitspanne vom Einsetzen der Blüte bis zum vollen Erblühen eines jeden Klons. Die Zahlen unterhalb der Darstellung geben die relativen (%) Anteile der sich in einem 5-Tage-Intervall überlappenden erblühten Klone an.

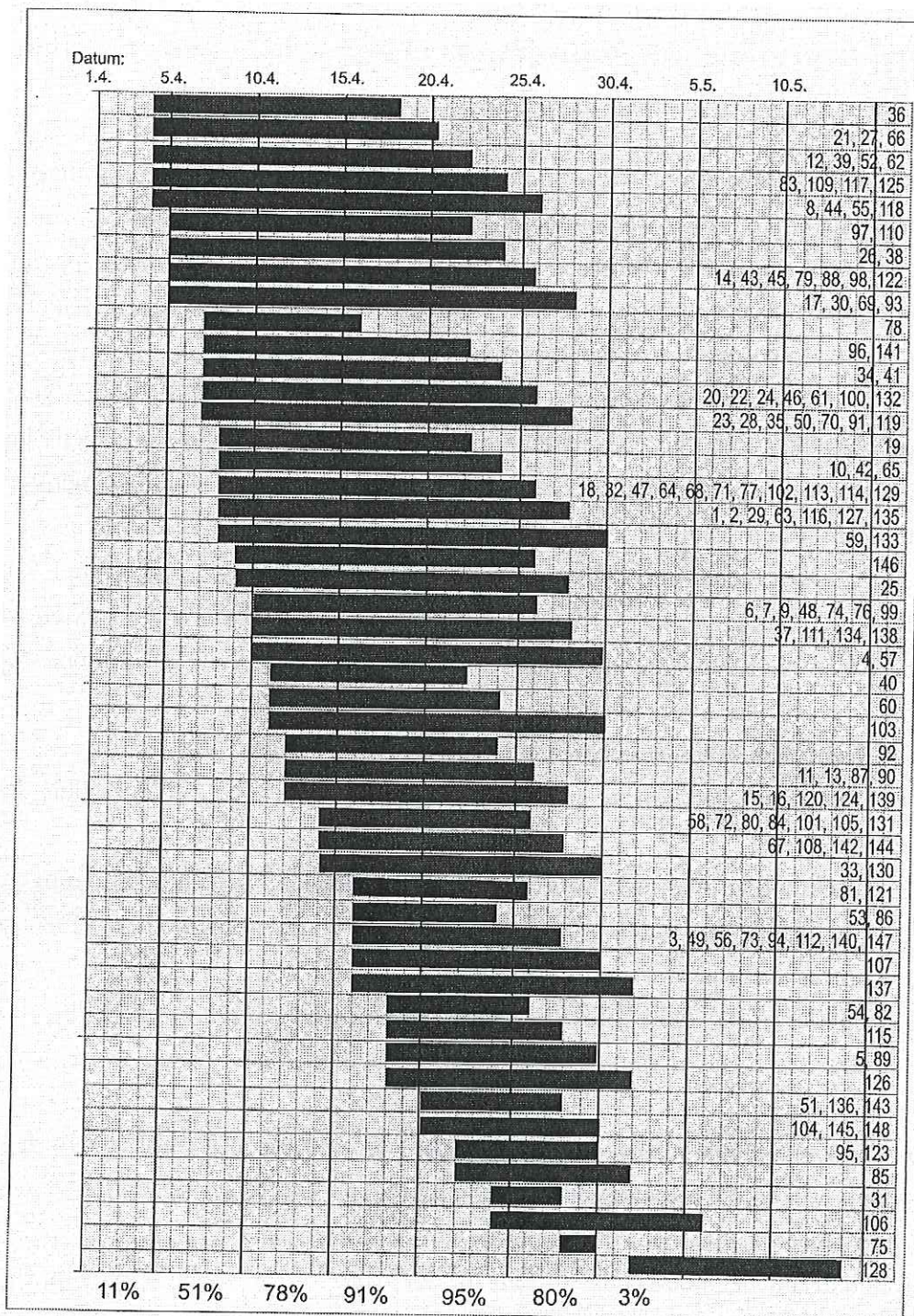


Abb. 4: Vogelkirsch-Samenplantage Lauterecken: Schematische Darstellung der Blüte der einzelnen Klone im Frühjahr 1998. Die dunklen Balken geben für jeden Klon den mittleren Zeitpunkt des Blühbeginns sowie die Dauer bis zum vollen Erblühen an. Zahlen oben: Zeitraum vom 1.4. bis 10.5. in 5-Tage-Intervallen; Zahlen rechts: Klonnummern; Zahlen unten: %uale Anteile der sich überlappenden blühenden Klone auf der Fläche, berechnet für das jeweilige 5-Tage-Intervall (siehe auch Text!)

Fig. 4: Wild cherry seed orchard Lauterecken: Schematic illustration of the flowering of the individual clones as determined in spring 1998. The dark bars indicate the mean date of the beginning and the duration until full blossoming for each clone. Digits on top: time period from 1.4. to 10.5. in 5-day-intervals; numbers on the right side: clone numbers; digits on the bottom: percentage of overlapping blossoming clones in the seed orchard as calculated for the respective 5-day-interval (cf. also text!)

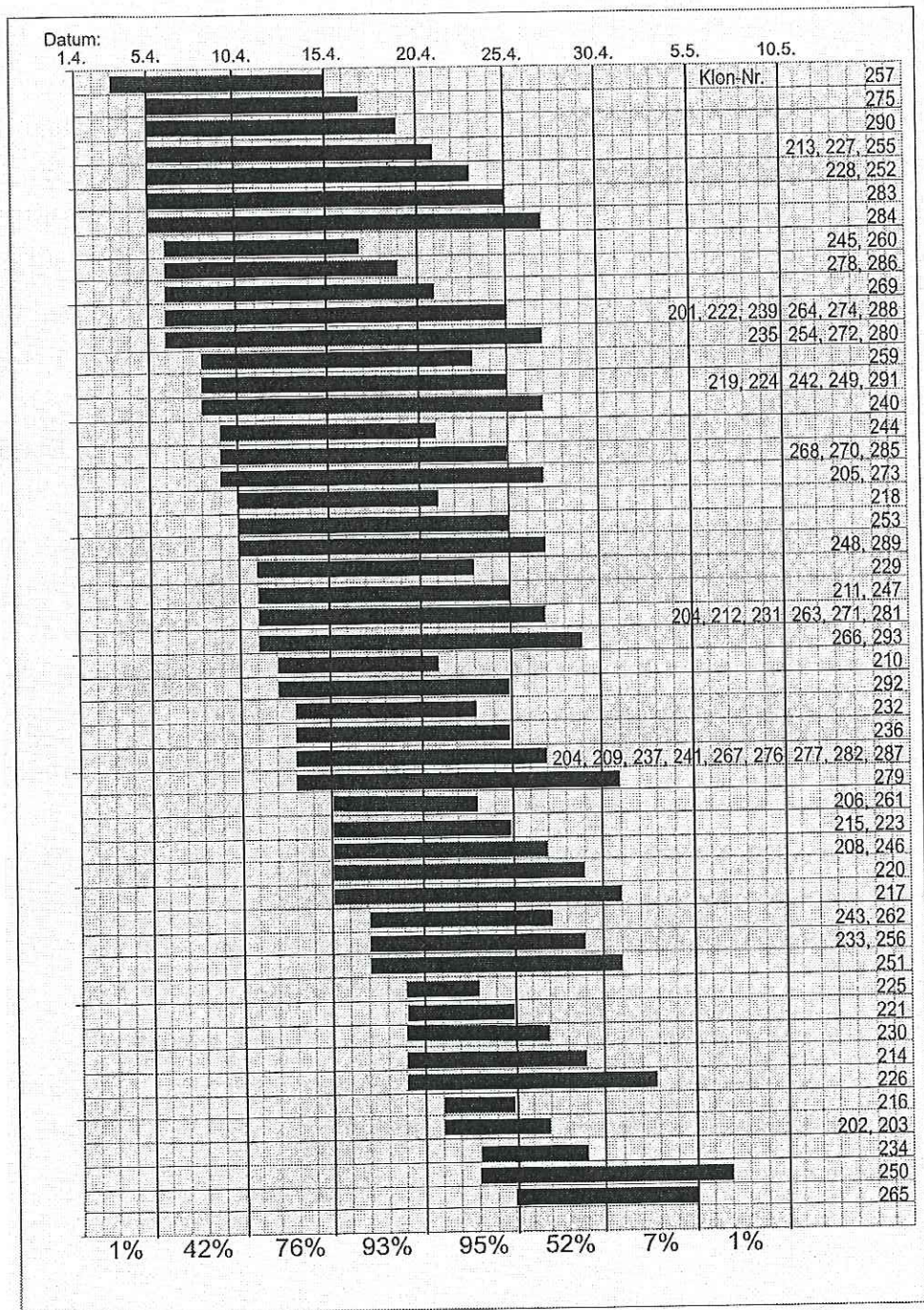


Abb. 5: Vogelkirsch-Samenplantage Saarburg: Schematische Darstellung der Blüte der einzelnen Klone im Frühjahr 1998. Die dunklen Balken geben für jeden Klon den mittleren Zeitpunkt des Blühbeginns und die Dauer bis zum vollen Erblühen an. Zahlen oben: Zeitraum vom 1.4. bis 10.5. in 5-Tage-Intervallen; Zahlen rechts: Klonnummern; Zahlen unten: %uale Anteile der sich überlappenden blühenden Klone auf der Fläche, berechnet für das jeweilige 5-Tage-Interval (siehe auch Text!)

Fig. 5: Wild cherry seed orchard Saarburg: Schematic illustration of the flowering of the individual clones as determined in spring 1998. The dark bars indicate the mean date of the beginning and the duration until full blossoming for each clone. Digits on top: time period from 1.4. to 10.5. in 5-day-intervals; numbers on the right side: clone numbers; digits on the bottom: percentage of overlapping blossoming clones in the seed orchard as calculated for the respective 5-day-interval (cf. also text!)

Die auf diese Weise angeordneten Balken verdeutlichen in aller Eindeutigkeit das spezifische Verhalten eines jeden in die jeweilige Samenplantage eingebrachten Klons hinsichtlich des Einsetzens der Blüte und der Zeitdauer bis zum vollen Erblühen. Deutlich wird auch, dass es solche Klone gibt, die erst dann zu Blühen beginnen, wenn andere bereits schon in voller Blüte stehen, z.B. in der Lauterecker Fläche die Klone 36 und 78 (früher erblühend) im Vergleich zu den Klonen 54, 82, 115 und alle sich weiter nach unten in der Übersicht anschließenden (später erblühend) bzw. für die Saarburger Fläche die Klone 257, 275, 284 (früher erblühend) und 243, 262, 233 sowie alle sich weiter nach unten in der Übersicht anschließenden (später erblühend).

Ganz wesentlich für die Saatgutbeerntung ist jedoch der Befund, dass die Überlappung zwischen erblühenden bzw. voll erblühten Klonen bis zum 25.4 beständig in beiden Samenplantagen bis zu 95% zunimmt. Ab dem 15.4. überlappen sich die Blühzeiten der in der Lauterecker Samenplantagen eingebrachten Klone bis zum 30.4. zwischen 80% und 95%, während sich 76% bis 95% der Klone auf der Saarburger Fläche in einem etwas kürzeren Zeitintervall von 10 Tagen vom 15.4. bis zum 25.4. entsprechend überlappend verhalten.

Als abschließendes Fazit kann demzufolge festgestellt werden, dass auf der Grundlage der vorliegenden Untersuchung eine Gewinnung von Saatgut entsprechend der gesetzlichen Vorgaben in den beiden Generhaltungssamenplantagen vorgenommen werden kann, auch wenn es sich hierbei um eine erstmalige stichprobenartige Aufnahme handelt. Eine umfassende genetische Überprüfung der beiden Samenplantagen steht noch aus, sie kann erst dann vorgenommen werden, wenn hinreichend viele diskriminierende Genmarker (z.B. Isoenzyme) entwickelt worden sind (siehe hierzu den Beitrag in diesem Band von KOWNATZKI & MAURER „*Charakterisierung und Identifikation von Vogelkirschklonen (Prunus avium L.) in zwei Generhaltungsklonsamenplantagen in Rheinland-Pfalz mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern*“).

4 Literatur

- ANONYMUS (1985):** Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Zulassung von Ausgangsmaterial für forstliches Vermehrungsgut. *Bundesanzeiger*, 37, 214a.
- ANONYMUS (2000):** Richtlinie 1999/105/EG des Rates vom 22. Dezember 1999 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut. Amtsblatt EG 2000 Nr. L 11 vom 15.01.2000, S.17.
- ANONYMUS (2001):** Berichtigung der Richtlinie 1999/105/EG des Rates vom 22. Dezember 1999 über den Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut (Abl. EG 2000 Nr. L 11 vom 15.01.2000, S.17). Amtsblatt EG 2001 Nr. L 121 vom 01.05.2001, S.48.
- ANONYMUS (2002):** Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) (Ministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Az.: 533-7015/1. 49 Seiten.
- BECK, O.A. (1976):** Die Vogelkirsche (*Prunus avium* L.) – ein Beitrag zur Ökologie und wirtschaftlichen Bedeutung. *Forstarchiv*, 47.Jg., S.154-158.
- BECK, O.A. (1981):** Plädoyer für eine stärkere waldbauliche Berücksichtigung der Vogelkirsche. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 9/10, S.212-213.
- GROTEHUSMANN, H. (2001):** Blühverlauf auf Winterlinden-Samenplantagen. *Forst und Holz*, 56.Jg., 11, S.338-341.
- KLEINSCHMIT, J.; STEPHAN, B.R.; LIESEBACH, M.; SCHÜTE, G. & STEINHOFF, S. (1996):** Noble hardwood species in Germany: occurrence and gene conservation measures. In: J. TUROK, G. ERIKSSON, J. KLEINSCHMIT & S. CANGER (compilers): Noble Hardwoods Network, Report of the first meeting 24-27 March 1996, Escherode, Germany. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, ISBN 92-9043-291-8, pp.101-110.
- KLEINSCHMIT, J. & STEPHAN, B.R. (1998):** Wild fruit trees (*Prunus avium*, *Malus sylvestris* and *Pyrus pyraster*). In: J. TUROK, E. COLLIN; B. DEMESURE; G. ERIKSSON, J. KLEINSCHMIT, M. RUSANEN & R. STEPHAN (compilers): Noble Hardwoods Network, Report of the second meeting 22-25 March 1997, Lourizan, Spain. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, ISBN 92-9043-363-9, pp.51-60.
- KOWNATZKI, D. (2002):** Asexuelle und sexuelle Reproduktion bei der Vogelkirsche (*Prunus avium* L.). Dissertation an der Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie der Georg-August-Universität Göttingen, 116 Seiten.
Internet-Adresse: <http://webdoc.sub.gwdg.de/diss/2002/kownatzki/index.html>.
- MAURER, W.D. & TABEL, U. (1995):** Erhaltung forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 2, S.102-104.
- MAURER, W.D. & TABEL, U. (2002):** Das „Genressourcen-Programm“ – Maßnahmen zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in Rheinland-Pfalz. *Forst und Holz*, 57.Jg., S.25-29.
- NÜBLE, H. (1998):** Die Vogelkirsche. FVA-Einblick, Nr. 2/98, S. 11-12.
- OTTO, H. (1987):** Zum waldbaulichen Verhalten der Vogelkirsche. *Der Forst- und Holzwirt*, Nr.2, S.44-45.

PAUL, M.; HINRICHS, T.; JANSSEN, A.; SCHMITT, H.P.; SOPPA, B.; STEPHAN, B.R. & DÖRFLINGER, H. (2000): Konzept zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland (Neufassung 2000). Sächsische Landesanstalt für Forsten Pirna, Hrsg., ISBN 3-932967-25-9, 66 Seiten.

STEPHAN, R. (1999): Progress in national gene conservation strategies: Germany. *In:* J. TUROK, J. JENSEN; CH PALMBERG-LERCHE; M. RUSANEN; K. RUSSELL; S. DE VRIES & E. LIPMAN (compilers): Noble Hardwoods Network, Report of the third meeting 13-16 June 1998, Sagadi, Estonia. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, ISBN 92-9043-403-1, pp.64-65.

WILHELM, G.J. & RAFFEL, D.J. (1993): Vorschläge zur Behandlung der Vogelkirsche. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 22, S.1137-1138.

Anschriften der Autoren:

Dr. Werner D. Maurer und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Schloss, D-67705 Trippstadt

Ass.d.F. Eckart Beutel, (ehemals) Forst/Ökologie-Service-Büro, D-55743 Idar-Oberstein

Biochemisch-physiologische Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel bei der Keimung von gelagerten Bucheckern aus rheinland-pfälzischen Buchenbeständen

WERNER D. MAURER, FLAVIU GRANCEA, ANKE LAARZ UND UWE TABEL

Keywords: Beech-nuts, *Fagus sylvatica*, seed collection, germination, carbohydrate metabolism, enzymatic analysis

Abstract

Title of the paper: A biochemical-physiological study on the carbohydrate metabolism related to the germination process of stored beechnuts from Rhineland-Palatinate beech stands.

This study on the carbohydrate metabolism occurring during the germination of stored beech-nuts deals with the quantitative assessment of the metabolites starch, maltose, glucose, fructose, and sucrose when exposing beech-nuts to germination that had been stored about four and six years. In stored, germinated and non-germinated beechnuts the carbohydrates were determined by using the technique of enzymatic analysis. The results make clear that besides starch, sucrose must be assumed to be an essential reserve storage compound relevant for the germination process in beech-nuts. Taking into consideration the contents of the analyzed compounds, it is hypothesized that there are threshold values which may determine whether or not a beech-nut is able to germinate.

Schlagwörter: Bucheckern, *Fagus sylvatica*, Saatgut, Keimung, Kohlenhydrat-Stoffwechsel, enzymatische Analyse

Zusammenfassung

Die vorliegende Studie zum Kohlenhydratstoffwechsel bei der Keimung von gelagerten Bucheckern beinhaltet die quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe Stärke, Maltose, Glucose, Fructose und Saccharose nach ca. vier- bzw. sechsjähriger Lagerung sowie nach Exposition zur Auskeimung. In gelagerten, gekeimten und nicht angekeimten Bucheckern wurden die Kohlenhydrate mit Hilfe der enzymatischen Analytik-Methode bestimmt. Die Befunde verdeutlichen, dass neben der Stärke auch die Saccharose als ein für die Keimung von Bucheckern essentieller Reservestoff zu gelten hat. Mit Bezug auf die Gehalte der Inhaltsstoffe wird vermutet, dass es bei der Stärke und der Saccharose untere Schwellenwerte gibt, die womöglich determinieren, ob eine Buchecker zum Auskeimen kommen kann oder nicht.

1 Einleitung

Zur Einlagerung von Bucheckern über einen längeren Zeitraum sind in jüngerer Vergangenheit Fortschritte erzielt worden, sie bleibt dennoch mit Problemen verbunden. Somit ist eine Lagerung bei Erhaltungsmaßnahmen der Genressourcen der Baumart Buche (*Fagus sylvatica*) eher ungeeignet (SCHMITT 1990). Um diesem Manko zu begegnen, hatte die

Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 49, S.219-228.

Forstgenbank Nordrhein-Westfalen zu Beginn der 1990er Jahre ein mehrjähriges Forschungsprogramm von etwa 10-jähriger Dauer mit wissenschaftlicher Begleitung durch das Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie in Schmallenberg eingeleitet. In diesem Rahmen sollte den Möglichkeiten nachgegangen werden, diesbezügliche Methoden mit Blick auf die Auswirkungen verschiedener Umgebungsbedingungen auf die Keimfähigkeit und den Stoffwechsel von Bucheckern zu erproben (LEPPER et al. 1994). Zur gleichen Zeit wurden Untersuchungen zur Aufhebung der Keimruhe sowie zur kurz- und langfristigen Einlagerung von Buchensaatgut von SUSZKA (1993) am Institut für Dendrologie an der Polnischen Akademie der Wissenschaften in Kornik in Polen durchgeführt. Wesentliche Voraussetzung für eine längerfristige Lagerung von Bucheckern ist, dass die Keimhemmung, welche ein biologisches Phänomen der Wachstumshemmung nicht nur der Samen, sondern auch anderer Organe wie Knospen oder Wurzeln bei fast allen Pflanzen darstellt, nicht aufgehoben wird (vgl. hierzu SCHMALTZ 1989; EICKE 1991).

Bucheckern sind die Nussfrüchte der heimischen Buche. Sie lagern als Hauptreservestoffe Stärke und Fette ein, die beim Keimungsvorgang von Bedeutung sind. Allerdings scheinen die Fette in der Anlaufphase des Keimgeschehens keine unmittelbare Rolle zu spielen, vielmehr erfolgt der Abbau dieser Substanzklasse erst dann, wenn die Primärblätter der Jungpflanze erscheinen (ROHMEDER 1951, zitiert in SCHMITT 1990). Grundsätzlich wird bei der Keimung die hochpolymere Stärke enzymatisch zum Disaccharid Maltose [Malzzucker] und diese wiederum zum Monosaccharid Glucose [Traubenzucker] abgebaut. Untersuchungen zum Kohlenhydrat-Stoffwechsel bei Bucheckern haben gezeigt, dass auch das Disaccharid Saccharose [Rohrzucker] vorhanden ist (LEPPER et al. 1996), woraus wiederum unter spezifischer Enzymeinwirkung die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose [Fruchtzucker] entstehen. Alle diese Zuckerverbindungen dienen der Energieversorgung bzw. als Ausgangsverbindungen zur zellulären Fertigung von Baustoffen dem Wachstum des Keimlings (HEB 1975).

Mit der vorliegenden Untersuchung zum Kohlenhydratstoffwechsel beim Keimungsgeschehen der Bucheckern sollte an einer Reihe von Saatgutproben verfolgt werden, welche Gehalte für diese Verbindungen im Zustand der Lagerung vorzufinden sind und in welchem Maße diese sich nach Einsetzen der Keimung ändern. Hiermit sollen Hinweise für eine mögliche Voraussage hinsichtlich des Keimverhaltens der Bucheckern nach längerfristiger Einlagerung gefunden werden.

Diese Untersuchungen wurden u.a. im Rahmen von zwei Werkverträgen durchgeführt: 1. „Durchführung von speziellen Inhaltsstoffanalysen an Bucheckern mittels enzymatischer Bioanalytik-Verfahren“ und 2. „Durchführung von Kohlenhydratanalysen an Bucheckern unterschiedlicher Keimungsstadien“.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Das Bucheckernmaterial entstammte den Einsammlungen der Reifejahre 1990 bzw. 1992 aus den in der Tab. 1 angegebenen Buchenbeständen. Vor der Trocknung auf 10% Wassergehalt und der Einlagerung bei -5 °C erfolgte eine elfwöchige Freilagerung zum Abbau der Keimhemmung bei mindestens 32% Wassergehalt. Die Einlagerung der solchermaßen vorbehandelten Bucheckern wurde Ende Januar 1991 bzw. Ende Januar 1993 vorgenommen.

Tab. 1: Übersicht über die Bezeichnung und Herkunft des untersuchten Bucheckern-Untersuchungsmaterials.
List of the lot numbers and the origin of the beechnut samples under study.

| <i>Reifejahr 1990</i> | | <i>Reifejahr 1992</i> | |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| <i>Charge-Nr.</i> | <i>Buchenbestand im Forstamt</i> | <i>Charge-Nr.</i> | <i>Buchenbestand im Forstamt</i> |
| 455 | Elmstein-Süd | 569 | Montabaur |
| 472 | Morbach | 581 | Elmstein-Süd |
| 475 | Hermeskeil-Ost | 586 | Kirchheimbolanden |
| 480 | Bitburg | 587 | Elmstein-Süd |
| | | 588 | Hinterweidenthal-Ost |
| | | 589 | Landstuhl |
| | | 590 | Trippstadt |
| | | 595 | Merzalben |

Von den bei der Klänge Elmstein eingelagerten Erntechargen wurde im Herbst 1995 bzw. im Frühjahr 1996 aus repräsentativen Stichproben (500 g aus 50 kg) ein jeweiliger Anteil für die vorliegende Untersuchung bereitgestellt. Zum Ankeimen wurden die Bucheckern in einem Keimschrank auf einer angefeuchteten Zellstoffunterlage einer Temperatur von 4 °C ausgesetzt.

Für die Versuchsanordnung ist festgelegt worden, dass für die Untersuchung

- I. Bucheckern im Ruhezustand, das heißt unmittelbar aus der Lagerung heraus (im Folgenden als „gelagert“ bezeichnet);
 - II. Bucheckern aus der Ankeimung der ersten 50% („gekeimt“) und
 - III. überhaupt nicht gekeimte Bucheckern („nicht gekeimt“)
- verwendet werden.

2.2 Untersuchungsmethoden

2.2.1 Die Methode der „Enzymatischen Analyse“

Die quantitative Bestimmung der Kohlenhydrate Stärke, Maltose, Saccharose, Glucose und Fructose wurde mit der sog. „Enzymatischen Analyse“ entsprechend der bei BERGMAYER & GAWEHN (1977) beschriebenen Methodik durchgeführt. Mit dieser Technik lassen sich viele biogene Stoffe aus komplexen flüssigen, festen oder pastenartigen Gemischen von biologisch-organischen Inhaltsstoffen wie Körperflüssigkeiten [z.B. Blut, Harn], Säfte und andere Getränke [z.B. Milch, Apfelsaft, Wein], Lebensmittel [z.B. Gemüse, Brot, Schokolade] etc. ganz gezielt aufgrund der Spezifität bestimmter Enzyme mengenmäßig erfassen und hinsichtlich ihres Gehaltes quantifizieren (ANONYMUS 1989). Die photometrische Messtechnik beruht auf der Erscheinung, dass Licht einer bestimmten Wellenlänge nach Eintritt in eine Lösung von den darin enthaltenen molekularen Teilchen zum Teil absorbiert wird und dieses dann gegenüber seiner ursprünglichen Intensität geschwächt aus der Lösung austritt. Nach dem sog. „Lambert-Beer'schen Gesetz“ lassen sich dann aus dieser Lichtintensitätsdifferenz und bestimmten für die Lichtwellenlänge spezifischen Faktoren die Stoffkonzentrationen bzw. -gehalte berechnen (vgl. hierzu z.B. Abschnitt ‚Absorptionsphotometrie‘ bei BERGMAYER & GAWEHN 1977).

2.2.2 Probenaufbereitung

Die Aufbereitung des bei -80 °C tiefgefroren eingelagerten Bucheckern-Untersuchungsmaterials [der Zustände (I) gelagert bzw. (II) gekeimt bzw. (III) nicht gekeimt; die Bucheckern waren zuvor chargenweise geschält, ggf. entkeimt, in kleine Stücke gehackt, vermischt und nachfolgend in ca. 1-Gramm-Portionen aufgeteilt worden], wurde nach den Vorgaben von HENNINGER (1989) durchgeführt. Für die photometrische Messung wurde die hochmolekulare Stärke mit Dimethylsulfoxid aus den Bucheckern extrahiert und in Lösung gebracht (LUKASZEWA & GORIN 1988). Die niedermolekularen Kohlenhydratverbindungen Maltose, Glucose, Fructose und Saccharose wurden aus dem Bucheckerngewebe mittels Heißwasserextraktion bei 60 °C herausgelöst und nachfolgend mit dem Carrez-Reagens (CARREZ 1909) hinsichtlich vorhandener Schwebeteilchen, welche eine Trübung verursachen und somit die photometrische Messung stören, geklärt.

2.2.3 Durchführung der Messungen

Die Gehaltsbestimmungen wurden mit Test-Kombinationen der Fa. Boehringer Mannheim GmbH [Nr. 716260 für Saccharose, Glucose und Fructose, Nr. 207748 für Stärke und

Nr. 1113950 für Maltose] durchgeführt, die Analysen der einzelnen Kohlenhydrate in den Bucheckern des jeweiligen Keimungszustands erfolgte getrennt in der Reihenfolge Saccharose, Glucose und Fructose, dann Stärke und zum Schluss Maltose. Zur photometrischen Messung kam ein MILTON ROY „Spektralphotometer Spectronic 301/401“ zum Einsatz. Für jede Bucheckerncharge wurden zu jedem Keimungszustand drei getrennte Bestimmungen durchgeführt und für die erhaltenen Messdaten die Mittelwerte mit Standardabweichungen errechnet. Die Gehalte der einzelnen Kohlenhydrate wurden auf die Trockenmasse umgerechnet, sie sind als mg pro g Trockenmasse angegeben.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Kohlenhydratgehalte in den untersuchten Bucheckern-Chargen

In der Tab. 2 sind die für die einzelnen Bucheckernpartien gefundenen Werte für die Gehalte der untersuchten Kohlenhydrate Stärke, Maltose, Glucose, Fructose und Saccharose, errechnet aus drei unabhängigen Bestimmungen, an Untersuchungsmaterial der einzelnen Zustände „gelagert“, „gekeimt“ und „nicht gekeimt“ zusammengestellt. Dieses entstammte jeweils einer Mischprobe, die sich aus zerkleinerten Stücken von Bucheckern der jeweiligen Charge zusammensetzte und danach in ca. 1-Gramm-Portionen bei Ultratiefkühlung bis zur Inhaltsstoffanalyse eingelagert wurde. Die zum Teil großen Standardabweichungen deuten darauf hin, dass das Zusammengeben der zerkleinerten Bucheckernstücke nicht in allen Fällen zu einer homogenen Mischung geführt hat, denn es ist davon auszugehen, dass sich von Natur aus die Gehalte der Inhaltsstoffe von Buchecker zu Buchecker in einem gewissen Rahmen unterscheiden.

Getrennt nach den Reifejahren 1990 und 1992 sind im unteren Teil der Tab. 1 die min-max-Werte für beide Gruppen bezüglich der untersuchten Kohlenhydratverbindungen angegeben. Diese spiegeln die Spanne wider, in der sich die für die einzelnen Bucheckern-Chargen gemessenen Gehalte bewegen.

Eindeutig ist die Tendenz, dass alle für das Reifejahr 1990 gemessenen Kohlenhydrat-Gehalte oberhalb von denen für 1992 zu liegen kommen. Diese Werte sind bei der vorliegenden Untersuchung sowohl für die Stärke als auch für Saccharose um ca. 20% erhöht. Dies mag dahingehend interpretiert werden, dass 1990 ein Jahr war, in dem auf Grund der zum damaligen Zeitpunkt herrschenden Rahmenbedingungen mehr Speicherstoffe in die Bucheckern eingelagert werden konnten. Es deckt sich zudem mit der Beobachtung draußen, dass die natürlichen Auflaufergebnisse 1990 besonders hoch erschienen.

Tab. 2: Übersicht über die Gehalte an den Kohlenhydraten Stärke, Maltose, Glucose, Fructose und Saccharose [mg / g Trockenmasse] in den untersuchten Bucheckern.
List of the contents of the carbohydrates starch, maltose, glucose, fructose, and sucrose [mg per g dry matter] in the beechnuts under study.

| Charge-Nr. | Stärke | | | Maltose | | | Glucose | | | Fructose | | | Saccharose | | |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| | L | K | U | L | K | U | L | K | U | L | K | U | L | K | U |
| 1 | 19,6±2,8 | 15,2±2,8 | * | 2,4±1,3 | 3,1±1,4 | * | 2,4±0,3 | 8,4±1,0 | * | 1,3±0,4 | 4,9±1,4 | * | 53,5±1,9 | 27,5±3,2 | * |
| 9 | 22,6±5,5 | 17,3±5,1 | 15,1±0,7 | 2,0±1,2 | 8,3±1,8 | 4,2±0,3 | 2,6±1,2 | 9,1±4,1 | 4,4±1,6 | 1,2±0,7 | 5,8±2,6 | 2,2±0,8 | 57,5±2,6 | 28,2±6,1 | 36,2±4,2 |
| 9 | 33,7±4,7 | 23,2±1,2 | * | 5,0±1,2 | 9,6±2,4 | * | 2,8±0,5 | 10,0±0,5 | * | 1,3±0,2 | 5,2±0,1 | * | 61,8±2,9 | 37,1±1,8 | * |
| 0 | 27,7±4,8 | 28,1±4,0 | 15,1±2,8 | 4,1±1,2 | 9,2±0,5 | 3,7±1,2 | 4,0±1,0 | 8,3±2,2 | 4,3±0,9 | 1,7±0,7 | 3,9±0,2 | 2,4±0,4 | 49,1±0,8 | 41,7±3,1 | 36,1±9,5 |
| 569 | 14,6±1,2 | 15,0±9,0 | 8,4±1,5 | 1,3±0,2 | 3,7±2,3 | 1,1±1,0 | 2,6±0,4 | 5,8±1,0 | 2,3±1,5 | 1,6±0,4 | 4,2±0,7 | 1,3±1,0 | 46,6±3,9 | 26,2±0,7 | 36,0±1,6 |
| 581 | 22,2±2,7 | 22,2±2,4 | * | 2,4±0,4 | 5,2±1,3 | * | 1,2±1,0 | 7,0±2,0 | * | 0,2±0,1 | 4,2±0,7 | * | 44,2±3,6 | 31,3±2,1 | * |
| 586 | 22,2±0,7 | 12,0±1,9 | 14,2±3,4 | 2,2±0,7 | 6,6±3,5 | * | 2,0±1,0 | 9,9±1,9 | 1,8±0,8 | 0,8±0,2 | 6,9±1,1 | 1,0±0,2 | 54,4±0,2 | 27,4±3,9 | 27,6±5,0 |
| 587 | 20,1±1,1 | 20,6±1,7 | 12,3±3,5 | 0,1±0,2 | 2,6±0,9 | 0,9±1,1 | 2,8±0,7 | 4,1±1,0 | 3,7±1,1 | 0,7±0,1 | 1,1±0,2 | 2,3±0,6 | 42,1±0,3 | 31,1±0,8 | 25,1±3,2 |
| 588 | 23,8±1,9 | 14,9±5,1 | 15,3±1,8 | * | 5,3±1,2 | * | 1,1±0,2 | 8,1±0,9 | 2,3±0,5 | 0,6±0,2 | 4,6±0,2 | 1,6±0,2 | 49,5±1,4 | 30,8±4,2 | 24,8±5,2 |
| 589 | 17,2±3,1 | 18,9±1,8 | 10,5±5,7 | * | 2,6±1,4 | 3,6±3,0 | 1,9±0,7 | 6,6±2,2 | 1,4±0,3 | 0,7±0,2 | 4,3±1,5 | 0,7±0,3 | 45,5±3,2 | 28,6±1,3 | 29,5±3,6 |
| 590 | 24,3±1,7 | 20,6±1,4 | 15,1±0,4 | * | 7,9±1,5 | * | 2,3±1,0 | 9,5±2,6 | 3,0±1,6 | 0,7±0,3 | 5,4±2,7 | 1,6±1,1 | 41,4±3,1 | 31,6±4,8 | 25,6±3,1 |
| 595 | 27,4±2,5 | 21,6±2,6 | 18,2±2,4 | * | 5,1±2,3 | 0,6±0,6 | 1,5±0,1 | 6,0±3,7 | 4,4±1,7 | 0,5±0,1 | 3,7±2,3 | 2,1±1,0 | 52,0±2,7 | 38,6±2,5 | 40,7±2,1 |
| min-max-Werte | 19,6 - 33,7 | 15,2 - 28,1 | 15,1 - 15,1 | 2,0 - 5,0 | 3,1 - 9,6 | 3,7 - 4,2 | 2,4 - 4,0 | 8,3 - 10,0 | 4,3 - 4,4 | 0,2 - 1,6 | 3,9 - 5,8 | 2,2 - 2,4 | 49,1 - 61,8 | 27,5 - 41,7 | 36,1 - 36,2 |
| min-max-Werte | 14,6 - 27,4 | 12,0 - 22,2 | 8,4 - 18,2 | 0,1 - 2,4 | 2,6 - 7,9 | 0,6 - 3,6 | 1,1 - 2,8 | 4,1 - 9,9 | 1,4 - 4,4 | 2,2 - 2,4 | 1,1 - 6,9 | 0,7 - 2,3 | 41,4 - 54,4 | 26,2 - 38,6 | 24,8 - 40,7 |
| Durchschnitt | 25,9 | 20,9 | 15,1 | 3,4 | 7,6 | 4,0 | 2,9 | 9,0 | 4,3 | 1,4 | 5,0 | 2,3 | 56,0 | 33,6 | 36,1 |
| Reifejahr 1990 | 21,5 | 18,2 | 13,4 | 1,5 | 4,9 | 1,6 | 1,9 | 7,1 | 2,7 | 0,7 | 4,3 | 1,5 | 47,0 | 30,7 | 29,9 |
| Gesamt-Durchschnitt | 23,0 | 19,1 | 13,8 | 2,6 | 5,8 | 2,4 | 2,3 | 7,7 | 3,1 | 0,8 | 4,5 | 1,7 | 49,8 | 34,4 | 31,3 |

Abk.: L, gelagerte Bucheckern; K, gekeimte Bucheckern; U, nicht gekeimte Bucheckern; *: kein Analysematerial verfügbar

Im Vergleich zu den Kohlenhydrat-Gehaltsuntersuchungen an Bucheckern, welche 1990 in sechs nordrhein-westfälischen Beständen eingesammelt wurden und an denen nach Einlagerung 1991 zweimal die Kohlenhydrate (außer Maltose) quantitativ bestimmt wurden (LEPPER et al. 1994), liegen die hier wiedergegebenen Werte in vergleichbaren Bereichen.

Dieses Ergebnis spricht damit auch für die sehr gute Eignung der enzymatischen Analytik-Methode, die zum Untersuchungszeitpunkt erstmalig für Untersuchungen an Bucheckern zu Gehalten von für die Keimung relevanten Kohlenhydraten in verschiedenen Labors angewandt wurde.

3.2 Umwandlung von Speicher-Kohlenhydraten in keimungsverfügbare Verbindungen

Artspezifisch unterschiedlich in der Zusammensetzung wie auch den Mengen lagern Pflanzen Kohlenhydrate und/oder Fette und/oder Proteine in ihre Samen als Reservestoffe ein. Diese stehen dann dem Embryo in der unselbständigen vegetativen Phase, d.h. während des Keimungsprozesses, bis zur Ausbildung der ergrünten, photosynthetisch aktiven und damit selbständigen Sämlingspflanze für Wachstums- und Energieprozesse zur Verfügung (HEß 1975). Zur Mobilisierung dieser Reservestoffe ist in sehr vielen Fällen die Auflösung einer vorhandenen Keimhemmung erforderlich, wie dies für die Bucheckern z.B. bei EICKE (1991) beschrieben ist.

Für die untersuchten Kohlenhydrate sind die gefundenen Ergebnisse hinsichtlich der drei Untersuchungsstadien „gelagert“, „gekeimt“, und „nicht gekeimt“ in der nachfolgenden Abb. 1 grafisch abgebildet. Da die bei den beiden Reifejahrgängen gemessenen Gehalte für die untersuchten Kohlenhydrate die gleiche Tendenz hinsichtlich ihrer jeweiligen Größenordnung aufweisen, sind diese Werte als gemittelter Gesamt-Durchschnitt dargestellt.

3.2.1 Gelagerte Bucheckern

Es fällt auf, dass bei Betrachtung des Lagerungszustands neben der Stärke die Saccharose als Reservestoff auftritt, welcher gegenüber der Stärke in etwa doppelter Menge nachzuweisen ist. Während die Stärke als Folgeprodukt der CO₂-Assimilation in Form einer Festsubstanz im Speichergewebe abgelagert wird, stellt die Saccharose als Disaccharid - 1 Molekül Saccharose besteht aus 1 Glucose- und 1 Fructose-Molekül - eine wasserlösliche Verbindung dar, welche die Rolle des wichtigsten Transportzuckers zur Versorgung der nicht-grünen Teile von Pflanzen wahrnimmt (KINDL & WÖBER 1975; ESCHRICH 1989).

Somit besitzen die Kotyledonen der Bucheckern - diese ergrünen nachfolgend bei der epigäischen Keimung (KRÜSSMANN 1997) - mit der Stärke und der Saccharose zwei

wesentliche Reservestoff-Pools, die in diesen Organen akkumuliert sind und bei der Keimung für den Betriebs- und Baustoffwechsel abgebaut werden können.

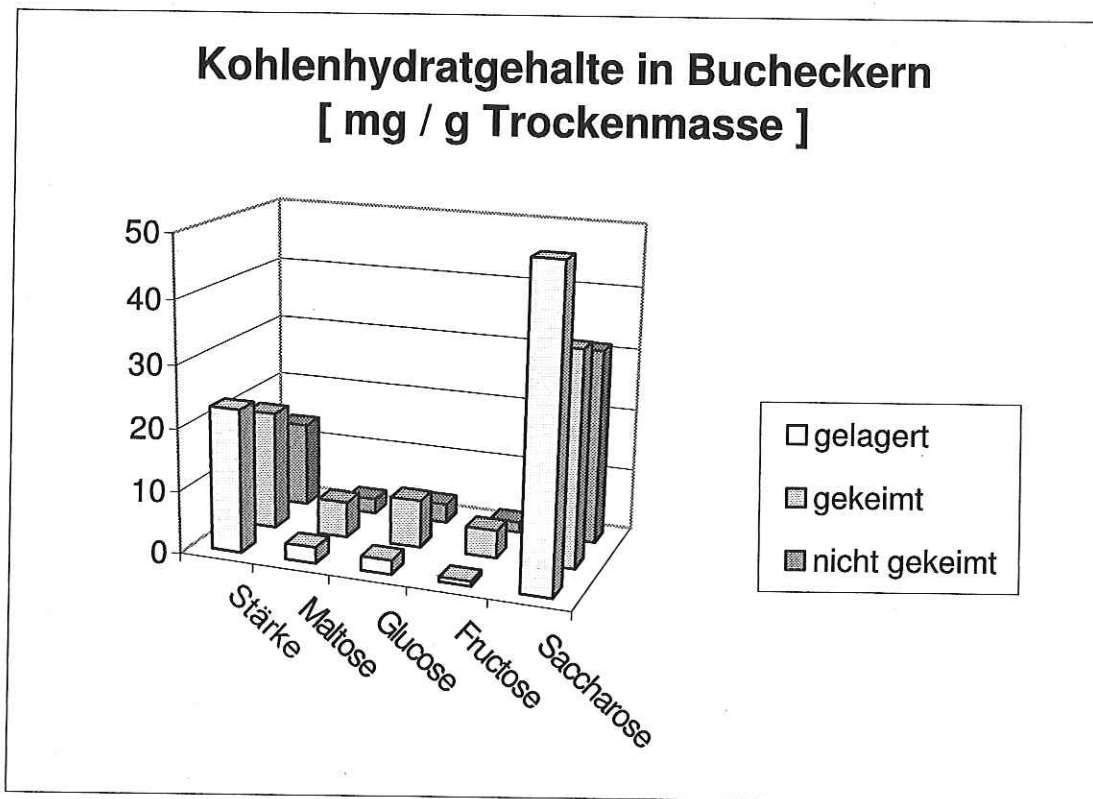


Abb.1: Übersicht über die Gehalte an Stärke, Maltose, Glucose, Fructose und Maltose in Bucheckern im Zustand „gelagert“ (vordere Reihe); gekeimt (mittlere Reihe) und nicht gekeimt (hintere Reihe)

Fig. 1: Depiction of the contents in starch, maltose, glucose, fructose, and sucrose in the stages “stored” (bars in the front), “germinated” (bars in the middle row), and “not germinated” (bars in the back row).

Für die Saccharose erhebt sich wegen dieser hohen Konzentration zudem die Frage, ob sie physiologisch betrachtet durchaus auch einen Mechanismus des Gefrierschutzes für den Embryo im Samen darstellen kann (vgl. hierzu LARCHER 1984; HÄSLER 1988).

Die stationären Gehalte an Maltose, dem ersten durch das Enzym α -Amylase gesteuerten Abbauprodukt der Stärke sowie an Glucose wie auch an Fructose sind hingegen deutlich geringer und liegen unterhalb von 5 mg/g TM.

3.2.2 Gekeimte Bucheckern

Die Gehaltsspiegel der untersuchten Kohlenhydrate verändern sich beim Keimgeschehen. Wie die mittlere Balkenreihe in Abb. 1 erkennen lässt, nehmen sowohl die Stärke als auch die Saccharose in ihren Gehalten ab. Für die Stärke beträgt diese Abnahme gegenüber dem Lagerungszustand etwa ein Sechstel, für die Saccharose hingegen deutlich mehr um etwa ein

Drittel. Dies deutet darauf hin, dass die Saccharose wesentlich schneller abgebaut wird und in den weiteren Stoffwechsel einfließt als die Stärke.

Die aus der Maltose und der Saccharose mittels spezifischer Enzyme gebildeten Monosaccharide Glucose und Fructose nehmen in ihren Gehalten zu. Dabei überwiegt der stationäre Pool der Glucose, die nach ihrer Umwandlung in eine stoffwechselaktive (phosphorylierte) Form direkt dem Stoffwechsel des Embryos/Sämlings zur Verfügung steht. Die Fructose hingegen muss erst durch eine enzymatisch katalysierte Transformation in Glucose stoffwechselverfügbar gemacht werden.

3.2.3 Nicht gekeimte Bucheckern

Bei den nicht gekeimten Bucheckern (Abb. 1, hintere Balkenreihe) sind die Spiegel der Reservestoffe Stärke und Saccharose im Vergleich zu den gelagerten und den gekeimten Zuständen um etwa 40% erniedrigt. Die für Maltose, Glucose und Fructose bestimmten Pool-Werte unterscheiden sich nur geringfügig von denen des Lagerungszustands. Daraus ist zu schließen, dass von vornherein die Gehalte an Stärke und Saccharose in den betroffenen Bucheckern niedrig sind, da sich ein möglicher Abbau der Stärke bzw. der Saccharose in wesentlich erhöhten Gehalten an Maltose, Fructose und insbesondere an Glucose aufzeigen lassen müsste.

Dieser Befund deutet darauf hin, dass es für Bucheckern womöglich untere Schwellenwerte hinsichtlich der Gehalte an den Kohlenhydrat-Reservestoffen gibt, die determinieren, ob eine Buchecker zum Auskeimen kommen kann oder nicht. Inwieweit sich diese Hypothese bestätigt und diesen Kohlenhydrat-Reservestoffen eine prognostische Indikatorfunktion zur Keimfreudigkeit bei gelagerten Bucheckern zugemessen werden kann, ist an weiteren Untersuchungsreihen zu testen.

4 Literatur

ANONYMUS (1989): Methoden der enzymatischen BioAnalytik und Lebensmittelanalytik: Handbuch mit Arbeitsanleitungen für Test-Combinationen. Boehringer Mannheim GmbH, Eigenverlag. 143 Seiten.

BERGMEYER, H.U. & GAWEHN, K. (1977): Grundlagen der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie Weinheim, New York, 260 Seiten + 6 Seiten Anhang.

CARREZ, M.C. (1909): Annales de chimique, 14, p.187-189.

EICKE, G. (1991): Keimhemmung bei Bucheckern und ihre Überwindung. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 46.Jg., S.976-981.

- ESCHRICH, W. (1989):** Stofftransport in Bäumen. Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 94, 55 Seiten.
- HÄSLER, R. (1988):** Physiologische Wirkungen des Frostes auf Pflanzen. Verrötungen immergrüner Nadelbäume im Winter 1987/88 in der Schweiz. Berichte der Eidgenössischen Anstalt für das forstliche Versuchswesen Birmensdorf, Nr.307, S.45-48.
- HENNINGER, G. (1989.):** Die Probenvorbereitung. *In:* Die enzymatische Lebensmittelanalytik, Heft 4, Boehringer Mannheim Eigenverlag, S.6-13.
- HEB, D. (1975):** Entwicklungsphysiologie der Pflanzen. Verlag Herder Freiburg, 125 Seiten.
- KINDL, H. & WÖBER, G. (1975):** Biochemie der Pflanzen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 364 Seiten.
- KRÜSSMANN, G. (1997):** Die Baumschule. Verlag Paul Parey Berlin, 6. Auflage, 982 Seiten.
- LARCHER, W. (1984):** Ökologie der Pflanzen auf physiologischer Grundlage. 4. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, S.60ff.
- LEPPER, P.; PITZEN, H.; DEBUS, R.; HEYDER, J. & H.P. SCHMITT (1994):** Einfluss ausgewählter Lagerbedingungen auf Keimkraft und Stoffwechsel von Bucheckern. *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 113, S.302-318.
- LEPPER, P.; PITZEN, H.; HEYDER, J. & SCHMITT, H.P. (1996):** Keimfähigkeit und Stoffwechsel von Bucheckern während Langzeitlagerung. *AFZ / Der Wald*, 51. Jg., S.989-992.
- LUKASZEWA, A. & GORIN, N. (1988):** Simplification of the Boehringer-Mannheim Enzymic Analysis of Starch in the Methanol-insoluble residue of freeze-dried corollas from cut „Sonia“-roses. *Gartenbauwissenschaft*, 53, S.49-51.
- ROHMEDER, E. (1972):** Das Saatgut in der Forstwirtschaft. Paul Parey Verlag Hamburg, Berlin, 273 Seiten.
- SCHMALTZ, J. (1989):** Untersuchungen zur Überwinterung und Keimung von Bucheckern. *Forst und Holz*, 44.Jg., S.407-410.
- SCHMITT, H.P. (1990):** Einfluss der Lagerungsbedingungen auf eingelagerte Bucheckern. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 45.Jg., S1156-1157.
- SUSZKA, B. (1993):** Wissenschaftliche Grundlagen der Bucheckern-Langzeitlagerung. *Allgemeine Forst Zeitschrift*, 48.Jg., S.922-926.

Anschriften der Autoren:

Dr. Werner D. Maurer, Flaviu Grancea und FD Uwe Tabel, SGD Süd, Abteilung Genressourcen und Forstpflanzenerzeugung der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz (FAWF), Schloss, D-67705 Trippstadt

Diplom-Biologin Anke Laarz, Friedrichstr. 47, D-67655 Kaiserslautern

Glossar: „Wichtige forstgenetische Begriffe“

| A | |
|---------------------|---|
| Allele | aus Mutationen hervorgegangene Varianten eines Gens; unterschiedliche Allele eines Genorts auf homologen Chromosomen bedingen die ⇒genetische Vielfalt beim Individuum bzw. in Populationen; ⇒Polymorphismus |
| Allelfrequenz | relative Häufigkeiten von bestimmten Allelen an einem Genort |
| allelische Vielfalt | Anzahl der an einem Genort auftretenden Allele |
| Allozym | <i>syn.</i> für ⇒Isoenzym; infolge ⇒Mutation genetisch bedingte molekulare Variante eines Enzyms |
| Aminosäuren | biogene Bausteine der Eiweiße (Proteine, darunter ⇒Enzyme), in den Aminosäuresequenzen der Organismen können bis zu 20 verschiedene Aminosäuren in unterschiedlichen Anteilen und wechselnder Reihenfolge enthalten sein |
| Amplifikation | (exponentielle) Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen mittels ⇒PCR-Methode |
| Anpassungsfähigkeit | Befähigung einer Population, auf räumlich und zeitlich heterogene Umweltreize zu reagieren; sie setzt genetische Variabilität voraus, d.h. ⇒Polymorphismus an vielen Genorten |
| Art (biologische) | Gesamtheit aller Individuen, die eine potenzielle Fortpflanzungseinheit bilden |
| autochthon | bodenständig; während vorangegangener Generationen aus der natürlicher Verjüngung am Ort des Vorkommens hervorgegangen; bei autochthonen Populationen wird angenommen, dass sie an ihre Umweltverhältnisse angepasst sind |
| B | |
| Bastardierung | <i>syn.</i> ⇒Hybridisierung, die natürlich spontan erfolgende oder künstlich herbeigeführte Vereinigung von genetisch verschiedenen ⇒Gameten bei der Befruchtung, in deren Verlauf heterozygote Individuen entstehen; Bastardierung ist sowohl intraspezifisch zwischen Rassen einer Art als auch interspezifisch zwischen Arten möglich |
| C | |
| Chromosom | Träger der genetischen Erbinformation in Form der langkettigen DNA, umgeben von Hüllproteinen (Histone) |
| Chromosomenmutation | Veränderungen der Chromosomenstruktur, die in 4 Gruppen eingeteilt werden: ⇒Deletion, ⇒Duplikation, ⇒Translokalisierung, ⇒Inversion |
| codominant | ⇒kodominant |
| D | |
| Deletion | Eliminierung eines Chromosomenabschnitts |
| dimere Struktur | Enzym, das in seiner funktionsfähigen molekularen Struktur aus zwei ⇒Untereinheiten zusammengesetzt ist |
| diploid | zwei Chromosomensätze, die auf die jeweiligen Eltern zurück gehen, sind in den somatischen Zellen der Eukaryoten vorhanden |
| DNA (veraltet: DNS) | <u>Desoxyribonukleinsäure</u> (-acid): chemischer Baustein der Chromosomen; Träger der genetischen Information der Organismen |
| DNA-Sequenz | lineare Aneinanderreihung der vier verschiedenen DNAs mit den Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin durch Verknüpfung mit phosphorylierter Desoxyribose in unterschiedlicher Reihenfolge und Anteilen zu sehr langen Ketten in den ⇒Chromosomen |
| Drift, genetische | zufallsbedingte genetische Strukturänderung einer in ihrem Umfang beschränkten Population |
| Duplikation | Verdoppelung eines Chromosomenabschnitts |

| E | |
|------------------------------|--|
| Elektrophorese | Labor-Auftrennungsverfahren z.B. von Proteinen wie Enzymen durch Ausnutzung von Ladungs- und Molekülgrößenunterschieden. Wichtiges Verfahren in der Populationsgenetik, um das Ausmaß der Proteinvariabilität innerhalb oder zwischen Populationen festzustellen. |
| Enzym-Genmarker | <i>syn.</i> Isoenzym-Genmarker, Kategorie von codominaten Genmarkern, die größtenteils umweltunabhängig sind und seit längerem in der Forstgenetik für Routineuntersuchungen eingesetzt werden (z.B. Erfassung der genetischen Diversität von Waldbaumpopulationen, Überprüfung von Samenplantagen hinsichtlich der korrekten Klonzugehörigkeit der eingebrachten Pflanzen etc.) |
| Enzymsystem | bei bestimmten Stoffwechselprozessen mit gleicher katalytischer Funktion wirkende Proteine, die sich in ihren molekularen Strukturen unterscheiden (können) und subzellulär unterschiedlich bzw. in verschiedenen Organen lokalisiert sind (bzw sein können); diese multiplen molekularen Enzymformen werden durch verschiedene Genorte kodiert |
| Eukaryo(n)t | (höherer) Organismus, der einen Zellkern besitzt; Gegensatz: Prokaryo(n)t (Organismen ohne Zellkern wie Bakterien) |
| ex situ | weg vom Ort des Vorkommens. |
| F | |
| Fitness | relative Reproduktionsrate der Individuen einer Population, ergibt sich aus Überlebensfähigkeit (\Rightarrow Viabilität) und Fruchtbarkeit (Fertilität) |
| Fixierung | gerichtete Selektion, die Invariabilität von bestimmten Allozymen bedingt |
| G | |
| Gameten | bei \Rightarrow Eukaryoten \Rightarrow haploide Geschlechtszellen, die der geschlechtlichen Fortpflanzung dienen und die zur \Rightarrow diploiden \Rightarrow Zygote führen |
| Gendrift | zufallsbedingte genetische Strukturänderung einer in ihrem Umfang beschränkten Population |
| Gene | Erbanlagen; an bestimmten Chromosomenorten (\Rightarrow Genort) lokalisierte Funktionseinheiten der genetischen Information, die verantwortlich für die Realisierung eines bestimmten Merkmals sind und an die Nachkommenschaft weitergegeben werden |
| genetische Analyse | auf der Basis des \Rightarrow Vererbungsmodus durchzuführendes genetisches Analyseverfahren zur Interpretation von Isoenzym-Bandenmustern |
| genetische Differenzierung | quantitative Messgröße, die angibt, inwieweit sich Populationen infolge des Besitzes bestimmter genetischer Strukturen voneinander unterscheiden |
| genetische Diversität | quantitative Messgröße, die sowohl die \Rightarrow genetische Vielfalt als auch die Häufigkeitsverteilung der genetischen Merkmalsausprägung beinhaltet |
| genetischer Abstand | relativer Anteil von genetischen Strukturen, die ausgetauscht werden müssten, um aus der genetischen Struktur einer Population die der anderen entstehen zu lassen |
| genetische Struktur | Häufigkeitsverteilung von Genen (Allelen) und Genotypen in einer Population |
| genetische Vielfalt | Anzahl der verschiedener Genotypen in einer Population |
| genische Vielfalt | Gesamtzahl aller an den verschiedenen Genorten einer Population vorzufindenden Anzahlen von Allelen |
| Genlocus, <i>Pl.</i> Genloci | \Rightarrow Genort |
| Genmutation | <i>syn.</i> Punktmutation; Veränderung im Genort, d.h. in der \Rightarrow DNA-Sequenz |
| Genom | Gesamtheit der auf den Chromosomen des Zellkerns lokalisierten Gene (ursprünglich: haploider Chromosomensatz!) |
| Genommutation | Veränderung der Chromosomenzahl |
| Genort | ein ganz bestimmter abgegrenzter DNA-Abschnitt auf Chromosomen mit der jeweiligen spezifischen Erbinformation |
| genotypische Struktur | Häufigkeitsverteilung der Genotypen in einer Population |

| G | |
|-------------------|--|
| Genotyp | a) Gesamtheit der in der DNA des Zellkerns vorliegende Erbinformation eines Individuums, dieser Genbestand ist bei den höheren Organismen auf mehrere \Rightarrow Chromosomen verteilt. b) Teile dieser genetischen Information in Form des Allelbestandes an bestimmten Genorten |
| Genpaar | \Rightarrow Allele auf homologen Chromosomen |
| Genpool | Gesamtheit der Erbanlagen aller Individuen einer Population |
| H | |
| haploid | vollständig vorhandener einfacher Chromosomensatz, z.B. in Geschlechtszellen (\Rightarrow Gameten) |
| Herkunft | Wuchsort, an dem sich eine autochthone oder nichtautochthone Population von Gehölzen wie Bäumen und Sträuchern (Bestand) befindet |
| Herkunftsgebiet | Gebiet, in dem sich autochthone oder nichtautochthone Bestände mit ganz bestimmten Eigenschaften befinden |
| Heterosiseffekt | \Rightarrow Bastarde zwischen verschiedenen Formen, Sorten oder Linien einer biologischen Art mit über das elterliche Maß hinausgehender Wüchsigkeit, gesteigerter Leistung und erhöhter Vitalität |
| heterozygot | gemischerbig, d.h. die \Rightarrow Allele eines \Rightarrow Genpaares sind verschieden |
| homozygot | gleicherbig; die \Rightarrow Allele eines \Rightarrow Genpaares sind gleich |
| Hybridisierung | \Rightarrow Bastardierung |
| I, J | |
| in situ | am Ort des Vorkommens |
| Insertion | Chromosomenmutation, bei der ein Segment in ein nichthomologes Chromosom des gleichen Chromosomensatzes eingebaut wird (\Rightarrow Translokation) |
| Inversion | Herausbrechen eines Abschnitts aus dem Chromosom, der um 180° versetzt, wieder in das Chromosom eingefügt wird |
| Inzuchtdepression | Leistungsverminderung durch zunehmende Homozygotie an einer größeren Anzahl von Genpaaren (z.B. durch Selbstbefruchtung oder Kreuzung innerhalb verwandter Individuen) (Gegenteil: Heterosiseffekt) |
| Isoenzymanalyse | analytische Labormethode, bei der mittels Elektrophoreseverfahren Isoenzyme z.B. auf einem Stärkegel aufgetrennt werden und nachfolgend durch enzymespezifische Anfärbungen sichtbar gemacht werden; nach einer \Rightarrow genetischen Analyse lassen die erhaltenen phänotypischen Bandenmuster Rückschlüssen auf die zugrunde liegenden genetischen Strukturen (Allele, Genotyp) zu |
| Isoenzyme | Enzyme, welche identische oder sehr ähnliche katalytische Funktionen besitzen, die sich aber auf der molekularen Ebene strukturell unterscheiden. \Rightarrow Alloenzyme sind Isoenzyme, die von den \Rightarrow Allelen eines Genortes kodiert werden |
| Isolation | infolge bestimmter Mechanismen entstandene räumliche Distanz und somit Trennung des Genpools einer Art in Rassen, Populationen oder Individuengruppen (z.B. Hoch- und Tieflagenrassen); Grundlage der Erhaltung von lokalen Anpassungsformen |
| K | |
| Klon | ungeschlechtlich (vegetativ) entstandene Abkömmlinge (\Rightarrow Ramet) einer Ausgangspflanze oder auch einer Zelle einschließlich dieses Ausgangsindividuums (\Rightarrow Ortet); die Individuen eines Klons sind i.d.R. hinsichtlich der in den Chromosomen lokalisierten Erbinformationen identisch |
| kodominant | beide an einem Genort vorhandene Allele sind in ihrer ggf. unterschiedlichen Struktur als solche zu erkennen; Gegensatz: dominant, wobei hier das dominante Allel die Gegenwart des anderen rezessiven Allels maskiert und dieses somit nicht erkannt werden kann |

| L | |
|-----------------------|--|
| Locus | ⇒Genlocus |
| M, N | |
| molekulare Marker | Überbegriff für alle DNA-Marker, die durch direkte DNA-Analyse untersucht werden, z.B. ⇒RAPD Fingerprinting; Abgrenzung zu ⇒Isoenzym-Genmarkern, die biochemisch-genetische Marker sind |
| monomere Struktur | molekulare Struktur eines Enzym, das nur aus einer einzigen ⇒Polypeptidkette besteht |
| Monözie | einhäusig; auf einem Individuum sind männliche <i>und</i> weibliche Blüten vorhanden; Gegensatz: zweihäusig bzw. diözisch |
| Moran's I | statistisches Maß zur Quantifizierung der räumlichen Autokorrelation; findet in der Forstgenetik Anwendung z.B. bei der Identifizierung von Verteilungsmustern von genetischen Strukturen in Beständen |
| Multilocus-Diversität | ⇒genetische Diversität bezogen auf mehrere Genorte |
| Multilocus-Genotyp | ⇒genotypische Strukturen bezogen auf mehrere Genorte |
| Mutation | bleibende Veränderungen des genetischen Materials; zu unterscheiden sind ⇒Genommutationen, ⇒Chromosomenmutationen und ⇒Gen- oder Punktmutationen |
| O | |
| Ökotyp | Standortrasse; durch bestimmte Standortbedingungen geprägte erhaltungsfähige Teilpopulation, die in der Folgegeneration bei gleichen Umweltbedingungen ihr Erscheinungsbild beibehält |
| Ortet | Ausgangsindividuum eines ⇒Klons |
| P | |
| PCR-Methode | Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion); Labortechnik, mit der DNA-Abschnitte aus geringsten Probenmengen in kurzer Zeit bis zur Nachweisbarkeit vervielfältigt werden können |
| polymere Struktur | Enzym, das in seiner molekularen Struktur aus mehr als zwei ⇒Untereinheiten zusammengesetzt ist |
| polymorphe Genorte | Genorte, für die nachgewiesenmaßen mehrere verschiedene genetische Strukturen existieren (Gegensatz: monomorphe Genorte) |
| Polymorphismus | „Vielgestaltigkeit“; bezeichnet in der Genetik die infolge ⇒Mutation entstandenen in ihrer ⇒DNA-Sequenz unterschiedlichen Genstrukturen an einem Genort, die z.B. für eine Reihe von Enzymen mit der ⇒Isoenzymanalyse nachgewiesen werden können |
| Polypeptidkette | über den Prozess der Proteinbiosynthese genetisch gesteuerte kettenartige Aneinanderlagerung von Aminosäuren |
| Population | Kollektiv von Individuen einer biologischen Art, das die Fähigkeit besitzt, genetische Information in großer Vielfalt zu speichern, neu zu kombinieren, in ihrer Häufigkeitsverteilung zu verändern und den Fortbestand der Population über Generationen hinweg zu sichern |
| Primer | kurzkettige DNA-Sequenzen, die komplementär zu bestimmten bekannten oder auch nicht bekannten Abschnitten der langkettigen Chromosomen-DNA sind |
| Provenienz | in der forstlichen Praxis synonym verwendet für ⇒Herkunft |
| Q | |
| Quartärstruktur | Zusammenlagerung von zwei (⇒dimere Struktur) oder mehreren ⇒polymere Struktur) ⇒Polypeptidketten (Eiweißketten) zum funktionsfähigen Enzym |
| R | |
| Ramet | vegetativer Abkömmling einer Ausgangspflanze |
| RAMPO | DNA-Marker; Random Amplified Microsatellite Polymorphism (zufällig amplifizierter Mikrosatelliten Polymorphismus) |
| RAPD Fingerprinting | DNA-Marker; Random Amplified Polymorphic DNA Fingerprinting (zufällig amplifiziertes polymorphes DNA-Fingerprinting) |

| R | |
|----------------------|---|
| Rasse | durch genetische Eigenschaften charakterisierte Ansammlung von Populationen einer biologischen Art |
| repetitive Sequenz | Abschnitte im Genom, die sich auf einem Chromosom direkt hintereinander aufgereiht mehrfach mit derselben DNA-Sequenz wiederholen |
| S | |
| Selektion | natürliche und künstliche Auslese nach bestimmten Kriterien, Eigenschaften oder Merkmalen; <i>gerichtete Selektion</i> : Änderungen von Allelhäufigkeiten in der Generationenfolge durch Umwelteinwirkung. |
| Species | ⇒biologische Art |
| T | |
| Translokalisierung | Verlagerung von Chromosomenabschnitten innerhalb eines einzelnen Chromosoms oder auch zwischen Chromosomen |
| U | |
| Untereinheit | Polypeptidkette, die z.B. Baustein eines aus mehreren Teilen bestehenden katalytisch funktionsfähigen Enzyms ist |
| UPGMA-Dendrogramm | statistisches Verfahren der Clusteranalyse mit grafischer Darstellung eines Gruppierungsmusters (sog. Dendrogramm); [UPGMA, unweighted pair-group method by arithmetic means] |
| Ursprung | Herkunftsort einer autochthonen Population (⇒Herkunftsgebiet) |
| V - Y | |
| Vererbungsmodus | umfasst den Weitergabemodus der Gene von den Eltern an die Nachkommenschaften (Art der Weitergabe) sowie den Wirkungsmodus (z.B. Dominanz, Kodominanz, Rezessivität) |
| Viabilität | Fähigkeit eines Individuums, bis zum reproduktiven Alter zu überleben |
| Viabilitätsselektion | Folgeerscheinung unterschiedlicher Überlebensfähigkeiten von Genotypen hinsichtlich ihrer jeweiligen Anpassungsfähigkeit bzw. Anpasstheit an spezifische ökologische Bedingungen |
| Vielfalt | Anzahlen genetischer Varianten in einer Population |
| Z | |
| Zygote | befruchtete diploide Eizelle der Eukaryoten |
| Zymogramm | mittels histochemischer Anfärbeverfahren z.B. auf einem Stärkegel sichtbar gemachte elektrophoretische Bandenmuster von Allozymen |

Bisher sind folgende Mitteilungen aus der *Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz* erschienen:

| | | |
|---------|--|---------|
| 48/2002 | JAHRESBERICHT 2001 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 47/2001 | JAHRESBERICHT 2000 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 46/1999 | JAHRESBERICHT 1999 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 45/1999 | DELB, BLOCK Untersuchungen zur Schwammspinnerkalamität von 1992 – 1994 in Rheinland-Pfalz ISSN 0931-9662 | € 13,-- |
| 44/1998 | JAHRESBERICHT 1998 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 43/1997 | JAHRESBERICHT 1997 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 42/1997 | BÜCKING, EISENBARTH, JOCHUM Untersuchungen zur Lebendlagerung von Sturmwurfholz der Baumarten Fichte, Kiefer, Douglasie und Eiche ISSN 0931-9662 | € 10,-- |
| 41/1997 | AUTORENKOLLEKTIV Stand der Ursachenforschung zu Douglasienschäden – derzeitige Empfehlungen für die Praxis ISSN 0931-9662 | € 10,-- |
| 40/1997 | SCHRÖCK (Hrsg.): Untersuchungen an Waldökosystemdauerbeobachtungsflächen in Rheinland-Pfalz – <i>Tagungsbericht zum Kolloquium am 04. Juni 1996 in Trippstadt</i> - ISSN 0931-9662 | € 8,-- |
| 39/1997 | JAHRESBERICHT 1996 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 38/1996 | AUTORENKOLLEKTIV Naturwaldreservate in Rheinland-Pfalz: Erste Ergebnisse aus dem Naturwaldreservat Rotenberghang im Forstamt Landstuhl ISSN 0931-9662 | € 13,-- |
| 37/1996 | HUNKE: Differenzierte Absatzgestaltung im Forstbetrieb - Ein Beitrag zu Strategie und Steuerung der Rundholzvermarktung ISSN 0931-9662 | € 10,-- |

| | | |
|---------|--|--------|
| 36/1996 | JAHRESBERICHT 1995 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 35/1995 | BLOCK, BOPP, BUTZ-BRAUN, WUNN: Sensitivität rheinland-pfälzischer Waldböden gegenüber Bodendegradation durch Luftschadstoffbelastung ISSN 0931-9662 | € 8,-- |
| 34/1995 | AUTORENKOLLEKTIV Genetik und Waldbau unter besonderer Berücksichtigung der heimischen Eichenarten ISSN 0931-9662 | € 8,-- |
| 33/1995 | EISENBARTH: Schnittholzeigenschaften bei Lebendlagerung von Rotbuche (<i>Fagus sylvatica</i> L.) aus Wintersturmwurf 1990 in Abhängigkeit von Lagerart und Lagerdauer ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 32/1995 | AUTORENKOLLEKTIV Untersuchungen an Waldökosystem-Dauerbeobachtungsflächen in Rheinland-Pfalz ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 31/1995 | JAHRESBERICHT 1994 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 30/1994 | SCHÜLER: Ergebnisse forstmeteorologischer Messungen für den Zeitraum 1988 bis 1992 ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 29/1994 | FISCHER: Untersuchung der Qualitätseigenschaften, insbesondere der Festigkeit von Douglasien-Schnittholz (<i>Pseudotsuga Menziesii</i> (Mirb.)Franco), erzeugt aus nicht-wertgeästeten Stämmen ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 28/1994 | SCHRÖCK: Kronenzustand auf Dauerbeobachtungsflächen in Rheinland-Pfalz - Entwicklung und Einflußfaktoren - ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 27/1994 | OESTEN, ROEDER: Zur Wertschätzung der Infrastrukturleistungen des Pfälzerwaldes ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 26/1994 | JAHRESBERICHT 1993 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 25/1994 | WIERLING: Zur Ausweisung von Wasserschutzgebieten und den Konsequenzen für die Forstwirtschaft am Beispiel des Pfälzerwaldes ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 24/1993 | BLOCK: Verteilung und Verlagerung von Radiocäsium in zwei Waldökosystemen in Rheinland-Pfalz insbesondere nach Kalk- und Kaliumdüngungen ISSN 0931-9662 | € 6,-- |

| | | |
|---------|---|----------------------|
| 23/1993 | HEIDINGSFELD: Neue Konzepte zum Luftbildeinsatz für großräumig permanente Waldzustandserhebungen und zur bestandesbezogenen Kartierung flächenhafter Waldschäden ISSN 0931-9662 | € 10,-- |
| 22/1993 | JAHRESBERICHT 1992 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 21/1992 | AUTORENKOLLEKTIV: Der vergleichende Kompensationsversuch mit verschiedenen Puffersubstanzen zur Minderung der Auswirkungen von Luftschadstoffeinträgen in Waldökosystemen - Zwischenergebnisse aus den Versuchsjahren 1988 - 1991 - ISSN 0931-9662 | € 6,-- vergriffen |
| 20/1992 | JAHRESBERICHT 1991 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 19/1991 | AUTORENKOLLEKTIV: Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Sturm- und Immissionsschäden im Vorderen Hunsrück - "SIMS" - ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 18/1991 | Schüler, Butz-Braun, Schöne: Versuche zum Bodenschutz und zur Düngung von Waldbeständen ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 17/1991 | BLOCK, BOPP, GATTI, HEIDINGSFELD, ZOTH: Waldschäden, Nähr- und Schadstoffgehalte in Nadeln und Waldböden in Rheinland-Pfalz ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 16/1991 | BLOCK, BOCKHOLT, BORCHERT, FINGERHUT, HEIDINGSFELD, SCHRÖCK: Immissions-, Wirkungs- und Zustandsuntersuchungen in Waldgebieten von Rheinland-Pfalz - Sondermeßprogramm Wald, Ergebnisse 1983-1989 ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 15/1991 | JAHRESBERICHT 1990 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 14/1990 | BLOCK: Ergebnisse der Stoffdepositionsmessungen in rheinland-pfälzischen Waldgebieten 1984 - 1989 ISSN 0931-9662 | € 6,-- vergriffen |
| 13/1990 | SCHÜLER Der kombinierte Durchforstungs- und Düngungsversuch Kastellaun - angelegt 1959 - heute noch aktuell ? ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 12/1990 | JAHRESBERICHT 1989 ISSN 0931-9662 ISSN 0936-6067 | |
| 11/1989 | BLOCK, DEINET, HEUPEL, ROEDER, WUNN: Empirische, betriebswirtschaftliche und mathematische Untersuchungen zur Wipfelköpfung der Fichte ISSN 0931-9662 | € 6,-- |

| | | |
|---------|---|----------------------|
| 10/1989 | HEIDINGSFELD: Verfahren zur luftbildgestützten Intensiv-Waldschadenserhebung in Rheinland-Pfalz ISSN 0931-9662 | € 13,-- |
| 9/1989 | JAHRESBERICHT 1988 ISSN 0936-6067 | |
| 8/1988 | GERECKE: Zum Wachstumsgang von Buchen in der Nordpfalz ISSN 0931-9662 | € 13,-- |
| 7/1988 | BEUTEL, BLOCK: Terrestrische Parkgehölzschadenserhebung (TPGE 1987) ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 6/1988 | JAHRESBERICHT 1987 ISSN 0931-9662 | |
| 5/1988 | Die Forstliche Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz im Dienste von Wald und Forstwirtschaft - Reden anlässlich der Übergabe des Schlosses Trippstadt als Dienstsitz am 10.04.1987 - ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 4/1987 | BEUTEL, BLOCK: Terrestrische Feldgehölzschadenserhebung (TFGE 1986) ISSN 0931-9662 | € 6,-- vergriffen |
| 3/1987 | BLOCK, FRAUDE, HEIDINGSFELD: Sondermeßprogramm Wald (SMW) ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 2/1987 | BLOCK, STELZER: Radioökologische Untersuchungen in Waldbeständen ISSN 0931-9662 | € 6,-- |
| 1/1987 | JAHRESBERICHT 1984-1986 ISSN 0931-9662 | vergriffen |

