

UNTERSUCHUNGEN ZUR GENÖKOLOGIE DER DOUGLASIE
(Pseudotsuga menziesii [Mirb.] FRANCO).

DISSERTATION

zur Erlangung eines Doktorgrades

der

Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie

der

Georg-August-Universität

Göttingen

vorgelegt von

Raphael Thomas KLUMPP

geboren in Karlsruhe

Göttingen 1999

D7

1. Berichtstatter: Prof. Dr. H. H. Hattemer

2. Berichtstatter: Prof. Dr. F. Gruber

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.1999

meinen Eltern

Das Einzelne ist mehr,
als die Summe seiner Teile.

GOETHE

INHALTSVERZEICHNIS

Verzeichnis der Tabellen	IV
Verzeichnis der Abbildungen	VI
Verzeichnis verwendeter Quellen	VIII
Verzeichnis der Abkürzungen	VIII
Vorwort	IX
1. <u>Einleitung und Arbeitshypothese</u>	001
1.1. Einleitung und Zielsetzung	001
1.2. Arbeitshypothese	004
1.2.1. Streitfrage: Adaptivität von Isozymgenmarker	004
1.2.2. Herleitung der Arbeitshypothese	007
2. <u>Literaturübersicht</u>	009
2.1. Grundlegende Begriffe der Populationsgenetik	009
2.1.1. Population und Herkunft	009
2.1.2. Genmarker - Markergene	009
2.1.3. Genetische Strukturen und Variation - ihre Erfassung und Interpretation	010
2.1.3.1. Genetische Strukturen: allelische und genotypische	011
2.1.3.2. Variation innerhalb einer Population	012
2.1.3.3. Variation zwischen Populationen	014
2.2. Biochemische Untersuchungsmethoden	015
2.2.1. Terpene als biochemische Merkmale	015
2.2.2. Isoenzyme - Begriff und Anwendung als Genmarker	015
2.2.3. DNA-Analyse	017
2.2.3.1. Ergebnisse von DNA-Untersuchungen an Douglasie	018
2.3. Funktion und Bau der zu populationsgenetischen Analysen herangezogenen Enzymsysteme.	020
2.3.1. Das Enzymsystem Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase	020
2.3.2. Das Enzymsystem Isocitrat-Dehydrogenase	021
2.3.3. Das Enzymsystem Leucin-Amino-Peptidase	022
2.3.4. Das Enzymsystem 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	024
2.3.5. Das Enzymsystem Shikimat-Dehydrogenase	026
2.4. Identifikation von forstlichem Vermehrungsgut	027
2.5. Studien zur taxonomischen Untergliederung der Species <i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	029
2.5.1. Klassische Studien zur intraspezifischen Differenzierung der Douglasie	029
2.5.2. Terpene als Unterscheidungsmerkmale	035
2.5.3. Populationsgenetische Untersuchungen auf der Basis von Isozymanalysen	038
3. <u>Material und Methoden</u>	051
3.1. Material	051
3.1.1. Material für eigene Untersuchungen	051
3.1.2. Stichprobengröße	058
3.1.3. Zusätzliches Daten-Material	058

3.2.	Methoden	060
3.2.1.	Biochemisch Methoden	060
3.2.2.	Mathematisch-statistische Verfahren	062
3.2.3.	Dokumentation	064
4.	<u>Ergebnisse der morphologischen Studien</u>	067
4.1.	Morphologische Merkmale von Vergleichsprovenienzen	068
4.2.	Morphologische Knospenmerkmale badischer Altdouglasienbestände	072
4.3.	Mathematische Betrachtungen zur provenienztypischen Strukturierung morphologischer Merkmale von Knospen	073
4.3.1.	Typische Merkmalsstrukturen für Regionen der Vergleichsprovenienzen	073
4.3.2.	Ursprungsrekonstruktion mittels morphologischer Merkmalsstrukturen	076
4.4.	Diskussion	080
4.5.	Schlußfolgerungen aus den morphologischen Studien	083
5.	<u>Ergebnisse biochemisch-genetischer Studien</u>	087
5.1.	Auswirkung von Entwicklungsstadium, Gewebetyp sowie von unterschiedlichen physikochemischer Versuchsbedingungen auf die Enzymdarstellung	087
5.1.1.	Die Zymogramme des Enzymsystemes GOT	087
5.1.1.1.	Vergleich von GOT-Zymogrammen verschiedener Gewebetypen unterschiedlichen physikochemischen Bedingungen	089
5.1.1.2.	Untersuchungen zur stadienspezifischen Aktivität einzelner Teilzonen des Markergenlocus GOT-C	091
5.1.1.3.	Diskussion	094
5.1.1.4.	Zusammenfassung	097
5.1.2.	Die Zymogramme des Enzymsystemes IDH	098
5.1.3.	Die Zymogramme des Enzymsystemes LAP	100
5.1.3.1.	Untersuchungen zur Substratspezifität der Aminopeptidase-Genmarker	102
5.1.3.2.	Material und Methode	103
5.1.3.3.	Ergebnisse	106
5.1.3.4.	Diskussion und Schlußfolgerungen	106
5.1.4.	Die Zymogramme des Enzymsystemes 6-PGDH	109
5.1.5.	Die Zymogramme des Enzymsystemes SKDH	114
5.2.	Variation genetischer Parameter in den Sets des Untersuchungsmaterials	117
5.2.1.	Variation in den Proben aus Handels-Saatgut	117
5.2.2.	Variation in den Proben aus Provenienzversuchen	121
5.2.3.	Variation in den Proben aus badischen Altbeständen	124
5.2.3.1.	Exkurs I: Analyse von Teilpopulationen des Bestandes "B03"	126
5.2.3.2.	Exkurs II: Analyse von Demen des Bestandes "B06"	127
5.2.4.	Prüfung des untersuchten Vergleichsmaterials auf Inzuchtbelastung	130
5.2.5.	Diskussion	133
5.2.6.	Schlußfolgerungen	139
5.3.	Abgrenzung von Teilarealen der Douglasie nach allelischen Struktur-Typen	140
5.3.1.	Beobachtete Allelische Strukturen: Ergebnis und Diskussion	140
5.3.1.1.	Allelische Strukturen an den Genloci des Enzymsystemes GOT	140
5.3.1.2.	Allelische Strukturen am Genlocus des Enzymsystemes IDH	146
5.3.1.3.	Allelische Strukturen an den Genloci des Enzymsystemes AMP	150
5.3.1.4.	Allelische Strukturen am Genlocus 6-PGDH-A	155
5.3.1.5.	Allelische Strukturen am Genlocus SKDH-B	161

5.3.2.	Zusammenfassung der geographischen Variation allelischer Strukturen	164
5.3.3.	Diskussion der Arealuntergliederung	169
5.3.4.	Schlußfolgerungen	187
5.4.	Zur Unterschiedlichkeit der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i>	189
5.4.1.	Genetische Abstände	189
5.4.2.	Populationsdifferenzierung	192
5.4.3.	Schlußfolgerungen	195
5.5.	Aufbau und Anwendung von Modellen zur Ursprungs- rekonstruktion	197
5.5.1.	Vergleich von Referenzvektoren	197
5.5.2.	Zuordnung mittels Clusteranalyse	200
5.5.3.	Hypothesenprüfung mittels Populationsdifferenzierung	202
5.5.4.	Diskussion	209
5.5.5.	Schlußfolgerungen	212
6.	<u>Schlußbetrachtungen</u>	213
7.	<u>Zusammenfassung der Dissertation</u>	217
	Summary	223
8.	<u>Literatur</u>	227
	<u>Anhang:</u>	243
I.	Abbildungen	243
II.	Tabellen	261

Verzeichnis der Tabellen

2-1	Verbreitungskategorien von Allelen	11
2-2	Varietäten von <i>Pseudotsuga menziesii</i>	29
2-3	Morphologische Merkmale zur Differenzierung von Varietäten der Douglasie	30
2-4	Die genetische Variation der Douglasie – eine Übersicht	45
3-1	Übersicht der untersuchten nordamerikanischen Douglasien-Provenienzen: I. Analysiertes Handelsgut	53
3-2	Übersicht der untersuchten nordamerikanischen Douglasien- Provenienzen: II. Amerikanische Herkünfte aus baden-württembergischen Versuchsanbauten	54
3-3	Übersicht der untersuchten Douglasien-Provenienzen: III. Bestände von Alt-Douglasien aus dem badischen Raum.	55
3-4	Einzelnachkommenschaften aus dem Bestand Nr. B06 (Heidelberg I.25), gewonnen im Herbst 1990.	57
3-5	Verwendete Extraktionspuffer	60
3-6	Eingesetzte Trennpuffersysteme sowie physikalische Trennbedingungen	61
3-7	Enzymdarstellung	62
3-8	Verwendete Programme zur statistischen Datenauswertung	63
4-1	Morphologische Charakteristika der Knospen von Douglasie aus dem nördlichen Teilareal: Merkmalsträger in Prozentanteilen	71
4-2	Faktoranalyse der Vergleichsherkünfte: Verwendete Variablen sowie Eigenwerte und Erklärungsfähigkeit der extrahierten Faktoren	74
4-3	Rotierte Faktormatrix: Eigenvektoren der extrahierten Faktoren	74
4-4	Faktoranalyse des Gesamtdatensatzes: Verwendete Variablen sowie Eigenwerte und Erklärungsfähigkeit der extrahierten Faktoren	77
4-5	Rotierte Faktormatrix des Gesamtdatensatzes inklusive badischer Altbestände: Eigenvektoren der extrahierten Faktoren	77
4-6	Merkmale der Knospengestalt zur infraspezifischen Differenzierung bei <i>Pseudotsuga menziesii</i>	84
5-1	Die Isozyme des Systems GOT	88
5-2	Rang-Korrelationskoeffizienten [r_s] zwischen Isozymaktivität am Genlocus GOT-C (mittlere Extinktions-Werte) und Länge der Radicula beim Makrogametophyten	93
5-3	Rang-Korrelationskoeffizienten [r_s] zwischen Isozymaktivität am Genlocus GOT-C (mittlere Extinktions-Werte) und Länge der Radicula beim Embryo	93
5-4	Unabhängigkeit der Aktivität der Teilzonen GOT-C ^I und GOT-C ^{III} untereinander	94
5-5	Unabhängigkeit von GOT-C Teilzonen der Population S05/S03 untereinander	94
5-6	Die Isozyme des Systems IDH	98
5-7	Die Isozyme des Systems LAP	100
5-8	Verwendete Aminosäure-Substrate zum Nachweis von Aminopeptidasen	103
5-9	Geschätzte relative Färbungsintensität unterschiedlicher Aminopeptidasen im Vergleich zu Leucinaminopeptidasen bei Douglasie	107
5-10	Die Isoenzyme des Systems 6-PGDH	111
5-11	Beobachtete Segregation am Makrogametophyt eines Mutterbaumes des Bestandes "Heidelberg I.25" (B06)	114
5-12	Die Isoenzyme des Systems SKDH	116
5-13	Ausprägung genetischer Variationsparameter in Saatgutproben aus dem natürlichen Areal von <i>Pseudotsuga menziesii</i>	119
5-14	Ausprägung genetischer Variationsparameter in Stichproben eines Provenienzversuches von <i>Pseudotsuga menziesii</i>	120

5-15	Variation genetischer Parameter in Altdouglasienbeständen aus Baden-Württemberg	125
5-16	Ausprägung genetischer Variationsparameter in Bestandeskollektiven im Zuge einer späten Durchforstung (Bsp.B03)	127
5-17	Metrische Merkmale zur Sprengmast des Jahres 1990 im Douglasienbestand der Abteilung I.25 des Stadtwaldes Heidelberg (B06)	128
5-18	Ausprägung genetischer Variationsparameter eines Ausgangsbestandes (Bsp.B06) im Vergleich mit einer Nachkommenschaft aus Sprengmast	129
5-19	Hardy-Weinberg-Heterozygotie und Fixierungsindex für einen Ausgangsbestand (Bsp. B06) und dessen Nachkommenschaft aus Sprengmast	129
5-20	Hardy-Weinberg Struktur und Fixierungsindex für Vergleichspopulationen aus Handelssaatgut	131
5-21	Hardy-Weinberg Struktur und Fixierungsindex für Vergleichspopulationen aus baden-württembergischen Versuchsanbauten	132
5-22	Vergleich von Werterelationen genetischer Parameter zwischen der Hauptformen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> .	137
5-23	Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes GOT	143
5-24	Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles B3 am Genort GOT-B zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis	145
5-25	Referenzstrukturen für den Genort IDH	147
5-26	Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles Nr.5 am Genort IDH zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis	150
5-27	Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes AMP	151
5-28	Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles A2 am Genort AMP-A zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis	154
5-29	Referenzstrukturen für den Genort 6-PGDH-A	157
5-30	Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles A4 am Genort 6-PGDH-A zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis	159
5-31	Referenzstrukturen für den Genort SKDH-B	163
5-32	Zuordnungsmöglichkeiten zu Ökotypen der Douglasie für badische Altbestände	200
5-33	Test über Zugehörigkeit zum zentralen Küstenökotyp (KM) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj	207
5-34	Test über Zugehörigkeit zum Campbell River Ökotyp (CB) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj	208
5-35	Übersicht der Zuordnungsmöglichkeiten zu Ökotypen der Douglasie für badische Altbestände	209
5-36	Differenzierung zwischen Populationen der Douglasie	210

Verzeichnis der Abbildungen

2-1	Modell der Quartär-Struktur von LAP aus der Linse des Rinderauges	23
2-2	Die Rolle des SKDH im Shikimatweg	25
2-3	<i>Pseudotsuga menziesii</i> : Zapfentypen der Varietäten "viridis", "caesia" und "glauca".	31
2-4	Benadelung von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Leittypen und Farben für die Varietäten "viridis", "caesia" und "glauca".	33
2-5	Rote, weibliche Blüten finden sich häufig bei Individuen der Varietät "glauca".	34
2-6	Zuweilen treten karmesinrote Staubbeutel auf, hier an Varietät "caesia".	34
2-7	Weitverbreitet bei den Antheren ist der Farbton blaßgelb sowie bei weiblichen Blüten die Farbe hellgrün, hier an Varietät "viridis"	34
2-8	Chemotaxonomische Untergliederung der Douglasie mittels Rindenharzterpenen	36
2-9	Chemotaxonomische Untergliederung der Douglasie mit Hilfe von Nadelölterpenen	36
3-1	Lage der analysierten Provenienzen in Nordamerika.	52
3-2	Lage der analysierten badischen Altbestände sowie Lage des Versuches Steinheim der FVA Freiburg.	52
3-3	Formen der Endknospe bei der Douglasie, schematisch	56
4-1	Beispiele von Form- bzw. Farbtypen der Endknospe an Zweigen erster und zweiter Ordnung von <i>Pseudotsuga menziesii</i>	67
4-2	Beispiele von Formtypen der Endknospe bei der Douglasie	68
4-3	Knospenmorphologie von Vergleichsprovenienzen, angezogen in Baden-Württemberg	69
4-4	Knospenmorphologie badischer Altbestände	70
4-5	Dendrogramm der Clusterung von Vergleichsherkünften auf der Basis kombinierter morphologischer Merkmalsmuster	76
4-6	Dendrogramm der Clusterung des Gesamtdatensatzes auf der Basis faktoranalytisch kombinierter morphologischer Merkmalsmuster	79
4-7	Beispiele von Formen der Endknospe bei der Küstendouglasie	80
5-1	GOT-Zymogramm aus Makrogametophyt, Puffersystem B	90
5-2	GOT-Zymogramm, Puffersystem A	90
5-3	GOT-Zymogramm, Population B06	90
5-4	GOT-Zymogramm, Provenienz K01	90
5-5	Entwicklungsabhängigkeit der Aktivität einzelner Teilzonen von GOT-C im Makrogametophyten	92
5-6	Entwicklungsabhängigkeit der Aktivität einzelner Teilzonen von GOT-C im Embryo	92
5-7	IDH-Zymogramm, Provenienz S27, Puffersystem D	99
5-8	IDH-Zymogramm, Provenienz S27, Puffersystem C	99
5-9	IDH-Zymogramm, Population B03, Puffersystem C	99
5-10	LAP-Zymogramm, Population S02, Puffersystem A	101
5-11	LAP-Zymogramm, Population S02, Puffersystem B	101
5-12	LAP-Zymogramm, Bestand B06, Puffersystem B	101
5-13	AMP-Zymogramm, Phenylalanin/Lysin, Puffersystem B	101
5-14	LAP-Zymogramm, Population S24, Puffersystem B	104
5-15	Alanin-AMP-Zymogramm, Population S24, Puffersystem B	104
5-16	LAP-Zymogramm, Population S24, Puffersystem B	104
5-17	Arginin-AMP-Zymogramm, Population S24, Puffersystem B	104
5-18	LAP-Zymogramm, Population B06, Nr. 24, Puffersystem B	105
5-19	Alanin-AMP-Zymogramm, Population B06, Nr. 24, Puffersystem B	105
5-20	LAP-Zymogramm, Population S25, Puffersystem B	105
5-21	Isoleucin-AMP-Zymogramm, Population S25, Puffersystem B	105
5-22	6-PGDH-Zymogramm, Provenienz S25, Puffersystem C	110
5-23	6-PGDH-Zymogramm, Population B06, Puffersystem C	110
5-24	6-PGDH-Zymogramm, Provenienz S26, Puffersystem C	112

5-25	6-PGDH-Zymogramm, Provenienz S26, Puffersystem D	112
5-26	SKDH-Zymogramm, Population B06, Puffersystem C	115
5-27	SKDH-Zymogramm, Population B01, Puffersystem C	115
5-28	SKDH-Zymogramm, Provenienz S25, Puffersystem C	115
5-29	Ausprägung der hyp.gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saatgutproben aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie	122
5-30	Ausprägung der hyp.gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saatgutproben und in einem Provenienzversuch aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie	123
5-31	Arealspezifität seltener Allele am Genort GOT-A in den Proben	141
5-32	Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort IDH: Vorkommen und Häufigkeit der Allele Nr.3 und Nr.8	149
5-33	Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort AMP-A: Vorkommen und Häufigkeit des Alleles A2	153
5-34	Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort 6-PGDH-A: Vorkommen und Häufigkeiten der Allele A2 und A6	156
5-35	Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort SKDH-B: Vorkommen und Häufigkeiten der Allele B1 und B3	162
5-36	Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Teilareale und Referenzvektoren	167
5-37	Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Teilareale und Referenzvektoren	168
5-38	Hauptniederschlagsperioden und ihre Arealausdehnung in Nordamerika	170
5-39	Verbreitung von Clark's Nutcracker (<i>Nucifraga columbiana</i>) sowie Pinyon Jay (<i>Gymnorhinus cyanocephalus</i>) in Nordamerika	179
5-40	Steller's Jay (<i>Cyanocitta stelleri</i>): Verbreitung von Unterarten im westlichen Nordamerika	180
5-41	Dendrogramm der Tschebyscheff-Clusterung auf der Basis des Genpoolabstandes für Handelssaatgut über 8 Genorte	190
5-42	Dendrogramm der Tschebyscheff-Clusterung auf der Basis von Häufigkeitswerten für Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte	191
5-43	Populationsdifferenzierung der Douglasie im Genpool sowie für ausgewählte Genorte	193
5-44	Vergleich von Referenzvektoren dreier Ökotypen mit Populationsvektoren badischer Altbestände	198
5-45	Dendrogramm der Tschebyscheff-Clusterung auf der Basis von Häufigkeitswerten der Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte	201
5-46	Populationsdifferenzierung im Genpool sowie am Genort SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp	203
5-47	Populationsdifferenzierung am Genlocus SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp und unterschiedlichen Testpopulationen	204
5-48	Populationsdifferenzierung am Genlocus SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp und unterschiedlichen Testpopulationen	205

Verzeichnis verwendeter Quellen

- Q1 Forsteinrichtungswerk für den Gemeindewald Münstertal 1907 (FA Staufen)
Q2 Rechnungsbeilagen für die Jahre 1900 - 1915 (Archiv: Gemeinde Münstertal)
Q3 Forsteinrichtungswerk für den Gemeindewald Münstertal 1981 (FA Staufen)
Q4 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1987 (FA Heidelberg)
Q5 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1976 (FA Heidelberg)
Q6 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1910 (FA Heidelberg)
Q7 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1903 (FA Heidelberg)
Q8 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1891 (FA Heidelberg)
Q9 Forsteinrichtungswerk für den Stadtwald Heidelberg 1954 (FA Heidelberg)

Verzeichnis der Abkürzungen

- A genische Vielfalt, Summe beobachteter Allele über alle Genloci
A/L mittlere Anzahl von Allelen je Genlocus
ABST Altbestand
DF Durchforstungsergebnis
Dj Populationsdifferenzierung innerhalb einer Art
Er Embryo-Gewebe
F Fixierungsindex
Forts. Fortsetzung
H_a aktuell gefundener, mittlerer Heterozygotiegrad an den beobachteten Genloci
Kn Knospengewebe
ly langly (Strahlungseinheit)
M Makrogametophyten-Gewebe
P₉₅ Anteil polymorpher Genorte [%] (Def. "polymorph": häufigstes Allel < 95 %)
rm Bezeichnung für Alloenzyme: Bezugsgröße = Mobilität relativ zu einem Standard
rf Bezeichnung für Alloenzyme: Bezugsgröße = Mobilität relativ zum häufigsten Alloenzym
VBST verbleibender Bestand
δ mittlere Differenzierung des Genpools einer Art
δ_T Gesamtdifferenzierung innerhalb einer Population
v Genpool-Diversität
v_{gam} hypothetisch gametische Multilocusdiversität: Potential innerhalb einer Population, unterschiedliche Gameten bilden zu können

Enzymsysteme

- AMP Aminopeptidase
GOT Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase
IDH Isocitrat-Dehydrogenase
LAP Leucin-Amino-Peptidase
SKDH Shikimat-Dehydrogenase
6-PGDH 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase

Ökotypen der Douglasie

- Cb Campell-Gruppe
IN nördliche Inlandsdouglasie
IS südliche Inlandsdouglasie
KN nördliche Küstendouglasie
KM zentrales Küstenvorkommen
KS südliche Küstendouglasie
NA Kaskaden-Nordausläufer
QC Queen Charlotte Sound
SR Sierra Nevada
Ü Übergangsgebiet: Blue Mountains

Vorwort

„Die nachfolgenden Blätter sollen einen kleine Beitrag liefern zur Frage, welche fremden Tannenarten (...) sich als anbauwürdig erweisen mögen. (...) Bei der Bearbeitung dieses Gegenstandes empfindet und erfährt man täglich mehr, daß unser Wissen Stückwerk (...)“ So beginnt John Booth seine berühmte Abhandlung über die „Douglas-Fichte“ im Jahre 1877, welche letztlich der Anlaß für die ersten systematischen Anbauversuche fremdländischer Holzarten in Deutschland war. In 122 Jahren hat sich daran nichts geändert, auch wenn die Fragestellung für die vorliegende Arbeit eine andere ist. Studien über die Douglasie bergen ständig neue Facetten, bilden stets neue Herausforderungen, sofern man diese Baumart mit ihrem beachtlichen Reaktionspotential verstehen lernen will.

Die vorliegende Arbeit ist unter durchaus unsicheren Bedingungen entstanden. Ständig mußte improvisiert werden, um das Ziel zu erreichen. Wenn nun der forstgenetische Teil der Arbeit der zurückliegenden Jahre vorliegt, so ist das der Unterstützung zu Verdanken, die ich teilweise völlig überraschend erfahren durfte. Die vorliegende Arbeit war als forstgeschichtliche Untersuchung begonnen worden und als ich den Rat der Kollegen aus der Forstgenetik suchte, fand ich diesen vorbehaltlos am Institut für Forstgenetik in Göttingen. Herrn Professor Hattemer bin ich nicht nur für fachliche Diskussionen, sondern auch für eine Reihe aufmunternder Telefongespräche dankbar. Herr Dr. Bergmann hat mir die ersten Gehversuche im Labor ermöglicht und stellte mir in der Folgezeit oft sein Fachwissen zur Verfügung, wenn wieder einmal Laborprobleme auftauchten. Hierfür bin ich großen Dank schuldig. Allen Kolleginnen und Kollegen des Institutes für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung danke ich für den stets offenen und herausfordernden Gedankenaustausch, den ich bisher selten in Europa gefunden habe.

Eine der vielen Überraschungen war die freundschaftliche Aufnahme in der Abteilung für angewandte Botanik und Saatgutprüfung der LUFA Augustenberg in Karlsruhe, wo mir der damalige Leiter, Herr Dr. Schmid, dankenswerterweise die Durchführung der Laboranalysen gestattete. Es waren nicht nur fachlicher Gedankenaustausch oder Zusammenarbeit sondern das mir entgegengebotene tiefe Vertrauen, welches mich beeindruckte und mir die Laboranalysen teilweise in Nachtschichten gestattete, während tagsüber der normale Dienst lief. Hier bin ich Herrn Professor Leist und Herrn Knoblauch zu dank verpflichtet, welche mir alle nur denkbaren Freiheiten gewährten für die erfolgreiche Durchführung der Laborarbeit ermöglichten. Der Dank für die Unterstützung meiner Arbeit gilt auch dem Anstaltsleiter, Herrn Professor Timmermann, sowie allen Kolleginnen und Kollegen dieses Hauses.

Ebenfalls zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Christoph Eisele, Firma Conrad Appel. Ohne ihn wäre die Beschaffung der Saatgutstichproben in diesem Umfang nicht möglich gewesen. Das Interesse, welche er meiner Arbeit entgegenbrachte, war ebenfalls oft Aufmunterung für mich.

Ferner möchte ich dem Initiator dieser Arbeit, Herrn Professor Gürth, Freiburg, für die mannigfache Unterstützung danken. Die Diskussionen mit ihm haben mir das vielfältige Ökosystem Wald und seine Geschichte immer wieder als eine Herausforderung erscheinen lassen. Mein Dank gilt ebenso Herrn Professor Stärk, Freiburg, der stets die interdisziplinäre Auseinandersetzung gefördert hat.

Als ich meine Tätigkeiten in Wien aufnahm, konnte ich nicht vorhersehen, daß sich die Vollendung der Dissertation so sehr verzögern würde. Wenn jetzt die Abfassung vorliegt, so muß ich mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen für das Verständnis meiner Konzentration auf die Dissertation bedanken. Besonders geschätzt habe ich die Unterstützung bei graphischen Arbeiten oder dem Schreiben von

Tabellen. Stellvertretend möchte ich hier Frau S. Reitschmidt und Frau M. Lex für ihr besonderes Engagement danken!

Der Studienstiftung des deutschen Volkes sowie der Landesforstverwaltung von Baden-Württemberg danke ich für finanzielle Unterstützung und Förderung meiner Arbeit.

Ein besonderer Dank gebührt jedoch meinen Eltern, die auf ihre Art die Arbeit in vielfacher Hinsicht gefördert und unterstützt haben und das nicht nur bei der Probennahme im Wald!

Wien, im Oktober 1999

R.K.

1. Einleitung und Arbeitshypothese

1.1. Einleitung und Zielsetzung

Zur Beurteilung des Einbürgerungserfolges einer fremdländischen Baumart empfehlen BURSCHEL & HUSS Kriterien der Produktionssicherheit, Kriterien ökonomischen Vorteils sowie die Bedeutung als forstliches Planungsobjekt heranzuziehen (dies. 1997). Die Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* [Mirb.] FRANCO) erfüllt derartige Voraussetzungen und wird daher unangefochten zu den erfolgreichsten Fremdländern in Deutschland bzw. Mitteleuropa gezählt (HASEL 1985, HERMANN 1987, BURSCHEL & HUSS 1997). Nicht zuletzt auf Grund ihres ausgeprägten Vermögens zur Naturverjüngung wird sie in der Vegetationskunde z.T. bereits als realer Bestandteil der potentiellen, natürlichen Vegetation aufgefaßt (vgl. JAHN et al. 1990).

Rückblickend läßt sich feststellen, daß die Verwendung von Gastbaumarten seit ihren Anfängen im 18. Jahrhundert stets in Anbauwellen erfolgte (HASEL 1985). Der Grund hierfür mag in der allgemeinen Neugier des Menschen liegen, welche oft mit einer Unsicherheit vor neuen Dingen wechselt. Anlässe, Baumarten anderer Vegetationszonen oder Kontinente fern ihres Ursprunges anzubauen, gab es viele. Holznot, die Nachfrage nach bestimmten Sortimenten (z.B. Schiffsmasten), der Zwang zu Produktivitätssteigerung oder auch schlicht der Wunsch, die Auswirkungen der Eiszeit auf die Flora Mitteleuropas zu mildern und die vergangene Baumartenvielfalt zumindest in Teilen wiederherzustellen (BOOTH 1877, v. ALTEN 1898, RICHTER 1992). Auch der Aufwärtstrend der letzten Douglasien-Anbauwelle hat seinen Ursprung in den Störungen der Vorratsentwicklung durch Kriegswirtschaft und Reparationshiebe nach dem zweiten Weltkrieg. Heute verfügen die Wälder Deutschlands über hohe Vorräte, wie sie zuvor nie gemessen worden waren (z.B. WEIDENBACH et al. 1989, SCHMIDT 1995, HILLMANN 1997). Änderungen der Baumartenzusammensetzung sowie verbesserte Bestandespflegekonzepte haben ihre Wirkung diesbezüglich nicht verfehlt (WEIDENBACH et al. 1989, BRANDL 1992).

Die westliche Wohlstandsgesellschaft, von Rohstoffen nicht primär abhängig (OTTO 1998), hat den letzten Abwärtstrend der Douglasien-Anbauwelle gegen Ende der 80er Jahre in Deutschland selbst ausgelöst. Nachrichten über Zerstörung von Urwäldern auf anderen Kontinenten (vgl. HERMANN 1996) verstärkten die Sorge um den heimischen Wald, welche seit den Presseberichten über das Waldsterben besteht, und gaben den Befürchtungen Oberhand, ausländische Baumarten würden sich nachteilig auf das heimische Ökosystem auswirken. Das verschwommene Idealbild (VOLK & SCHLENSTEDT 1991, VOLK 1998) eines möglichst natürlichen Waldes tat ein übriges; für sogenannte Neophyten schien in dieser Zeitströmung zunächst kein Platz zu sein (KAISER & PURPS 1991, WAGNER & PETERS 1993, ANONYMUS 1998). Indes ergaben Untersuchungen an der Douglasie, daß dort die genannten Befürchtungen zu weiten Teilen unbegründet sind. Beobachtungen an Avizönosen in Fichten- und Douglasienbeständen ergaben beispielsweise ein vergleichbares Artenspektrum bei lediglich geringerer Abundanz für einen Teil der erfaßten Vogelarten (MÜLLER & STOLLENMAIER 1994). In Bezug auf Bodenpfleglichkeit kann die Douglasie mit ihrer leicht zersetzlichen Streu sogar mit einem Vorteil gegenüber heimischen Nadelhölzern aufwarten (OTTO 1987). Struktureiche Waldbilder, die „reifere“ Douglasien in Mischung mit etwa Buche, Fichte und Tanne zeigen, beeindrucken durch Vielgestaltigkeit und nicht zuletzt durch die Dimension dieser „Gastbaumart“. Es verwundert nicht, wenn derartige Wälder als ästhetisch und ökologisch hochwertige Beispiele (BURGBACHER 1996) erfolgreicher Waldpflege angesehen werden, die sich größter Beliebtheit auch bei Erholungssuchenden erfreuen.

In den zurückliegenden Jahren fanden sich immer wieder Hinweise auf einzelne Exemplare oder Gruppen der Douglasie mit hohem Alter und beachtlichen Dimensionen (z.B. ROTHKIRCH & STRUTHOFF 1989, WEGENER 1996), was als zunehmendes Interesse an der langandauernden Leistungsfähigkeit (KENK & EHRING 1995) gewertet werden kann. Nur folgerichtig ist daher das verstärkte Bemühen, Eignung und Eigenheiten der Douglasie als Mischbaumart wissenschaftlich zu erfassen (HUSS 1996, WEIHS 1996, BOMMER et al. 1999). Vereinzelt wird die Begründung von Douglasien-Mischwäldern neuerdings im Zusammenhang mit einer möglichen Klimaerwärmung empfohlen (HUSS 1992, MRAZEK 1999). Studien zu Detailproblemen, welche daraus für die Douglasie resultieren könnten, zeigen nicht nur den hohen Grad an Komplexität solcher Probleme, sondern warnen für allzu übertriebenen Hoffnungen (McCREARY et al. 1990, OLSTHOORN 1998). Insgesamt kann in der Forstwirtschaft Deutschlands gegenwärtig ein leichter Aufwertstrend in der Bedeutung der Douglasie ausgemacht werden (BECKER & SAUTER 1996). Allerdings haben sich großräumige Planungsvorgaben des Baumartenanteils auf niedrigem Niveau stabilisiert. So wurde etwa im Bundesland Baden -Württemberg zunächst ein Flächenanteil der Douglasie von acht Prozent angestrebt (MOOSMAYER 1977), der später auf sieben Prozent leicht (WEIDENBACH 1988) und kürzlich auf fünf Prozent deutlich korrigiert wurde (v.TEUFFEL & KASTRUP 1998). Nach jüngsten Angaben verfügt die Douglasie in Baden-Württemberg heute über einen Anteil von landesweit 3,3 Prozent (v.TEUFFEL & KASTRUP 1998), in den an Alt-Douglasien reichen Körperschaftswaldungen der Forstdirektion Freiburg sind es vier Prozent (SCHMIDT 1995).

In den europäischen Nachbarländern war die letzte Modewelle z.T. deutlich weniger ausgeprägt. In Frankreich etwa bestand all die Jahre hindurch ein hohes Interesse am Douglasienanbau (PARDÉ 1985, COLLET & PARDÉ 1996), auch in Privatwaldungen (PETERS 1998), während ihre Bedeutung in Österreich historisch und verwaltungspolitisch bedingt eher eine geringe ist (KOHL & NATHER 1993).

Wechselnde Erfolge in der Anzucht sowie im Anbau, an Vermehrungsgut unterschiedlicher Abstammung beobachtet, löste erste Fragen aus, welche Provenienz bei den frühen Douglasienanbauten Verwendung gefunden hätte. Bereits kurz nach der letzten Jahrhundertwende stellte sich heraus, daß das durch die Firma J. Booth und Söhne aus Kleinflottbek während des ersten systematischen Anbauversuches von 1880 gelieferten Saatgut die besten Beständen hervorgebracht hatte. In der Folge wurden mehrere Provenienzversuche angelegt, um aus dem großen natürlichen Verbreitungsgebiet in Amerika geeignete Provenienzen für den Anbau in Deutschland zu finden (zur Übersicht vgl. SCHOBER et al. 1983). Selbstverständlich hat es nicht an Versuchen gefehlt, mittels Aktenstudien Hinweise auf Quellen der frühen Saatgutbezüge zu finden (z.B. SEIBERT 1949, OESCHGER 1975). Lücken im Archivmaterial entstanden im Laufe der Zeit durch Änderungen der Struktur von Forstverwaltungen und der Saatgutwirtschaft, besonders aber durch die Auswirkung zweier Weltkriege, erlaubten den historischen Untersuchungen jedoch nur bescheidene, bruchstückhaft bleibende Erkenntnisse (z.B. MÖRMANN 1956). Ein Umstand, der zu der Überlegung führte, mittels genetischer Marker nach Hinweisen auf die Abstammung ausgewählter Bestände aus Baden-Württemberg zu suchen. Hier, am Westabfall des Schwarzwaldes, haben sich im Laufe unseres Jahrhunderts herausragende Bestände entwickelt, welche auch in internationalen Provenienzversuchen hervorragend abschneiden (KENK & THREN 1984a,b). Als „Sonderherkunft Südbaden“ genießen sie einen hohen Stellenwert am Saatgutmarkt (KIRSCHFELD 1967). In Einzelfällen wird Saatgut sogar in die USA verkauft (BURGBACHER & GREVE 1996).

Wie nachfolgend erläutert wird, bot sich für eine derartige Abstammungsrekonstruktion die Isoenzymanalyse an, da dieselbe in jedem ontogenetischen Stadium einer Pflanze durchgeführt werden kann. Außerdem liegt bei dieser Methode auf Grund langjähriger Anwendung eine Fülle von Untersuchungen an *Pseudotsuga menziesii* sowie an weiteren Baumarten vor, die Arbeits- bzw. Interpretationsprobleme biochemischer oder genetischer Natur behandeln (vgl. STRAUSS et al. 1992). Bei Terpenanalysen hinge-

gen ist die Wahl der Untersuchungsobjekte eingeschränkt und bei DNA-Analysen sind die Kenntnisse über Forstpflanzen noch nicht so ausgereift, wie dies in Bereichen der Humanbiologie oder bei niederen Organismen der Fall ist. Selbst im Bereich der landwirtschaftlichen Züchtung rechnet die Saatgutindustrie mit einer Verfügbarkeit von zuverlässigen molekularen Markern erst in der nächsten Dekade (DUVIK 1997). Zwar haben die massiven Förderungen sowohl durch die USA (Projekt: DENDROME) als auch durch die Europäische Union (Rahmenprogramme III und IV) zur Entwicklung molekularer Marker im Bereich der Waldbäume beigetragen, deren Einsatzmöglichkeiten ständig steigen (STRAUSS et al. 1992). Erste Anwendungen zeigen jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt im Jahre 1999 immer noch Schwierigkeiten, vor allem in der Reproduzierbarkeit¹ aber auch bei Prüfungen der Erblichkeit (Segregation)². Die Situation wird hier von anderen Autoren gerne euphorischer dargestellt (z.B. LEXER et al. 1997), als sie in der Realität ist.

Ziel der vorliegenden Dissertation war die Erstellung eines Modells zur qualitativen genetischen Abstammungsrekonstruktion bei der Douglasie mit Hilfe von Isoenzym-Genmarkern sowie dessen Anwendung bei heimischen Douglasien-Altbeständen. Hierzu sind Kenntnisse über die geographische Variation solcher Marker im gesamten Habitat einer Art erforderlich (BERG & HAMRICK 1997, S. 422), welche für die Douglasie erstmals von LI & ADAMS (1989) quantitativ dargestellt worden waren. Die Erarbeitung von Korrelationen zwischen populationstypischen Mustern der Marker und dem jeweiligen Teil des natürlichen Verbreitungsgebietes der Douglasie stand zu Beginn der vorliegenden Dissertation noch aus. Damit stellte sich ein zentrales Problem aus dem Feld der Genökologie (TURESSON 1923), deren Arbeitsgebiet sich ständig ausweitet (vgl. CAMPBELL 1979) und das heute generell mit der Lehre von den Interaktionen zwischen genetischen Strukturen einer Population einerseits und den Umweltbedingungen andererseits gleichgesetzt werden kann.

Folgende Arbeitspunkte wurden im Zuge der Untersuchungen als **Nebenziele** in die Gesamtkonzeption eingebaut:

- ◆ Welchen Einfluß haben physikochemische Labor-Bedingungen auf die Isoenzymdarstellung bzw. die Vergleichbarkeit von Ergebnissen?
- ◆ Wie ist die Triplizität am Genlocus GOT-C und wie ist das Auftreten unregelmäßig sichtbarer, anodaler Zusatzbanden am Genlocus LAP-A zu erklären ?
- ◆ Zeigt das verwendete Vergleichsmaterial (autochthones Saatgut, Provenienzversuche) auffallende Abweichungen genetischer Parameter von den Untersuchungen anderer Autoren ?
- ◆ Unterscheiden sich die heimischen Douglasien-Altbestände in biochemisch-genetischer Hinsicht (Parameter wie z.B. Vielfalt) von amerikanischen Beständen ?

¹ Prof. Müller-Starck (München), mündliche Mitteilung 1997

² K. Krutovskii (Corvallis), Kommunikation über Mailing-Plattform „forestgen@metla.fi“ am 10.07.1997

1.2. Arbeitshypothese

Im Sinne der Erkenntnistheorie wird nachfolgend versucht, das *Abgrenzungskriterium* POPPER's beim Aufbau der Arbeitshypothese zu berücksichtigen. Dies bedeutet, verifizierende sowie falsifizierende Untersuchungen (Experimente) durchzuführen (POPPER 1995).

Zunächst werden Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit von Isoenzym-Genmarkern als Hilfsmittel einer Abstammungsrekonstruktion zu beweisen sein, bevor eine Arbeitshypothese abgeleitet werden kann.

Wie in Kapitel 2.2.2. ausgeführt, können Isozyme als stabile Marker betrachtet werden (s. a. ADAMS 1983, McMILLIN 1983). Damit sind sie für die vorliegende Fragestellung hinreichend brauchbar. Widersprüche ergeben sich in der Literatur bezüglich ihrer Adaptivität (LEWONTIN 1985), etwa ob sie für Selektionsvorgänge empfindlich sind. Daraus leitet sich die Frage ab, ob, und wenn ja wieweit, Veränderungen in ihrer Ausprägung zumindest durch besondere Umwelteinwirkung für derartige Fragestellungen berücksichtigt werden müssen.

1.2.1. Streitfrage: Adaptivität von Isoenzym-Genmarkern

Im allgemeinen galten Isozyme bisher nicht als adaptiv (z.B.: NEI & KOEHN 1983, FRIDAY & INGRAM 1986, MITTON 1995, S. 27). Eine Meinung, die offensichtlich auf wenig sorgfältigen Ansätzen und oberflächlichen Interpretationen beruht³. So mißlang der Versuch, Korrelationen zwischen Isozym-Genmarkern und adaptiv - quantitativen Merkmalen nachzuweisen, mehrfach (zur Übersicht vgl. EL-KASSABY 1982): Bei Waldbäumen waren es beispielsweise die Untersuchungen bezüglich „Höhewuchs“ von EL-KASSABY (1982) an Halbgeschwisterfamilien der Douglasie, oder die von MERKLE und ADAMS (1987) an Douglasienprovenienzen (breeding units) aus dem südwestlichen Oregon aber auch die von FURNIER und Kollegen an Provenienzen der Schimmel-Fichte (FURNIER et al. 1991). Eingedenk des Postulates von STERN (1968), quantitative Merkmale der Bäume seien über mehrere, kombiniert wirkende Genloci („Supergene“) kodiert, verwundern diese Ergebnisse kaum. Viele Loci gemeinsam zu analysieren, macht dann keinen Sinn. Zumindest so lange nicht, so lange es wahllos geschieht und die Rolle der einzelnen Enzym-Genloci untereinander bezüglich ihres Beitrages zur Ausprägung solcher Merkmale unbekannt ist. EL-KASSABY hat anschließend einen möglichen Weg der Rollen-Identifikation aufgezeigt (ders. 1983).

Erkenntnisse über Adaptivität dieser Marker können jedoch zunehmend schlüssig bewiesen werden, wie das Beispiel an einem ADH-Locus von *Drosophila* (McDONALD & KREITMAN 1991) zeigt. In der bereits erwähnten Übersichtsarbeit nennt MITTON (1995) selbst eine Reihe von Beispielen, die eine Adaptivität auch von Isozymmarkern aufzeigen. Darüberhinaus sucht er nach Erklärungen für abweichende Ergebnisse zu Untersuchungen über quantitative Merkmale, etwa in der mangelnden Kenntnis über physiologische Hintergründe (MITTON 1995, S. 13). Andere Autoren haben schon früher auf derartige Umstände verwiesen (LEDIG 1986, BERGMANN et al. 1989, BERGMANN 1991), nach Beschreibungsmodellen (BERGMANN et al. 1990) bzw. nach zusätzlichen Erklärungshypothesen gesucht (GREGORIUS & BERGMANN 1995).

³ vgl. Bergmann et al. 1989, loc.cit. S. 21-22

Als eine Möglichkeit, dieses *Dilemma* einer Lösung zuzuführen, schlug BERGMANN (1991) vor, die entsprechenden Umweltbedingungen der untersuchten Populationen bei der Interpretation einer Adaptivität bzw. Neutralität zu berücksichtigen. Dies würde konsequenterweise bedeuten, daß die Isoenzyme generell umwelt-abhängig sind. Eine solche Hypothese kann jedoch mittels deduktiver Beweisführung verworfen werden, da bei Betrachtung von kinalen Effekten ein und desselben Isozym-Genlocus aus einer Population die Häufigkeiten der Allele stets in einer bestimmten Bandbreite variieren, sofern die methodische Vergleichbarkeit der Daten gewährleistet ist, wie dies u.a. von BERGMANN (1973b) für die Fichte, von BERGMANN & KOWNATZKI (1988) bzw. KONNERT & BERGMANN (1995) für die Tanne oder auch von GREGORIUS & BERGMANN (1995) demonstriert wurde. Das heißt, daß eine unabhängige Stichprobennahme aus einem Teilgebiet der jeweiligen Baumart stets zu dem selben, phylogenetisch determinierten Regional-Ergebnis führt, unabhängig von lokalen Standortsbedingungen. Auf dieser Tatsache baute zu Beginn der 80er Jahre die Abstammungsrekonstruktion auf (vgl. Kap. 2.4.). Später hat FINKELDEY (1993) hieraus sogenannte „genetische Profile“ abgeleitet.

Der Lösung des *Dilemmas* kommt man dann näher, wenn man die scheinbar widersprüchlichen Ergebnisse klassifiziert. Unterteilt man, BERGMANN (1991) bzw. GILLESPIE & LANGLEY (1974) folgend, Isoenzyme nach ihrer physiologischen Funktion, so kann man eine Gruppe, welche in den primären Stoffwechsel (Gruppe I) sowie eine, die in den sekundären involviert ist (Gruppe II) unterscheiden. Die Isozyme der ersteren Gruppe zeichnen sich, im Gegensatz zu den Enzymen der Gruppe II, unter anderem durch hohe Substratspezifität sowie geringe Zahl⁴ an Kodierungsvarianten aus (MÜLLER-STARCK et al. 1992). Die geringere Zahl an Allelen kann man mit den jeweiligen physiko-chemischen Struktureigenschaften dieser Proteinkörper und den dazugehörigen genetischen Verschlüsselungsmöglichkeiten erläutern. Nach GILLESPIE & LANGLEY (1974) „reflektiert“ eine Reihe von Enzymgenorten der Gruppe II die Vielfalt des natürlichen Habitats⁵ von Populationen.

Ferner ist eine genauere Bestimmung des zumeist unscharf gebrauchten Begriffes „adaptiv“ notwendig, wie dies bei HEYBROEK (1990) oder GREGORIUS & BERGMANN (1995) in Ansätzen zu finden ist: Die genetische Konsequenz innerhalb eines Kollektives von Individuen, welche unmittelbar bzw. zeitlich eng korreliert auf einen Selektionsdruck folgt, muß als „selektive“ Eigenschaft bezeichnet werden. Entwicklungsgeschichtlich bedingte Angepaßtheit, die sich in Provenienzversuchen als genetisch stabil (=adaptiv) erweist, ist hiervon klar zu unterscheiden! Diese Tatsache wird bei jedem Provenienzversuch (vgl. SCHOTT 1907) sowie bei Abstammungsrekonstruktionen oft stillschweigend vorausgesetzt. Als adaptive, d.h. auf Anpassung beruhende, Eigenschaften müssen solche bezeichnet werden, welche auf eine ganze Reihe von Selektionsschritten, im Extremfall auf phylogenetische Ausleseprozesse, zurückzuführen sind. Die Frage des Einflusses von Mutationen auf die Variation von Markern, welche aktuell in der Wissenschaft diskutiert wird, bleibt hier vorläufig ausgeklammert, auch wenn selbst die spezifischen Mutationsraten unterschiedlicher Organismen heute als Ergebnis evolutionärer Anpassungsprozesse gelten (DRAKE et al. 1998).

Eine derartige zeitliche Dimension bei der Unterscheidung der Begriffe „selektiv“ bzw. „adaptiv“ fügt sich nahtlos in das bisherige Gedankengebäude der Genetik (vgl. HAECKER 1921, S. 282 oder GILLESPIE & LANGLEY 1974, LEWONTIN 1985). In einem der grundlegenden Aufsätze zu Beginn der Forstgenetik hat CIESLAR (1907) übrigens den Brückenschlag zu einem „Lamarckismus“ präzise herausgearbeitet, der, historisch betrachtet, jedoch eher als Interpretationsvariante des Darwinismus durch die sogenannten Naturalisten (MAYR 1998) gesehen werden muß. Damit können folgende Eigenschaften von Markern unterschieden werden: neutrale, adaptive und selektive. Die adaptiven, üblicherweise auf

⁴ Ausnahme in Gruppe I: 6-PGDH (vgl. BERGMANN et al. 1990)

⁵ GILLESPIE & LANGLEY 1974: loc.cit. S. 843-845

phylogenetischer Anpassungsfähigkeit beruhenden, sind *per definitionem* dann als quasi neutral einzustufen, wenn enge Beobachtungszeiträume gewählt werden. Da nur eine kleine Zahl von Enzymsystemen bisher als selektiv bekannt sind, können die Isozyme folglich als überwiegend stabile Marker bezeichnet werden.

Betrachtet man die Vielzahl an Publikationen über Isozyme, so stellt man fest, daß bestimmte, konstitutionelle Enzymgenorte über adaptive Variationen verfügen, etwa über klinale (z.B. LAP-B: BERGMANN 1973b). Andere verfügen über „arealspezifische“, besser formuliert: rassenspezifische Allele (z.B. DIA: BERGMANN & KOWNATZKI 1988, FURNIER & ADAMS 1986) wieder andere über inter- bzw. intraspezifische Allele (z.B. ACP: WHEELER & GURIES 1982, SANTI & LEMOINE 1990b, KREMER et al. 1991, HERTEL & DEGEN 1998). Diese Eigenschaften können teilweise über verschiedene taxonomische Einheiten hinweg gefunden werden (vgl. KLUMPP & LEIST 1991), obwohl die einzelnen Enzymsysteme in unterschiedlichen Arten auf den ersten Blick über jeweils andere genetische Organisationsstrukturen⁶ gesteuert werden (MÜLLER-STARCK et al. 1992, BERGMANN & HOSIUS 1995).

Selektive Eigenschaften können ebenfalls z.T. über mehrere taxonomische Einheiten an bestimmten anderen Enzymsystemen beobachtet werden. Beispiele sind hier das Enzymsystem PEPCA (BERGMANN & SCHOLZ 1989) oder der Genort GOT-B (GEBUREK et al. 1987, KONNERT 1992). Schließlich wären noch charakteristische Eigenschaften von Entwicklungsstadien der Waldbäume zu nennen, die vielfach mit Hilfe des Enzymsystemes 6-PGDH gezeigt werden konnten (z.B. PLESSAS & STRAUSS 1986, KONNERT 1991c). Letztgenanntes Enzym kann allerdings auch über arealspezifische Allele verfügen (z.B. WHEELER & GURIES 1982, KONNERT 1991a).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Isozyme zuverlässige und stabile Genmarker darstellen (siehe auch Kap. 2.2.2). Ferner sind an bestimmten Marker-Genloci phylogenetisch erworbene (=adaptive) Eigenschaften wie klinale Ausprägung, arealspezifische (seltene) Allele sowie inter- und intraspezifische Allelstrukturen bzw. Allele für bestimmte Taxone im Pflanzenreich nachweisbar. Daneben stehen, zumeist aus der Palette der Enzyme des sekundären Stoffwechsels, Isozym-Genmarker für Fragestellungen von Selektions- bzw. kurzfristigen Anpassungsvorgängen zur Verfügung. Diese Indikationsspezifität der Enzym-Genmarker gilt es für jede Anwendung gezielt auszunutzen !

⁶ vgl. Kap. 2.3.

1.2.2. Herleitung der Arbeitshypothese

Abstammungsrekonstruktionen von Beständen setzen allgemein eine Reihe von Kenntnissen voraus, welche einzeln aber auch in ihrer Kombination vorhanden sein und berücksichtigt werden müssen:

- a) Die Kenntnis der natürlichen geographischen Variation des jeweiligen Markers.
- b) Umweltunabhängige Ausprägung der gewählten Marker.
- c) Zu erwartende Häufigkeit der gewählten Marker in Abhängigkeit vom Teilareal.

Die ersten beiden Voraussetzungen sind qualitativ zu verstehen, d.h. es genügt die Kenntnis der Anwesenheit eines Markers in einem Teilareal und es genügt das Wissen, daß dieser Marker sich bisher als umweltunabhängig gezeigt hat und somit *per definitionem* überhaupt erst als Marker bezeichnet werden darf. Die dritte Voraussetzung gewährleistet eine adäquate Stichprobennahme. In Kombination aller drei genannten Kriterien ist jedoch zwingend zu folgern, daß eine ausreichend quantifizierbare Variation der gewählten Marker im natürlichen Verbreitungsgebiet *a priori* gewährleistet sein muß! Nicht zulässig sind Marker, von welchen eine monomorphe Ausprägung (vgl. Kap. 2.1.3.) erwartet wird.

Für den hier vorliegenden Fall ergeben sich folgende spezielle Voraussetzungen, welche aus der Literatur bekannt sind:

- ad a) Die gewählten Enzymsysteme (vgl. Kap. 3.2.1.) sind allgemein als Träger klinaler oder arealspezifischer Effekte bekannt (vgl. WHEELER & GURIES 1982, BERGMANN & KOWNATZKI 1988)
- ad b) Die gewählten Enzymsysteme lassen allgemein eine neutrale oder quasi neutrale Ausprägung erwarten (vgl. Kap. 1.2.1.), welche für die Douglasie allerdings bislang nicht nachgeprüft wurde.
- ad c) Die Arbeit von LI & ADAMS (1989) belegt, daß für die gewählten Enzymsysteme eine ausreichende Variation⁷ erwartet werden kann.

Es werden daher folgende Hypothesen aufgestellt:

Hypothese I:

Die gewählten Genmarker werden neutral oder quasi neutral ausgeprägt.

Hypothese II:

Die von LI (1986) quantifizierte Variation zwischen den Varietäten von *Pseudotsuga mensiesii* läßt sich auf arealspezifische Muster an bestimmten Genloci zurückführen, wie das für andere nordamerikanische Arten aus der Familie der *Pinaceae* bekannt ist (z.B. WHEELER & GURIES 1982).

Hypothese III:

Unter der Voraussetzung, daß die Hypothesen I und II bestätigt werden, können Vergleiche an heimischen Altbeständen vorgenommen werden. Diese werden dann nicht nur qualitativ die Charakteristika bestimmter natürlicher Teilareale zum Ergebnis haben (*notwendiges Kriterium*), sondern sie lassen auch quantitativ vergleichbare genetische Eigenschaften wie natürliche Bestände erwarten (*hinreichendes Kriterium*). Letzteres jedoch nur dann, wenn die gewählten Enzymgenloci im überdurchschnittlichen Ausmaß diese Parameter bestimmen (vgl. HAMRICK et al. 1992).

⁷ LI & ADAMS 1989, loc. cit.: Tab. 01.

Hypothese IV:

Trotz Bestätigung der Hypothesen I und II lassen sich beim Vergleich an heimischen Altbeständen zwar qualitative Charakteristika bestimmter Teilareale nachweisen, die quantitativen Parameter ergeben jedoch signifikante Unterschiede zu natürlichen Beständen. Eine solche Verletzung des *hinreichenden Kriteriums* wäre als Argument für eine stattgefundene Bildung von „Landrassen“ (LARSEN 1989, STAUFFER 1992) zu werten. (Antithese zu These III)

Die aufgestellten Hypothesen sollen durch nachfolgend skizzierte Beweise überprüft werden:

Beweis zu Hypothese I:

Wenn die gewählten Genmarker in ihrer quantitativen Ausprägung keiner Umweltabhängigkeit unterliegen, dann sind in Untersuchungen an in Deutschland wachsenden Provenienzen, deren Ursprung bekannt ist (Provenienzversuche), identische Charakteristika (qualitativ und quantitativ) im Vergleich zu den jeweiligen, natürlichen Ausgangsbeständen zu erwarten. Dies setzt jedoch eine sorgfältige Ausführung des Provenienzversuches, u.a. Saatgut aus Vollmastjahren und von ausreichend Mutterbäumen voraus (HUSSENDÖRFER 1996), was separat zu beweisen ist.

Beweis zu Hypothese II:

Sowohl aus den Datensätzen von LI (1986) als auch aus beliebigen Wiederholungen von Untersuchungen an natürlichen Populationen der Douglasie lassen sich arealspezifische Allele oder allelische Strukturen an den gewählten Enzymgenloci nachweisen (Gewährleistung der Reproduzierbarkeit).

Die Beweise zu den Hypothesen III und IV ergeben sich unmittelbar aus diesen.

Schlußfolgerungen

S1*1 Eigenschaften von Isozymgenmarkern

Selektive Eigenschaften werden dann zugesprochen, wenn eine unmittelbare bzw. zeitlich eng korrelierte Reaktion auf einen Selektionsdruck im Genpool erfolgt.

Adaptive, auf Anpassung im Laufe der Phylogenese beruhende, Eigenschaften, die sich in Provenienzversuchen als genetisch stabil erweisen, werden hiervon unterschieden und als quasi neutral bezeichnet.

S1*2 Verwendung von Isozymgenmarkern

Die bisherigen Arbeiten über Enzymgenmarker lassen bestimmte Eigenschaften einzelner Loci, wie z.B. „Areal“ bzw. Ökotypenspezifität oder Umweltabhängigkeit, über mehrere taxonomische Einheiten als zutreffend erscheinen. Diese Indikationsspezifität gilt es für jede Anwendung gezielt auszunutzen !

2. Literaturübersicht

2.1. Grundlegende Begriffe der Populationsgenetik

2.1.1. Population und Herkunft

Während die Allgemeine Biologie und auch die Ökologie unter einer Population eine "Gruppe von Individuen beliebiger Arten von Organismen" (ODUM / REICHOLF 1980, S. 12) verstehen, wird dieser Begriff in der Genetik dahingehend präzisiert, daß eine Übertragung von Erbgut zwischen diesen Individuen erfolgen muß. Somit bildet die Population eine Fortpflanzungsgemeinschaft (STRASBURGER 1991, S.474), die sich u.a. durch einen gemeinsamen **Genpool**⁸ auszeichnet. Eine der umfassenden Definitionen⁹ liefert die Göttinger Schule von Forstgenetikern, die zur deutlichen Abgrenzung des Wortgebrauchs den in der Populationsgenetik üblichen Begriff "**Mendel-Population**" wählte¹⁰. Der Begriff kann als ein zentraler in der Populationsgenetik bezeichnet werden (RIEGER et al. 1986).

Nach der genannten Definition können Bestände sowohl eigene Populationen als auch Teile einer Mendel-Population (= Deme) darstellen. Ersteres trifft beispielsweise für den von anderen Baumarten umgebenen Douglasienbestand im FBZ Staufen (Gwd Münstertal, X.1) zu, letzteres für die Bestände im douglasienreichen Stadtwald von Freiburg.

Wird eine Stichprobe aus einer autochthonen Population betrachtet, spricht man von "Provenienz". Im Gegensatz hierzu bezeichnen die Legaltermini "Herkunft" bzw. "Herkunftsgebiete" das Habitat einer Population bzw. mehrerer Populationen (Bestände), ohne die Frage der Autochthonie zu berücksichtigen. (HATTEMER et al. 1993, S. 131 ff.) Im vorliegenden Fall wurde für die verwendeten amerikanischen Douglasien-Provenienzen die Autochthonie angenommen (vgl. Kap. 3.1). Die untersuchten heimischen Douglasienbestände stellen Stichproben aus einem sekundären Habitat, dem Herkunftsgebiet "West- u. Süddt. Mittelgebirgsland" (Nr. 853 02) dar.

Im folgenden können die Begriffe Fläche, Bestand und Population für die heimischen Douglasienbestände, die Begriffe Population, Dem und Provenienz für das amerikanische Vergleichsmaterial verwendet werden.

2.1.2. Genmarker - Markergene

In der praktischen Genetik haben Genmarker eine zentrale Bedeutung erlangt. Ohne diese "Werkzeuge" sind viele genetische Untersuchungen schlicht undenkbar. Dabei versteht man unter einem **Genmarker** ein variierendes Merkmal (Phänotyp), dessen eindeutige Beziehung zu seinen kodierenden Genen nachgewiesen ist. Folglich ist ein **Markergen** ein Gen, welches mittels Genmarker erkennbar wird. (HATTEMER 1991, S. 5)

⁸ Genpool = Gesamtsumme von Genen in den Gameten einer Population (STRICKBERGER 1988, S. 670)

⁹ Definition der Mendel-Population: "Ein Kollektiv zu generativer Reproduktion befähigter biologischer Organismen, in welchem jedes Paar von Individuen die Möglichkeit besitzt, wenigstens einen gemeinsamen Nachfahren zu haben." (HATTEMER et al. 1993, S. 130)

¹⁰ Die Wahl des Begriffes erfolgte in Anlehnung an WRIGHT (ders. 1968-1974, zit. n. STRICKBERGER 1988, S. 669), die Definition geht auf DOBZHANSKY zurück (vgl. HATTEMER et al. 1993).

Zur Überprüfung dieser Relation zwischen Gen und dem betreffenden Merkmal, zur genetischen Analyse also, stehen mehrere Methoden zur Verfügung (HATTEMER et al. 1993, S. 82 ff.). Zu den wichtigsten in der Forstgenetik gehört die *Segregationsanalyse* auf der Basis von Kreuzungsversuch oder Analyse haploiden Gewebes. Das letztgenannte Verfahren ist bei Koniferen leicht anwendbar, da sich dort das Makrogametophyten-Gewebe stets vom weiblichen Elter ableitet und nur über einen haploiden Chromosomensatz verfügt. Bei Vorliegen einer regelmäßigen (zufälligen) Meiose spalten daher die heterozygot kodierten Merkmale des Samenelters gleichmäßig auf, die genetische Kontrolle wird aufgedeckt (BARTELS 1971, BERGMANN 1973, ADAMS & JOLY 1980). Derartige histologische Besonderheiten lassen sich mit der Kategorie¹¹ der biochemischen Genmarker leicht ausnutzen. Die allgemeinen Voraussetzungen für das Gelingen einer genetischen Analyse waren Gegenstand mehrerer Veröffentlichungen, auf welche verwiesen wird (GILLET 1992, GILLET 1993, HATTEMER 1991, HATTEMER et al. 1993).

Für das Verständnis der genetischen Kontrolle ist die Differenzierung in *Mendel-Gene*¹² und *Funktionsgene*¹³ hilfreich. Schließlich kann ein Mendel-Gen aus mehreren Funktionsgenen bestehen (HATTEMER et al. 1993, S. 53).

In Abhängigkeit vom Typ des verwendeten Genmarkers erhält man "einen mehr oder weniger genauen Einblick in einen Teil der genetischen Information seines Trägers" (GILLET 1993, S.30). Dieser, die Funktionalität betonende, Begriff von Genmarkern impliziert gleichzeitig, daß für definierte Fragestellungen nur bestimmte Genmarker als Untersuchungswerkzeuge in Frage kommen. Eine sorgfältige genetische Analyse ist bei der Identifikation von Markergenen daher unerlässlich (HATTEMER et al. 1993, S. 123).

2.1.3. Genetische Strukturen und Variation - ihre Erfassung und Interpretation

Die Variation der Erbinformation ist nicht nur Grundlage von Fortbestand und Weiterentwicklung (Evolution) einer Population, einer Art bzw., ganz allgemein gesprochen, einer taxonomischen „Beobachtungseinheit“ sondern auch Grundlage der Beobachtung durch den Wissenschaftler (vgl. STERN 1968). Eine Reihe von Parametern wurde entwickelt, um diese Variation meßbar zu machen und zu beschreiben. Als eines der Ergebnisse bisheriger Forschung auf der Basis von Isoenzymgenmarkern kann festgehalten werden, daß Waldbäume zu den Lebewesen gehören, welche über die größte genetische Variation verfügen (MÜLLER-STARCK 1991, HAMRICK et al. 1992). Konzepte und Verwendung dieser Parameter wurden bereits mehrfach diskutiert und zusammenfassend dargestellt (vgl. HATTEMER 1991b, 1994, BERG & HAMRICK 1997). Die für die vorliegende Fragestellung herangezogene Variationsmaße werden nachfolgend kurz erläutert:

¹¹ Die theoretische Genetik beginnt verschiedenen Klassen bzw. Kategorien von Genmarkern zu unterscheiden: Beispielsweise können Terpene, Isoenzyme oder RFLP's verschiedenen Klassen der Kategorie "biochemische Genmarker" zugeordnet werden. (vgl. GILLET 1992, VORNAM 1992, GILLET 1993).

¹² Mendel-Gen (Beobachtungsebene: Organismus oder physiologische Teileinheit desselben) Einheit der Weitergabe der genetischen Information.

¹³ Funktionsgen (biochemisch beobachtbar, Molekular-Ebene) Einheit auf der DNA, welche eine bestimmte Produkteinheit (z.B. Enzym) kodiert.

2.1.3.1. Genetische Strukturen: allelische und genotypische

Unter der **allelischen Struktur** versteht man die Häufigkeitsverteilung der genetischen Einzelvarianten eines Genortes, Allele genannt, in einer Population. Diese Häufigkeitsverteilung wird in Prozentwerten ausgedrückt (HATTEMER et al. 1993). Betrachtet man allelische Strukturen aus dem gesamten Habitat einer Art, so kann man regionale Besonderheiten feststellen sowohl bezüglich der Typen vorhandener Allele als auch bezüglich der Häufigkeiten dieser Typen (CONKLE 1992).

Zur Beschreibung der Allele einer Art sind Kategorien für deren Vorkommen entwickelt worden. Folgt man den Ausführungen von MARSHALL & BROWN (1975), ADAMS (1981), WHEELER & GURIES (1982), MILLAR & WESTFALL (1992), YANG & YEH (1992) sowie HUSSENDÖRFER (1997), so lassen sich folgende Typisierungen vornehmen (Tab. 2-1):

Tab. 2-1: Verbreitungskategorien von Allelen

	Bezeichnung	Merkmal	Bezeichnung	Merkmal
Hauptkategorie	A) häufig	$f \geq 5$	B) selten	$f < 5$
Unterkategorien	Aa) weitverbreitet	Pop. ≥ 25	Ba) weitverbreitet	Pop. ≥ 25
	Ab) lokal	Pop. < 25	Bb) lokal	Pop. < 25
	Ac) privat	def. Pop.	Bc) privat	def. Pop.

Erläuterungen: f = Allelfrequenz (%), Pop.= Vorkommen in x% der Populationen, def.Pop.= Vorkommen nur in einer Population oder in eng begrenztem Gebiet.

Das genannte Schema besticht auf den ersten Blick wegen seiner scheinbaren Klarheit. Es erfordert jedoch stets die Doppelnennung von Eigenschaften (z.B. selten-lokal) um nicht zu Unschärfen im Wortgebrauch zu führen. Abgesehen davon ist die Abgrenzung zwischen „lokal“ und „privat“ nicht eindeutig und verwischt die ursprüngliche Definition von SLATKIN & TAKAHATA (1985), welche das Attribut „private“ generell mit einer geringen Häufigkeit verknüpft. FINKELDEY (1993) schlägt *allelische* Profile zur grafischen Darstellung allelischer Strukturen vor. LEINEMANN (1998) schließlich entwickelt Referenzvektoren, um rassentypische Unterschiede in den allelischen Strukturen mehrerer Genloci auf einen Blick erfassbar zu machen.

Ferner können *genetische* Profiltypen bei der Ausprägung von allelischen Strukturen unterschieden werden (LEWONTIN 1985, HATTEMER et al. 1993), welche qualitative Vergleiche über mehrere Bezugsebenen ermöglichen:

I) **Monomorphismus**

(Solche Genorte verfügen nur über eine Gen-Variante, d.h. sie sind fixiert)

II) **Minorpolymorphismus**

(Solche Genorte verfügen über ein häufiges und ein oder mehrere seltene Allele)

III) **Majorpolymorphismus**

(Solche Genorte verfügen über zwei, in anderen Fällen über drei häufige Allele)

Betrachtet man die Strukturen der Allele einer Population über mehrere Loci, so spricht man von *genischer* Struktur.

Unter der **genotypischen Struktur** versteht man die Häufigkeitsverteilung der Genotypen eines Genortes in einer Population, wobei hierunter die vorgefundenen paarweise Allelkombinationen aller Individuen zu verstehen ist. Diese Häufigkeitsverteilung wird in Prozentwerten ausgedrückt (HATTEMER et al. 1993). Der Ausdruck findet auch bei der gleichzeitigen Betrachtung von mehreren Loci Verwendung. Die genotypische Struktur wird hier, mit einer Ausnahme, nicht im Detail erörtert sondern nur synoptisch (Parameter). Da sie auf Grund ontogenetischer Dynamik Veränderungen unterworfen ist (HATTEMER et al. 1981), aber auch bei der sexuellen Reproduktion (MÜLLER-STARCK 1985), kann sie für das Hauptziel dieser Arbeit keine Stützen bieten. Ihr wichtigstes Anwendungsgebiet, unter Beachtung des *Hauptaxiomes*¹⁴ der Genetik, sollte der Vergleich innerhalb gleicher Stadien oder zwischen unterschiedlichen Stadien gleichen Ursprunges sein.

2.1.3.2. Variation innerhalb einer Population

Die nachfolgenden Ausführungen nehmen Bezug auf das Werk¹⁵ von HATTEMER und Kollegen (1993) und stellen diejenigen Parameter vor, welche im folgenden Anwendung finden. Die Parameter, welche in dieser Form größtenteils der Göttinger Schule entstammen, sollen auch Vergleiche zur Variation europäischer Baumarten ermöglichen. Die in Amerika verwendeten Maße werden gesondert besprochen, sofern sie hier eingesetzt werden.

Genetische Vielfalt

Um die Anzahlen unterschiedlicher Typen in einer Population zu quantifizieren wurden die nachstehenden Parameter verwendet:

- * Die *genische Vielfalt*, d.h. die Summe beobachteter Allele über alle Genloci: **A**
- * Die *mittlere Anzahl von Allelen* je Genlocus¹⁶: **A/L**
- * Der *Anteil polymorpher Genorte* in der Stichprobe (in Prozent ausgedrückt),
wobei das jeweils häufigste Allel den Wert von 95% nicht erreichen darf: **P₉₅**

Die genannten Parameter der genetische Vielfalt wurden in der vorliegenden Arbeit verwendet, um die Allelverbreitung im Habitat zu beschreiben (CONKLE 1992). Gemeinhin wird aus zunehmender Vielfalt auf eine Zunahme der Anpassungsfähigkeit geschlossen (GREGORIUS 1989), woraus sich in der vorliegenden Arbeit wichtige Anhaltspunkte für die Beurteilung der badischen Bestände ergeben. Diese Parameter sind sehr von der Stichprobengröße abhängig (vgl. Kap. 2.5.3. und 3.1.2.).

Genetische Diversität

Es wurde die *genische* oder *Genpool-Diversität* **v** gewählt. Diese berechnet sich aus dem harmonischen Mittel der Einzellocus-Diversitäten und entspricht damit der mittleren effektiven Anzahl von Allelen. Obwohl dieses Maß durch die Berücksichtigung von Häufigkeiten einzelner Varianten vor dem Hintergrund populationsgenetischer Prozesse aussagekräftiger ist, so muß doch auf die Tatsache ver-

¹⁴ Regel von der freien Kombination der Gene: MENDEL (vgl. STRICKBERGER 1988, S. 113 ff.)

¹⁵ Loc. cit. S. 133 ff. und 260 ff.

¹⁶ In der amerikanischen Literatur irreführenderweise als „A“ bezeichnet (vgl. BERG & HAMRICK 1997).

wiesen werden, daß ganz unterschiedliche allelische Strukturen u.U. zu gleichen Werten führen können (HATTEMER 1994). Die allelische Diversität v_k , d.h. die Einzellocus-Diversität wurde für Einzelfälle berechnet.

Die *hypothetisch gametische Multilocus-Diversität* v_{gam} wird aus dem Produkt der Einzellocus-Diversitäten gebildet. Sie beschreibt die Anzahl unterschiedlicher Gameten, welche in der analysierten Population im Bezug auf die gewählten Genloci gebildet werden können.

Heterozygotie

Zur Beschreibung der beobachteten individuellen genetischen Vielfalt dient der Heterozygotiegrad. Hier wurde der *mittlere Heterozygotiegrad* H verwendet, der dem über alle Loci gemittelten Anteil heterozygoter Individuen in der Population entspricht. Bei der Interpretation dieser Parameter muß beachtet werden, daß bei bestimmten Enzymsystemen Wertänderungen in Abhängigkeit von Entwicklungsstadien auftreten können (vgl. YAZDANI et al. 1985). Die bedingte Heterozygotie H_c dient zum Vergleich des gefundenen mittleren Heterozygotiegrades mit der, unter den gefundenen Allelhäufigkeiten, maximal möglichen Heterozygotie und wird in Prozenten des Maximalwertes ausgedrückt. Das von NEI (1973, 1975) entwickelte und in Amerika gebräuchliche Maß H_c beruht hingegen auf dem Hardy-Weinberg-Modell, und bietet daher nur einen sehr theoretischen Vergleich.

Fixierungsindex

Der Fixierungsindex F bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, daß zwei Allele an einem Genort die gleiche Abstammung besitzen (Falconer 1981). In der vorliegenden Arbeit wird F einerseits in seiner Bedeutung als Inzuchtkoeffizient, andererseits aber zur generellen Beschreibung genotypischer Strukturen verwendet. Im letztgenannten Fall bedeuten negative Werte einen Hinweis auf Heterozygotenüberschuß. F wurde nach folgender Formel ermittelt (vgl. Yazdani et al. 1985): $F = 1 - (H_a/H_e)$.

2.1.3.3. Variation zwischen Populationen

Genetische Abstände

Generell quantifizieren die genetischen Abstandsmaße die relativen Anteile von Varianten zwischen zwei Populationen. Hier werden der

* *allelische Abstand* an einem Einzellocus (hier: k): d_{XY}^k

* sowie der *genische Abstand*, also der allelische Abstand über mehrere Genloci: d_{XY}

verwendet. Die Vorteile dieser Maße liegen u.a. in der Erfüllung der Dreiecksungleichung sowie in den symmetrischen Eigenschaften der errechneten Abstände (GREGORIUS 1974). Werte nahe „1“ signalisieren vollständige genetische Verschiedenheit, solche nahe „0“ vollständige Übereinstimmung.

Genetische Differenzierung

Differenzierungsmaße dienen zum Messen des Ausmaßes der Verschiedenheit eines Teiles von seiner Grundgesamtheit, sie greifen also „weiter“ als die paarweise ermittelten genetischen Abstände.

Die *Gesamtdifferenzierung* innerhalb von Populationen oder Demen δ_T ermöglicht einen besseren Vergleich der Differenzierung des Allelbestandes von Individuen eines Kollektives, als die Diversität, mit welcher sie in funktionaler Beziehung steht (GREGORIUS & ROBERDS 1986). Die Gesamtdifferenzierung nimmt Werte zwischen „0“ und „1“ (=differenziert) an, welche stets kleiner sind als die genische Diversität (s.o.).

Auf der Ebene mehrerer Deme einer Art bezeichnet D_j die Populationsdifferenzierung (MÜLLER-STARCK & GREGORIUS 1986), welche die Unterschiede von Allelhäufigkeiten des einzelnen Demes zu den jeweiligen Häufigkeiten in der komplementären Vereinigungsmenge (=Genpool) der übrigen Deme quantifiziert. Die mittlere Differenzierung des Genpools δ errechnet sich aus dem gewogenen Mittel der Populationsdifferenzierungen aller Deme. In der vorliegenden Arbeit sollte es beispielsweise möglich sein, die badischen Bestände bezüglich ihrer Subpopulationsdifferenzierung innerhalb bestimmter, als Ursprungsgebiete vermuteter Teilareale zu untersuchen. Eine hohe Repräsentativität (HATTEMER 1994), d.h. geringe Differenzierung von den übrigen Vergleichs-Demen, müßte als weiteres Indiz für die jeweilige Abstammungshypothese gewertet werden.

Amerikanische Parameter

Der Vergleich zu den Parametern von NEI drängt sich auf, um eine vergleichende Diskussion mit bisherigen Forschungsergebnissen überhaupt sinnvoll durchführen zu können. Zum Einsatz kommen das genetische Abstandsmaß von NEI (1978) sowie die Diversitätsmaße H_T (totale Gen-Diversität), H_W (Diversität innerhalb einer Population) und D_{ST} (Diversität zwischen Populationen) (NEI 1973), welche auch in der Studie von LI & ADAMS (1989) Verwendung fanden.

2.2. Biochemische Untersuchungsmethoden

2.2.1. Terpene als biochemische Merkmale

Terpene oder Isoprenoide¹⁷ bilden eine umfangreiche Gruppe pflanzlicher Inhaltsstoffe, die sich formal von Isopren ableiten (KINDL 1987, S. 209 ff.). Zu ihrer Analyse wurden bei der Douglasie meist die Gas-Flüssigkeits-Chromatographen eingesetzt. Diese Art der Chromatographie zeichnet sich durch hohe Empfindlichkeit, gute Reproduzierbarkeit sowie hohe Trenngeschwindigkeit aus (WILLIAMS & WILSON 1984).

Die Bedeutung der Terpene als taxonomische Merkmale wurde zuerst von MIROV (1961) und ERDTMAN (1963) aufgezeigt¹⁸. Später wurde die Erbllichkeit von Monoterpenmustern bei Koniferen von verschiedenen Autoren nachgewiesen (zur Übersicht vgl. SQUILLACE 1976, S.120). Dabei versteht man unter Terpenmustern die qualitativ und quantitativ unterschiedlichen Zusammensetzungen, die in Individuen und Populationen zu finden sind. Selten jedoch wurden Terpene als Genmarker im eigentlichen Sinne (vgl. Kap. 2.1.2.) angewandt. TIGERSTEDT et al. (1979) berichteten beispielsweise über Untersuchungen, die auf einen dominant / rezessiven Vererbungsmodus der "3-Caren"-Produktion bei der Fichte schließen lassen, an dem zwei Allele eines Genlocus beteiligt sind. In einer Reihe von Fällen muß sogar zwingend auf eine Kontrolle durch mehrere Genloci gefolgert werden (BIRKS & KANOWSKI 1988). Eine Übersicht über mögliche gegenseitige biosynthetische Beeinflussungen der einzelnen Komponenten gibt ZAVARIN (1970).

Die methodischen Besonderheiten bei der Probennahme, wie beispielsweise die Beachtung des Gewebetyps oder des Alters der untersuchten Individuen (vgl. BARADAT & MARPEAU 1992), verdeutlichen den relativ komplizierten Charakter dieses Verfahrens. Hinzu tritt die oben erwähnte Tatsache, daß die Art der Merkmalsausprägung nicht nur kodominant sondern in den verschiedenen Variationen der Dominanz vorliegen kann (ibid. 1992). Auf die speziellen Anforderungen einer korrekten Datenauswertung wurde mehrfach hingewiesen (BIRKS & KANOWSKI 1988, BIRKS & KANOWSKI 1995)

Die in Kap. 2.5.2. beschriebenen Untersuchungen an der Douglasie bedienen sich direkt der Terpenmuster als Werkzeug, um Unterschiede zwischen einzelnen Populationen aufzuzeigen. Der Modus der genetischen Codierung bleibt im Detail ungeklärt. Die umweltunabhängige Ausprägung der Terpenmuster wurde im Falle der Nadelölterpene am Beispiel eines (!) Baumes¹⁹ demonstriert (v. RUDLOFF 1972, S. 1036).

2.2.2. Isoenzyme - Begriff und Anwendung als Genmarker

Isoenzyme oder Isozyme werden die unterschiedlichen Formen eines Enzyms genannt, die innerhalb eines Organismus beobachtet werden können (FERET & BERGMANN 1976). Ihnen allen ist die katalytische Steuerung von jeweils identischen oder zumindest vergleichbaren biochemischen Prozessen ge-

¹⁷ Terpene, deren Charakteristikum die Bildung von verzweigten Kohlenstoffketten ist (KARLSON 1994, S. 271), werden nach der Zahl ihrer Kohlenstoffatome eingeteilt in: Monoterpen (C₁₀-Körper), Sesquiterpene (C₁₅-Körper), Diterpene (C₂₀-Körper) usw.

¹⁸ Zitiert nach V. RUDLOFF 1973a, S. 401.

¹⁹ Inlandsdouglasie an der Küste angezogen, Alter zum Zeitpunkt der Untersuchung: 7 Jahre.

meinsam (vgl. Kap. 2.3.). Man spricht deshalb auch von Enzymsystemen, deren Einzelformen durch elektrophoretische Trennung mit anschließender histochemischer, enzymspezifischer Färbung darstellbar sind. Die Gelelektrophorese macht sich die Unterschiede hinsichtlich Nettoladung und Molekülgröße dieser Proteinkomplexe zunutze, welche z.T. durch Punktmutationen hervorgerufen wurden (HATTEMER et al. 1993). In diesem Falle bewirkt die Mutation eines einzigen Bausteines (Nukleotid) des codierenden Genes eine entsprechende Veränderung im Aufbau, die sich bis in die Quartärstruktur und die elektrischen Eigenschaften der Isoenzyme erstreckt.

Im allgemeinen geht man davon aus, daß die Isozyme, welche von ein und demselben Genlocus kodiert werden (= Alloenzyme), sich hauptsächlich in der Nettoladung unterscheiden. Isoenzyme, deren Aufbau über verschiedene Genloci gesteuert wird, zeigen darüberhinaus Unterschiede in der Molekülgröße (HATTEMER & BERGMANN 1987, S. 57).

Zu den ersten Anwendern der Isoenzymanalyse gehörten MARKERT & MOLLER (1959), die artspezifische und ontogenetische Variationen des Enzymsystems Lactat-Dehydrogenase bei Säugetieren untersuchten. Einen Überblick über die frühe Anwendung im Pflanzenreich gibt McMILLIN (1983). Studien an Isoenzymen der Waldbäume liegen vereinzelt seit der zweiten Hälfte der 60er Jahre vor (FERET & BERGMANN 1976). Seit der ersten Hälfte der 70er Jahre hat sich die Zahl der Publikationen auf diesem Gebiet explosionsartig vermehrt (HAMRICK & GODT 1990, MÜLLER-STARCK et al. 1992). Die Arbeiten von BARTELS (1971) und von BERGMANN (1971) an der Fichte, gehörten zu den ersten, die auch der genetischen Kontrolle der Isoenzymbildung Aufmerksamkeit schenkten (vgl. PAULE 1989).

Frühe Isoenzymuntersuchungen an der Douglasie beschäftigten sich mit artspezifischen Unterschieden bei Isoenzymmustern. So untersuchten JUO & STOTZKY (1973) 10 verschiedene Arten der Gattungen Pinus, Abies und Pseudotsuga; MEJNARTOWICZ & BERGMANN (1977) verglichen die Zymogramme von Fichte und Douglasie. Bei den letztgenannten fand erstmals die genetische Kontrolle der beobachteten Elektromorphe auch bei der Douglasie Berücksichtigung. Andere Studien beschäftigten sich mit der Suche nach Isoenzym-(Phänotyp)-Merkmalen als Indikatoren für Wuchsanomalien (COPES 1975) oder Unverträglichkeit von Pfropfreisern (COPES 1978).

Beiträge zur Klärung der genetischen Kontrolle der Ausprägung verschiedener Enzymsysteme bei der Douglasie an unterschiedlichem Gewebe²⁰ lieferten folgende Autoren: MEJNARTOWICZ & BERGMANN (1977: S), YANG et al. (1977: S), COPES (1979: B, K), EL-KASSABY (1981: S), EL-KASSABY et al. (1982: S), NEALE et al. (1984: S, N) sowie ADAMS et al. (1990: S, Kn, N). Für eine Vielzahl an Loci ist daher bei der Douglasie eine Zuordnung von Allelen unabhängig von der Art des analysierten Gewebes möglich.

Methodische Vorteile, wie geringe Kosten für Geräteausstattung, unkomplizierte Handhabung, kleine Gewebemengen, aber auch spezielle Eigenschaften der Isozyme, so die - mit wenigen Ausnahmen - konstante Ausprägung in verschiedenen ontogenetischen Stadien der Pflanzen oder die umweltunabhängige Ausprägung, prädestinieren die Isoenzymanalyse für Serienuntersuchungen in der Populationsgenetik (ADAMS 1983, MITTON 1983, BERGMANN 1991). Heute kommt den Isoenzymen daher eine große Bedeutung als Genmarker zu (HATTEMER et al. 1993).

²⁰ Es bedeutet: S - Saatgut (Makrogametophyt u./o. Embryo), B - Borke, Kn - Knospenmeristem, N - Nadelgewebe.

2.2.3. DNA-Analyse

Die direkte Analyse der Erbinformation tragenden Substanz, der Desoxyribonukleinsäure²¹, gewinnt bei höheren Organismen immer mehr an Bedeutung. Hat man sich noch zu Beginn der 70er Jahre auf Untersuchungen von Kernvolumen und DNA-Menge bei der Douglasie beschränkt (EL-LAKANY & SZIKLAI 1971), so liegen seit wenigen Jahren erste Arbeiten vor, die DNA-Analysetechniken zu populationsgenetischen Studien heranziehen (z.B. VORNAM 1993, HONG et al. 1995).

Natürlich ist es viel einfacher, das Genom von Organellen oder Organismen zu erforschen, bei denen nur wenige Gene über eine geringe Zahl an Basenpaaren²² verschlüsselt sind. Plastiden und Mitochondrien der Hefen besitzen relativ kleine haploide Genome mit Größenordnungen von 10^2 kb. Die Mitochondriengenome der Pflanzen sind etwas größer (10^3 kb). Die haploiden Kerngenome von Pilzen (10^4 kb), Säugern (10^6 kb) oder höheren Pflanzen (10^5 - 10^8 kb) übertreffen jene "einfach gebauten" Genome jedoch um ein Vielfaches! (nach SITTE 1991). Aus diesem Grunde wurden bisher hauptsächlich Arbeiten über Organellen-Genome bei Pflanzen veröffentlicht (SZMIDT 1991).

Ein weiteres Problem stellt die Verfügbarkeit qualitativ hochwertiger Sonden dar. Darunter sind solche Sonden zu verstehen, die einen hohen Heterozygotiegrad aufweisen, der bis über 90% betragen kann (EPPLEN et al. 1992). Da die Sorten landwirtschaftlicher Nutzpflanzen in einigen Fällen viel besser untersucht sind, stehen aus derartigen Genom-Bibliotheken eine Reihe von Sonden zur Verfügung. Der Einsatz von synthetischen Oligonukleotid-Sonden, wie sie in der Humangenetik bereits Anwendung finden (EPPLEN et al. 1991), verspricht hier raschere Fortschritte bei ersten Analysen genetischer Variation (KREIKE et al. 1991, SZMIDT & WANG 1991). Die Oligonukleotid-Sonden sind homolog zu sogenannten VNTR's²³, einer unterschiedlich langen Wiederholung von Basen-Tandems, die in allen Lebewesen beobachtet werden können. Diese Analysemethode des DNA-fingerprintings gewinnt mehr und mehr an Bedeutung (vgl. Kap. 2.2.3.1.); ihre zunehmende Kommerzialisierung, d.h. die Patentierung solcher Techniken, ist jedoch nicht unumstritten. Eine Behinderung des Forschungsfortschrittes wird von Kritikern nicht mehr ausgeschlossen (VOGEL 1993, FRÜHWALD 1995).

Ein dritter Gesichtspunkt, die genetische Kontrolliertheit der beobachteten RFLP-Muster, wird oft über das Studium der Polymorphismen vernachlässigt. Ein Umstand, der schwer wiegt, da die bei Pflanzen beobachteten RFLP-Polymorphismen zum großen Teil aus Regionen der DNA stammen, die nicht direkt für die Kodierung von Information benutzt wird (SZMIDT & WANG 1991, S.86). Außerdem ist gerade beim DNA-Fingerprinting, das mit einer unbekanntem Zahl von codierenden Genloci arbeitet, bisher selten der Rückschluß auf die codierenden Genloci gelungen (GILLET 1991). Es ist daher nicht verwunderlich, daß in einer so renommierten Zeitschrift wie NATURE bereits der Schluß gezogen wurde, die frühen Ziele des DNA-fingerprinting wären unberechtigt gewesen und es bliebe die ernste Sorge um Präsentation und Interpretation der Ergebnisse von DNA-Analysen (BALDING & DONNELLY 1994). Obwohl diese Schlußfolgerung im Zusammenhang mit gerichtlichen Beweisaufnahmen gezogen wurde, ist dennoch die Allgemeingültigkeit einer solchen Aussage vor allem vor dem Hintergrund der oben genannten Kritikpunkte gegeben.

Die DNA-Analyse mit ihren unterschiedlichen Verfahren weist somit noch eine Reihe methodischer Schwierigkeiten auf (HEINZE 1994), obwohl der Kenntnisstand auf diesem Gebiet rasch zunimmt. Ho-

²¹ Kürzel: DNA = desoxyribonucleic- acid

²² Die Messung von Fragmentlängen erfolgt nach der Zahl der Nukleotid-Bausteine, kurz "Basen-Paare". Gebräuchlich ist die Angabe in "kb", d.h. Kilobasenpaaren.

²³ Kürzel für: "variable number of tandem repeats"

her experimenteller Aufwand (VORNAM 1992) und hohe Gerätekosten sind weitere Nachteile beim Einsatz in der Populationsgenetik.

2.2.3.1. Ergebnisse von DNA - Untersuchungen an Douglasie

Erste Untersuchungen mittels molekularer Marker bei der Douglasie konzentrierten sich im wesentlichen auf die Chloroplasten-DNA (cpDNA):

Im Jahre 1986 veröffentlichten NEALE und Mitarbeiter erste Ergebnisse von Untersuchungen²⁴ der cpDNA, die auf eine Weitergabe des Chloroplastengenoms bei *Pseudotsuga menziesii* durch Pollen hinwies (NEALE et al. 1986). In der Folgezeit konnte dieser überraschende Befund bestätigt und auf weitere Koniferen-Arten ausgedehnt werden (NEALE & SEDOROFF 1988, NEALE et al. 1988). Ultrastrukturuntersuchungen an Samenanlagen der Douglasie während der Befruchtungsphase lieferten später eine Erklärung hierfür. Offensichtlich überleben nur diejenigen Organellen aus den elterlichen Gameten, die sich zum Zeitpunkt der Fusion der Kerne in der Perinuclear-Zone ansammeln (OWENS & MORRIS 1988, 1991). Die Chloroplasten aus der Pollenzelle sowie die mütterlichen Mitochondrien gehören hierzu. Heute geht man im allgemeinen davon aus, daß die Vererbung des Chloroplastengenoms bei den Koniferen patrokin, bei den Angiospermen hingegen matrokin verläuft (HATTEMER et al. 1993).

Erste Restriktionskarten sowie eine Genkarte des Chloroplastengenoms der Douglasie präsentierten HOWE, STRAUSS und Mitarbeiter 1988 der Öffentlichkeit. Erstaunlich war hier die geringe Größe des Genoms von nur 121,4 kb, die am untersten Rand des Spektrums bisher untersuchter Chloroplastengenome verschiedener Pflanzenarten anzusiedeln ist, welches von 120 bis 200 kb reicht (SUZUKI et al. 1991). Als weitere Besonderheit gilt das Fehlen einer langen, umgekehrten Wiederholung in der DNA-Sequenz, wie sie bei höheren Pflanzen üblich ist (HOWE et al. 1988, STRAUSS et al. 1989). Schließlich konnte noch eine ungewöhnlich große Menge repetitiver DNA-Sequenzen festgestellt werden, die über das Chloroplastengenom der Douglasie verstreut sind (TSAI & STRAUSS 1989).

Interspezifische Untersuchungen an 5 Douglasienarten aus Asien und Nordamerika sowie an *Larix orientalis*, bei denen sowohl cpDNA als auch DNA aus den Mitochondrien und dem Zellkern analysiert wurde, führte zur klaren Unterscheidung von asiatischen und amerikanischen Arten. Dabei wies *Pseudotsuga japonica* die größte Ähnlichkeit zu nordamerikanischen Arten auf (STRAUSS et al. 1990).

Eine erste populationsgenetische Studie mittels DNA von Ribosomen an Nadeln von 54 Bäumen einer arealumfassenden Sämlingssamenplantage führte zu dem Ergebnis, daß die unterschiedlichen Varietäten der Douglasie eine vergleichbare Variation von „Kopie-Anzahlen“ aufwiesen! Generell wurde lediglich eine Zunahme der „Kopie-Anzahlen“ in kälteren Klimaregionen festgestellt (STRAUSS & TSAI 1988). Eine weitere Untersuchung wurde auf der Basis von RFLP's und RADF²⁵ von DNA aus dem Kern, den Chloroplasten und Mitochondrien von Douglasie aus British Columbia durchgeführt (HONG et al. 1995). Es wurden u.a. die genetische Diversität sowie der Grad der Differenzierung zwischen den verschiedenen Populationen ermittelt, wobei das Kern-Genom die vergleichbar geringste Differenzierung aufwies. Eine eindeutige Trennung der Inlands- von der Küstenvarietät war auf der Basis genetischer

²⁴ Verfahren: Southern-blot; Restriktionsenzyme: SmaI, BamHI; Sonde: 15,3 kb PstI (aus Chloroplasten der *Petunia*).

²⁵ Eine Art des DNA-fingerprinting.

Distanzen nicht schlüssig aufzuzeigen, was von den Autoren mit der kurzen Evolutionsgeschichte nach der Eiszeit erklärt wurde (HONG et al. 1995, S. 259).

Die Arbeitsgruppe um Steve Strauss an der Oregon State University in Corvallis lieferte vor kurzem weitere Mosaiksteine zur Kenntnis der Variation molekularer Marker bei der Douglasie. RAPD- Marker (random amplified polymorphic DNA) waren entwickelt worden und zur Untersuchung gelangten nun 6 Populationen, welche Stichproben aus drei Habitaten der Douglasie repräsentierten: aus dem Küstenvorkommen, aus dem Vorkommen im Landesinneren von Oregon sowie von der südlichen Inlandsdouglasie.

Die RAPD-Marker zeigten eine geringe Diversität des Mitochondrien-Genoms im Vergleich zur Kern-DNA. Die Differenzierung war allerdings im Mitochondrien-Genom vergleichsweise stärker ausgeprägt (AAGARD et al. 1998b). In einer weiteren Studie an dem genannten Material wurden Daten aus der Analyse von 36 nuklearen RAPD-Loci mit Daten von jeweils benachbarten Populationen aus einer anderen Untersuchung, ermittelt an 20 Enzymgenorten (LI & ADAMS 1989), verglichen. Das Ergebnis zeigte ähnliche Größenordnungen bezüglich Diversität und genetischer Differenzierung (AAGAARD et al. 1998a). Es entsprach damit einem Postulat MITTON's, der unter der Voraussetzung neutraler Markereigenschaften für Isozymgenmarker und molekulare Marker des Kerngenoms vergleichbare Werte genetischer Variation prognostizierte (MITTON 1995).

2.3. Funktion und Bau der zu populationsgenetische Analysen herangezogenen Enzymsysteme.

Obwohl in der allgemeinen Biochemie wie auch in der Pflanzenphysiologie stürmische Entwicklungen der Kenntnisse zu verzeichnen sind, so findet sich doch - besonders im forstgenetischen Bereich - selten ein Hinweis auf Einzelheiten zu Bau und Funktionen der verwendeten Enzymsysteme. Bereits vor einigen Jahren haben WEEDEN & GOTTLIEB (1980, S. 392) auf diesen Mangel aufmerksam gemacht und gefordert, bei genetischen Interpretationen die Lokalisierung von Enzymen in verschiedenen Zellkompartimenten zu berücksichtigen. Beispiele hierzu finden sich in der allgemeinen Genetik (KOEHN et al. 1983). Und dennoch: üblich ist derzeit die fast ausschließliche genetische Diskussion der Befunde, sieht man einmal von einzelnen Arbeiten ab, etwa denen von CONKLE 1992, BERGMANN (1991), BERGMANN & SCHOLZ (1989), oder LINHART et al. (1981). Wieviele Möglichkeiten der Vernetzungen zu anderen Forschungsgebieten hier unausgeschöpft bleiben, auf wieviele Fragen aber auch rascher ein Hinweis auf eine Antwort gefunden werden könnte, läßt sich nur erahnen.

Für den vorliegenden Fall einer Abstammungsrekonstruktion wird daher nachfolgend ein Überblick über Bau und Funktion der verwendeten Enzyme gegeben. Ferner werden Beispiele der Organisation (Loci) der jeweiligen genetischen Information bei anderen Pflanzen zusammengetragen, um später diese Hintergründe für eine geographische Variation der Genmarker beleuchten zu können.

2.3.1. Das Enzymsystem Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase

Das Enzymsystem Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase (GOT; gültiges Synonym: Aspartat-Aminotransferase - AAT; E.C. 2.6.1.1.) katalysiert die Übertragung der α -Aminogruppe einer Aminosäure auf 2-Oxoglutarat. Die anschließend vorliegende, der Aminosäure analoge 2-Oxosäure kann weiter abgebaut werden, während die Aminogruppen in Form von l-Glutamat, wie in einem Pool gesammelt, zur Weiterverarbeitung bereitstehen (LEHNINGER 1987, S.586). Die Transaminasen sind damit an der wichtigsten Reaktion beim Abbau aller Aminosäuren beteiligt (KARLSON 1988, S.191).

Neben der genannten Funktion zu Beginn des oxidativen Abbaues der Aminosäuren ist eine weitere wichtige zu nennen: bei der Biosynthese der Aminosäuren der Aspartat-Familie katalysiert GOT die Bildung des Ausgangsproduktes. Das Aspartat konnte bei C_3 -Pflanzen mittels Isotopenmarkierung als eines der frühen Assimilationsprodukte in den Chloroplasten nachgewiesen werden (KINDL & WÖBER 1975, S. 155).

GOT spielt außerdem eine wichtige Rolle beim Transport von CO_2 (aus der Atmosphäre) vom Mesophyll zu den Bündelscheidenzellen der C_4 - Pflanzen (KINDL 1987, S. 160 ff.). Dabei wird das CO_2 direkt in den Calvin-Zyklus eingespeist (ZIEGLER 1991, S.279).

Für tierische Zellen findet eine Beteiligung von GOT beim Transport von Reduktionsäquivalenten (Malat-Aspartat-Shuttle) durch die innere Mitochondrienmembran statt (KARLSON 1988, S. 407; KLEINIG & SITTE 1986, S. 311). Auf eine solche Funktion des Enzyms im Elektronentransport zwischen Chloroplasten und dem Cytoplasma der Pflanzen haben WHIGHTMAN & FOREST bereits 1978 (S. 1467) hingewiesen.

Man hat bei unterschiedlichen Pflanzen mehrere, fast immer drei, Genloci gefunden, die das Enzymsystem GOT kodieren. Bedenkt man die oben beschriebenen Aufgaben, lokalisiert in unterschiedlichen Kompartimenten der Zelle, so verwundert dieser Befund kaum. Beispielsweise werden bei *Oxystylis*

lutea, *Wislizenia refracta* (VANDERPOOL et al. 1991), *Hordeum vulgare* (BROWN 1983), *Stephanomeria exigua* (GOTTLIEB 1973) oder *Brassica oleracea* L. (ARUS & SHIELDS 1983) je drei Loci beschrieben; bei anderen, allopolyploiden Kulturpflanzen, wie *Triticum aestivum* (HART 1983, S.48) oder *Triticale spec.* werden fünf bzw. sechs Loci angegeben (JAASKA 1983).

Für *Zea mays* ist bekannt, welcher der drei Loci in welchem Zellkompartiment den Bau der jeweiligen Alloenzyme kodiert und auf welchem Chromosom die entsprechenden Genloci zu finden sind (GOODMAN & STUBER 1983, S.9 ff.).

Auch bei Forstpflanzen, so bei *Pinus sylvestris* (RUDIN & EKBERG 1978), bei *Picea abies* (LUNDKVIST 1979, POULSEN et al. 1983), bei *Picea engelmannii* und *Picea pungens* (ERNST et al. 1987), bei *Pseudotsuga menziesii* (EL-KASSABY et al. 1982; ADAMS et al. 1990), bei *Abies alba* (KONNERT 1992), *Alnus rugosa* (BOUSQUET et al. 1988), *Liquidambar spec.* (HOEY & PARKS 1990) und bei *Prunus avium* (SANTI & LEMOINE 1990a) wurden drei Genloci für dieses Enzymsystem nachgewiesen. Lediglich bei *Picea mariana* wurden von BOYLE & MORGENSTERN (1985) nur zwei Genloci gefunden.

Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase hat ein Molekulargewicht von etwa 91.000-100.000 im tierischen Gewebe und besteht aus zwei Untereinheiten (DIXON et al. 1979, S. 557). WIGHTMAN & FOREST (1978, S. 1462) führen Beispiele von Untersuchungen an Weizenkeimen (75 000 Dalton) und Wurzeln der Buschbohne (128 000 Dalton) an, die eine breitere Streuung der Molekülmasse im Pflanzenreich dokumentieren. Bei Bakterien sind die kleinsten Formen mit Molekulargewichten zwischen 82 und 89 kD zu beobachten (WIGHTMAN & FOREST 1978, S. 1462). Das Enzym tritt folglich in allen tierischen und pflanzlichen Geweben auf (BERGMAYER 1983, S.416). Sein Coenzym ist Pyridoxal-Phosphat; die Aminosäure-Sequenz des Apoenzyms wurde für cytoplasmatische GOT aus Schweine-Herz von OVCHINNIKOV et al. (1973) geklärt.

2.3.2. Das Enzymsystem Isocitrat-Dehydrogenase

Der Citratcyclus dient nicht nur zum Endabbau aller Metaboliten und zum Energiegewinn, sondern er wirkt auch als Drehscheibe des Stoffwechsels (KARLSON 1988, S.210). So entstammt alleine die Hälfte aller Aminosäuren aus Zwischenprodukten dieses Kreislaufes (KARLSON 1988, S. 187). Hier nimmt das Enzymsystem Isocitrat - Dehydrogenase eine Schlüsselstellung (vgl. KARLSON 1988, S. 406) ein: Es katalysiert die Decarboxylierung von Isocitrat unter gleichzeitiger Wasserstoff-Übertragung auf NAD (NADP) (LEHNINGER 1987, S.492). Diese Reaktion ist bei der Bestimmung der Geschwindigkeit des Zyklus von Bedeutung (ZIEGLER 1991, S.293 und LEHNINGER 1985, S. 375). Man unterscheidet zwei Isocitrat-Dehydrogenasen; die eine benötigt NAD^+ als Elektronenakzeptor und kommt nur in der Matrix der Mitochondrien vor (EC-Nr. 1.1.1.41), die andere kann an NADP^+ Elektronen übertragen und wurde in den Mitochondrien sowie im Cytosol gefunden (EC-Nr. 1.1.1.42).

Als Genmarker wird zumeist das NADP^+ - abhängige Enzymsystem herangezogen. Üblicherweise finden sich zwei codierende Genloci, wie sie auch bei *Gerste* (BROWN 1983), *Mais* (GOODMAN & STUBER 1983) und *Sojabohne* (KIANG & GORMAN 1983) beschrieben wurden. Ebenfalls durch zwei Genloci wird dieses Enzymsystem bei der *Weißtanne* (BERGMANN & KOWNATZKI 1988, KONNERT 1992), bei der *Fichte* (MUONA et al. 1987), bei *Pinus sylvestris* (HERTEL 1997), bei der *Kirsche* [*Prunus avium*] (SANTI & LEMOINE 1990), bei der *Sauerkirsche* (KAURISCH et al. 1991) der *Kastanie* [*Castanea sativa*] (FINESCHI et al.1991, S.55) sowie bei der *Kanadischen Schwarzpappel* [*Populus deltoides*] (MALVOLTI et al. 1991) codiert.

Zu den Pflanzen, die nur über einen Genlocus den Aufbau der NADP⁺-abhängigen Isocitrat-Dehydrogenase steuern, gehört neben *Triticale* (JAASKA 1983), *Pinus rigida* (GURIES & LEDIG 1978) oder *Pinus taeda* L. (ADAMS & JOLY 1980) auch die *Douglasie* (El-KASSABY 1982, ADAMS et al. 1990). Über drei Genloci berichten ERNST und Kollegen (1987) bei *Picea engelmannii* und *P. glauca*.

IDH (NADP⁺) hat ein Molekulgewicht von 60.000 (Schweineherz) bis 92.500 (*Bacillus stearothermophilus*) und besteht aus zwei Untereinheiten (DIXON et al. 1979, S.554).

2.3.3. Das Enzymsystem Leucin-Amino-Peptidase

Das Enzymssystem Leucin-Amino-Peptidase (LAP; E.C. 3.4.11.1) ist sowohl im Tier- als auch Pflanzenreich weit verbreitet. Man findet es im Gewebe und in Körperflüssigkeiten sämtlicher Organismen (BERGMEYER 1988, Band V, S.2), wo es am Abbau (Hydrolyse) von Eiweißmolekülen beteiligt ist. Zu den Exopeptidasen gehörend, greift es Eiweißmoleküle vom N-terminalen Ende her an und hydrolysiert l-Peptide mit Ausnahme von Lysil- und Arginylpeptiden (BERGMEYER 1988, Band V, S. 2). Endprodukte der Hydrolyse sind die Aminosäuren, die nun beim Aufbau von Eiweißen wiederverwendet werden (ZIEGLER 1991, S. 299) oder weiter abgebaut werden können (LEHNINGER 1985, S. 462).

LAP ist sowohl bei Säugern als auch bei Pflanzen (GOODMAN & STUBER 1983) im Cytosol zu lokalisieren. Es handelt sich um ein Zink-Metalloenzym, dessen Apoenzymkomplex bei Rindern²⁶ aus **sechs** Bausteinen besteht !! (vgl. Abb. 2-1) LAP besitzt hier eine relative Molekülmasse von 326.000. (MELBYE et al. 1971, LUDEWIG et. al. 1977, HANSON et al. 1976). In Gewebe aus Schweine-Nieren wurde dagegen ein Molekulgewicht von 255000 ermittelt, wobei ein Enzymkomplex sich aus **vier** Bausteinen einer relativen Molekülmasse von jeweils 63500 zusammensetzt (DIXON et al. 1979, S. 564).

Bei *Picea abies* ermittelten MÜLLER-STARCK & HÜTTERMANN (1981) ein Molekulgewicht von ungefähr 300000 mittels Gel-Chromatographie²⁷. Nach Anwendung der Disc-Gelelektrophorese fanden sie ein Molekulgewicht von 71 kD für die Isozyme des A-Genlocus sowie 131 kD für die Isozyme des B-Genlocus. Die genannten Autoren vermuteten als Erklärung für die unterschiedlichen Befunde eine Aggregation von mehreren Untereinheiten des Protomers.

Bei elektrophoretischen Untersuchungen an diversen Organismen wird LAP ausnahmslos als monomeres Enzym beschrieben, das oft über zwei Genloci codiert wird. Als Beispiele seien genannt *Zea mays* (vier Loci: OTT & SCANDALIOS 1978) und *Medicago spp.* (zwei Loci: QUIROS 1983) bei Wirtschaftspflanzen. Bei Forstpflanzen fanden die Beobachtungen bezüglich zweier Loci weitere Bestätigung:

²⁶ Praeparat: aus der Linse des Auges.

²⁷ Sepharose CL-6B Säule

Sowohl für *Abies alba* (KONNERT 1992), *Picea abies* (BERGMANN 1973 und 1974, LUNDKVIST 1974), als auch *Pinus sylvestris* (RUDIN & EKBERG 1978, HERTEL 1997), *P. rigida* (GURIES & LEDIG 1978), *P. taeda* (ADAMS & JOLY 1980), *Pinus tabulaeformis* (WANG et al. 1991), *Pseudotsuga menziesii* (COPES 1979, ADAMS et al. 1990) und *Prunus avium* (SANTI & LEMOINE 1990) gilt diese Feststellung.

Die physikochemischen Eigenschaften widersprechen zunächst den o. g. Ergebnissen der analytischen Chemie. Da unter der Annahme einer monomeren Struktur die Erbllichkeit der Muster in vielen Fällen nachgewiesen ist, ist zwingend zu folgern, daß jeweils nur gleiche Bausteine zum Aufbau eines Alloenzym verwendet werden (Fehlen von intermediären Strukturen)! Bei einer elektrophoretischen Auftrennung verhalten sich solche Enzyme wie monomere Proteinkörper, welche aus nur einem Polypeptid aufgebaut sind. Ein solches Erklärungsmodell stützt sich im Analogieschluß auf das klassische Beispiel der Hämoglobine (zur Übersicht vgl. STRICKBERGER 1988, S. 536-542). In jenem Fall ist die bevorzugte Aggregation baugleicher Polypeptidketten als nachgewiesen anzusehen; außerdem wurden am gleichen Objekt die Auswirkungen unterschiedlicher Erbinformationen eines (Mendel-) Genlocus auf die Primärstruktur und die elektrophoretische Mobilität der Proteine eingehend studiert (BUNN et al. 1977, HUENS et al. 1964).

In einigen Fällen von Segregationsanalysen traten unerwartete Enzymbanden auf (MÜLLER 1976: *P. abies*; COPES 1979: *Pseudotsuga menziesii*; ADAMS et al. 1990: *Pseudotsuga menziesii*; SANTI 1990 (mündl. Mitt.): *Prunus avium*; FINESCHI 1990 (mündl. Mitt): *Castanea sativa*). Diese fallweise auftretenden Schwierigkeiten der Zymogramm-Interpretation waren Gegenstand eigener Untersuchungen (vgl. Kap. 5.1.3.). Trotzdem ist das Enzymsystem LAP auf Grund seiner Gegenwart in unterschiedlichen Geweben ein überaus wertvoller Genmarker.

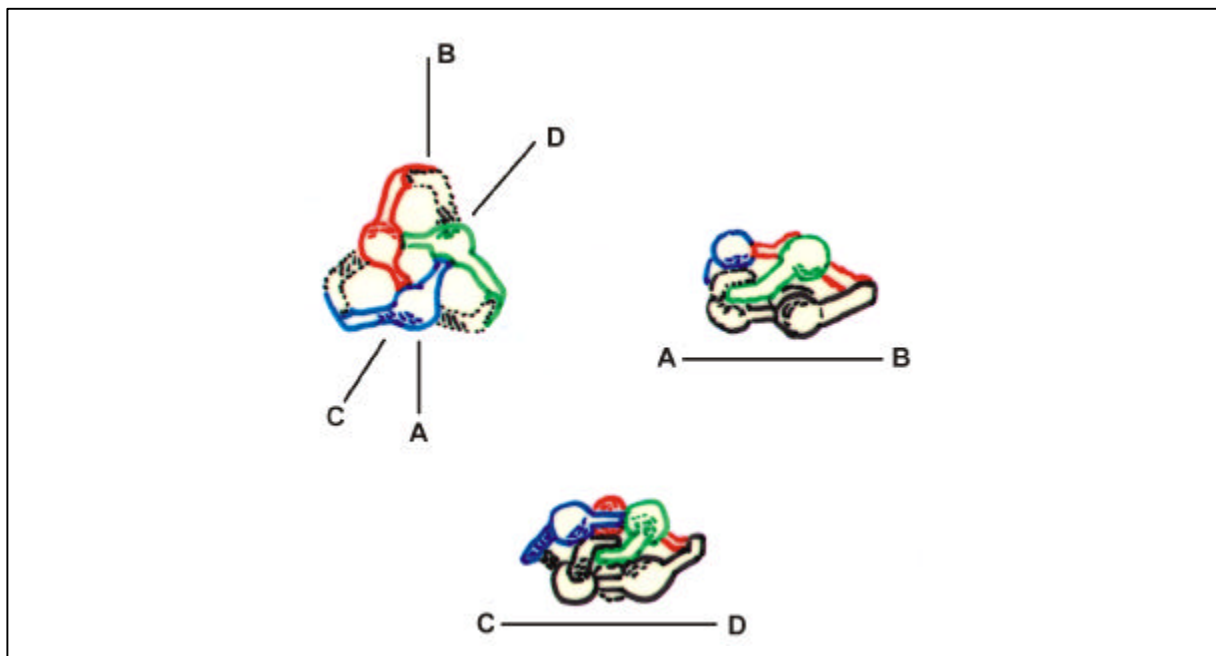


Abb. 2-1: Modell der Quartär-Struktur von LAP aus der Linse des Rinderauges.

Nach LUDEWIG et al. 1976, verändert.

2.3.4 Das Enzymsystem 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase

Innerhalb des oxidativen Pentosephosphatzyklus²⁸ ist das Enzymsystem 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGDH, auch 6-PGD oder PGD; EC-Nr. 1.1.1.44) an der oxidativen Decarboxylierung von 6-Phosphogluconat zu Ribulose-5-Phosphat beteiligt. Dabei entsteht das für reduktive Synthesen²⁹ so wichtige NADPH+H⁺ (LEHNINGER 1985, S. 383; ZIEGLER 1991, S.302). Eine weitere Bedeutung des Phosphogluconatweges liegt in der Bereitstellung von Pentosen für verschiedene Biosynthesen, beispielsweise der Nucleinsäuren. Man geht heute davon aus, daß alle genannten Funktionen sowie der Aufbau von Glucose während der Dunkelreaktion der Photosynthese in den Chloroplasten stattfinden können (LEHNINGER 1985, S. 490). Im Cytoplasma hingegen liefert die Produktion des Reduktionsäquivalentes NADPH durch den Phosphogluconatweg einen zentralen Stein im Mosaik des Stoffwechsels (LEHNINGER 1985, S. 383).

Untersuchungen an landwirtschaftlich genutzten Pflanzen, so bei *Roggen* (JAASKA 1983, S. 90) oder asiatischen *Bohnen* (JAASKA & JAASKA 1990, S.285), ergaben einen codierenden Locus für 6-PGDH. Im *Mais* scheinen nach GOODMAN & STUBER (1983) zwei Genloci den Aufbau dieses Enzymsystems zu steuern, bei der *Tomate* sind es deren drei (TANKSLEY & KUEHN 1985). Bei den Vertretern der Gattung *Cuphea* werden zwei [*C. lutea*] bzw. fünf [*C. laminuligera*] kodierende Loci geschildert (KRUEGER & KNAPP 1990).

Bei den Laubbäumen weiß man etwa über die *Buche* von drei Loci (Müller-Starck & Starke 1993), über *Alnus rugosa* (BOUSQUET et al. 1988) sowie *Camelia japonica* (WENDEL & PARKS 1982) von je zwei Genloci, welche die Struktur der Isoenzyme festlegen.

Für Beispiele aus zwei Subgenera der Gattung Kiefer (Subg. *Pinus* und *Strobus*) geben BERGMANN und GILLET einen Überblick, nachdem der Bau des Enzymsystemes 6-PGDH in der Untergattung *Pinus* durch zwei Loci, in der Untergattung *Strobus* aber von vier Loci kontrolliert wird (BERGMANN & GILLET 1997). Bei den übrigen Koniferen werden beispielsweise für eine Fichtenart, *Picea mariana* (BOYLE & MORGENSTERN 1985) und für die *Weißtanne* (BERGMANN & KOWNATZKI 1988, KONNERT 1992) von jeweils zwei kodierenden Genloci berichtet. Dies trifft auch für die *Douglasie* zu (EL-KASSABY et al. 1982; NEALE et al. 1984 und ADAMS et al. 1990). Unterschiedliche Angaben liegen für die Schimmelfichte, *Picea glauca* (MOENCH) Voss, vor: bei CHELIAK & PITEL (1984b) wird von jeweils zwei kodierenden Genloci berichtet; Hingegen kommen KING & DANCIK (1983) zu dem Schluß, drei Genloci würden den Aufbau dieses Enzymsystems steuern, der auch zu Heterodimeren führt. Von einer derartigen Kodierung über drei Loci muß man auch bei *Picea abies* ausgehen (GIANNINI et al. 1991; POULSEN et al. 1983, KONNERT 1995), ebenso wie bei *P. engelmannii* und *P. glauca* (ERNST et al. 1987). Alle genannten Arbeiten kommen zu dem Schluß, daß sich 6-PGDH wie ein dimeres Enzym verhält.

Zwei verschiedene Formen³⁰ des Enzyms mit Molekulargewichten von 101.000 bzw. 111.000 konnten auch bei chemischen Analysen an der Hefe *Candida utilis* festgestellt werden (RIPPA et al. 1967). Spätere Untersuchungen an Erythrozyten des *Menschen* durch PEARSE und ROSEMEYER (1973) führten zu

²⁸ Synonyme: Phosphogluconatweg, hexose monophosphate shunt.

²⁹ Dunkelreaktion der Photosynthese

³⁰ =Isoenzyme

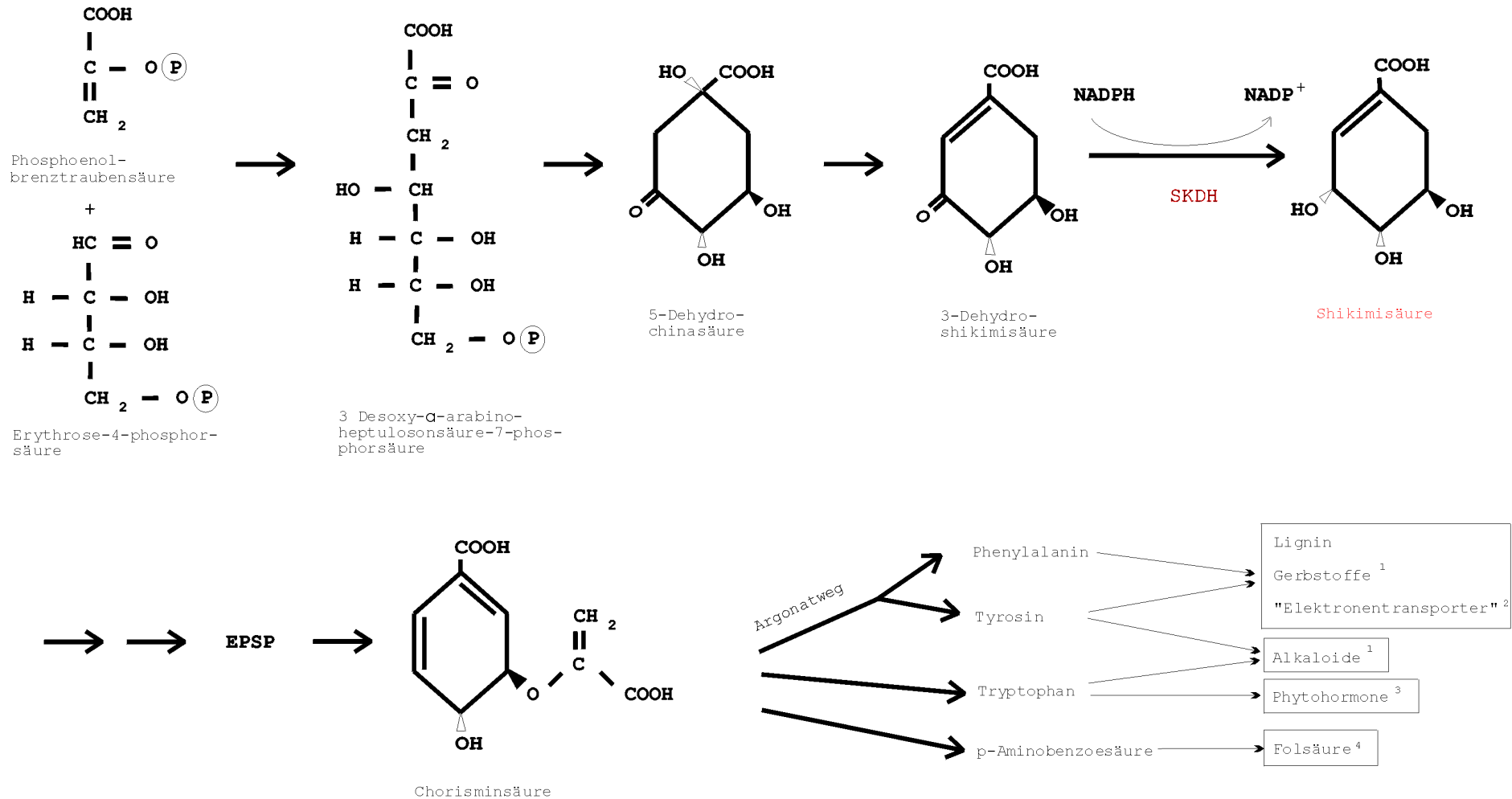


Abb. 2-2: Die Rolle von SKDH im Shikimatweg
 Ausgangsprodukte, einige Zwischenprodukte sowie Übersicht über wichtige Endprodukte der Biosynthese aromatischer Aminosäuren.

(im Anhalt an: Floss 1986, Kindl+Wöber 1975, Karlson 1988, Lehninger 1985)

- Anm.:
- 1 Bedeutung: Phytoalexine, Farbstoffe
 - 2 Benzochinone; z.B.: Plastochinon (Chloroplasten) und Ubichinon (Mitochondrien).
 - 3 Indoleessigsäure (Karlson 1988, S.177 Lehninger 1985, S.582 ff.)
 - 4 Tetrahydrofolsäure nimmt wichtige Aufgabe im C-Stoffwechsel wahr (Kindl+Wöber 1975, S.289)

einem ähnlichen Ergebnis. Dort konnte eine Form des Enzyms mit einem Molekulargewicht von 104.000, bestehend aus zwei Untereinheiten von je 52000 Mr³¹, isoliert werden. Im Cytosol von *Drosophila melanogaster* fanden WILLIAMSON et al. (1980) ein Isoenzym von 6-PGDH mit einem Molekulargewicht von 105000, dessen ungleiche Untereinheiten eine Masse von 55000 bzw. 52000 Mr aufwiesen. Somit ist auch auf diesem Wege eine dimere Struktur von 6-PGDH für eine Reihe von Lebewesen belegt.

Erstaunlich, vor allem im Vergleich mit den anderen, hier vorgestellten Enzymen, ist jedoch die Tatsache, daß in ganz unterschiedlichen Organismen nur eine geringe Schwankungsbreite des relativen Molekulargewichtes zu beobachten ist. TANKSLEY UND KUEHN (1985) fanden nämlich Molekulargewichte zwischen 49500 und 51500 für die Großbausteine von 6-PGDH Isoenzymen der *Tomate*.

2.3.5 Das Enzymsystem Shikimat-Dehydrogenase

Die Biosynthese der aromatischen Aminosäuren, die im Shikimatweg beginnt, ist von weitreichender biologischer Bedeutung. Neben Lignin gehören Gerbstoffe, Phytohormone (z.B. Indoleessigsäure), Phytoalexine oder das bei der Photosynthese wichtige Plastochinon zu den Folgeprodukten dieses Syntheseweges. Die Abbildung 2-2 gibt einen zusammenfassenden Überblick über wichtige Einzelschritte dieses Produktionsweges, seiner Verzweigungen sowie über die Palette der Endprodukte. Der bei LINHART et al. (1981) erwähnte Acetat-Weg spielt bei Pilzen und Prokaryonten eine gewisse Rolle, bei höheren Pflanzen jedoch ist dieser Syntheseweg aromatischer Aminosäuren offensichtlich auf wenige Beispiele beschränkt (KINDL & WÖBER 1975, S. 262). Die Shikimatdehydrogenase (SKDH, auch SDH, SDK oder Sad; E.C. Nr. 1.1.1.25) ist unmittelbar an der Reduktion von 3-Dehydro-Shikimisäure zu Shikimat beteiligt. Damit wird ein Enzymsystem zu populationsgenetischen Studien herangezogen, das den Bau eines "Schlüssel"-Produktes (vgl. LEHNINGER 1985, S. 583) des Shikimat-Weges katalysiert.

Die Hauptaktivität von SKDH scheint im Cytosol zur Entfaltung zu kommen, geringere Aktivitäten in den Chloroplasten können jedoch nicht ausgeschlossen werden (WENDEL et al. 1988).

In Untersuchungen an einjährigen Pflanzen, etwa bei *Gerste* (BROWN 1983), Paprika [*Capsicum spec.*] (McLEOD et al. 1983) und *Petunia* (WIJSMAN 1983), oder bei mehrjährigen wie *Sellerie* (ORTON 1983), wird jeweils ein kodierender Locus beschrieben. Anders bei *Cuphea laminuligera*³², wo eindeutig zwei Genloci identifiziert werden konnten (KRUEGER & KNAPP 1990). Bei der Waldkiefer (*Pinus sylvestris* L.) konnte nachgewiesen werden, daß zwei Loci die genetische Information für dieses Enzymsystem speichern. In Abhängigkeit von den physikochemischen Trennbedingungen jedoch nur eine Zone sichtbar wird (SZMIDT & YAZDANI 1984).

Studien an Isoenzymmustern von Koniferen ergaben bei der Tanne (Konnert 1995), der Fichte [*Picea abies*] (MUONA et al. 1987), der Schimmelfichte [*Picea glauca Moench Voss.*] (CHELIAK et al. 1988) sowie bei der Gelbkiefer [*Pinus ponderosa Laws.*] (LINHART et al. 1981) ebenfalls einen kodierenden Genlocus. Später beschreibt KONNERT (1995) zwei Loci bei der Fichte, deren Zonen sich überlappen. Für die *Douglasie* wird von gewebespezifischen Enzymmustern berichtet: NEALE und Ko-Autoren (1984) beschreiben einen Genlocus bei Nadelgewebe. Sie beobachten in Douglassiensaatgut jedoch zwei verschiedene, nur schwach ausgeprägte Aktivitätszonen, welche nicht analysiert werden können. ADAMS et al. (1990) folgern aus ihren Experimenten, ein und derselbe Locus sei sowohl in Knospen als auch in

³¹ Mr = relatives Molekulargewicht

³² Ölfrucht aus der Familie der Lythraceae

Nadeln aktiv. Allen genannten genetischen Arbeiten gemeinsam ist die Schlußfolgerung auf eine monomere Struktur dieses Enzymsystemes.

2.4. Identifikation von forstlichem Vermehrungsgut

Gesetzliche Regelungen des Handels mit forstlichem Vermehrungsgut entstanden in Folge schwerer Fehlschläge, die die Forstwirtschaft um die letzte Jahrhundertwende durch wahllose Verwendung von Saatgut hinnehmen mußte (ROHMEDE 1972). Die zuvor erfolgte private Regelung (Selbstbeschränkung) einiger Baumschulbesitzer sowie Besitzer von Klenganstalten, die sogenannte „Kontrollvereinigung“ von 1911, muß daher als bahnbrechende Pionierleistung (vgl. LÜDEMANN 1978) auf diesem Gebiet gewertet werden! Die lange Produktionsdauer bis zur Ausprägung typischer Merkmale ließ bei Waldbäumen schon früh den Wunsch entstehen, den Ursprung deklarierten Vermehrungsgutes im Nachhinein zu beweisen. So versuchte SCHMIDT (1935) einen Frühtest über Rassenzugehörigkeit an Keimlingen auf dem unterschiedlich heliotropen Verhalten von Ökotypen aufzubauen, der jedoch nur für *Pinus sylvestris* Erfolg zeigte und dies begrenzt.

Während der 60er Jahre entwickelte HOLZER³³ in Wien einen Frühtest an im Freiland (HOLZER & NATHER 1988) bzw. in Kulturkammern erzeugten Keimlingen, den Knospenbildungsindex „KBD“, der erfolgreich zur Unterscheidung von Hoch bzw. Tieflagenprovenienzen eingesetzt wurde (HOLZER 1975, HOLZER et al. 1989). Im Falle der „Nachkommenschaftsprüfung Fichte des Schwarzwaldes“, welche 1987 von der Forstl. Versuchsanstalt in Freiburg durchgeführt wurde, konnte auf Grund der KBD-Werte sowie auf Grund seltener, arealspezifischer Allozyme der Verdacht von Fremdeinflüssen für bestimmte Bestände erhoben werden (FRANKE & KONNERT 1990), welcher sich später in bestandesgeschichtlichen Untersuchungen bestätigte (WEINREICH 1988). Der Kulturkammertest sollte außerdem Entscheidungshilfen für die Verwendung von Ökotypen liefern (HOLZER & NATHER 1974). Später wurde versucht, ihn auch für Douglasienprovenienzen anzuwenden (NATHER 1985), wobei für eine Abstammungsrekonstruktion europäischer Altbestände lediglich begrenzte Aussagen zu erwarten waren. Eine Übersicht weiterer Ansätze auf der Basis morphologischer, physiologischer oder chemischer Charakteristika findet sich bei HOLZER & NATHER (1974). Monoterpenmuster³⁴ bzw. deren Markergene waren in der Vergangenheit ebenfalls Gegenstand von Abstammungsrekonstruktionen (vgl. SQUILLACE et al. 1980).

Bereits zu Beginn der Isoenzymanalysen an Waldbäumen war die Identifikation von Vermehrungsgut eines der frühen Arbeitsziele (vgl. BERGMANN 1973b, ROHMEDE 1972). Im Zuge dieser Studien wurden die theoretischen Grundlagen der Abstammungsrekonstruktion fortentwickelt (BENSIMON & HATTEMER 1983). So auch das Ausschlußprinzip (BERGMANN 1986a), welches beispielsweise bezüglich generativem Vermehrungsgut den Ausschluß einer möglichen Abstammung beim Hinzutreten eines neuen Merkmales vorsieht. Frühe Erfolge waren bei der wirtschaftlich interessanten Charakterisierung von Klongemischen zu verzeichnen (BERGMANN 1986b, vgl. a. ADAMS 1983, ADAMS et al. 1988). Andere Studien an Plantagensaatgut waren durchaus befriedigend (z.B. an Mischproben: MÜLLER-STARCK 1984), nicht zuletzt Dank des Einsatzes zusammenfassender Parameter zur simultanen Bewertung bzw. statistischen Prüfung mehrerer Genloci (z.B. MÜLLER-STARCK 1986).

³³ Zur Übersicht vgl. HOLZER et al. 1989

³⁴ Zur Wertung dieser Methode vgl. Kap. 2.2.1.

Bislang am erfolgreichsten war der Einsatz arealtypischer Merkmale, etwa die Berücksichtigung klinaler Variationsmuster (BERGMANN 1975, AMENDA et al. 1995) oder die Verwendung arealspezifischer Allele (BERGMANN 1983, KONNERT 1991a, HOSIUS et al. 1996). Auf Möglichkeiten und Grenzen einer Anwendung der Isoenzymanalysen in diesem Bereich wurde bereits früh aufmerksam gemacht (GREGORIUS et al. 1984), wobei die Bedeutung einer genaueren Kenntnis der jeweiligen genetischen Variation, auch der geographischen, als Voraussetzung der Identifikation schon damals angedeutet wird. In späteren Arbeiten wird diese Prämisse dann deutlich postuliert (HAMRICK & GODT 1989, BERG & HAMRICK 1997). Fehlt diese Kenntnis, so bleibt ersatzweise nur der Vergleich mit umliegenden, autochthonen Beständen, um zumindest die Hypothese der lokalen Ursprünglichkeit zu testen (HATTEMER & ZIEHE 1996). Stark vereinfachte Ansätze finden sich im Vergleich von Kollektiven von Individuen, für welche eine gleiche Abstammung vermutet wird (z.B. HÖPPNER DE RIZO 1992, KONNERT 1994, HERTEL & WEISER 1994).

In einer jüngeren Übersicht über diesen Problemkreis ordnet BERGMANN (1995) unterschiedliche genetische Charakteristika, welche für bestimmte systematische Einheiten potentiell Unterscheidungsmerkmale aufweisen können. Auf der Ebene der Rassen einer Art empfiehlt er die für die vorliegende Arbeit vorgesehenen arealspezifischen Allele neben anderen Besonderheiten von allelischen Strukturen (BERGMANN 1995).

2.5. Studien zur taxonomischen Untergliederung der Species *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco.

2.5.1. Klassische Studien zur intraspezifischen Differenzierung der Douglasie

Das Problem einer Erfassung der Vielfalt, welche man bei *Pseudotsuga menziesii* findet, war für die Botanik stets ein vielschichtiges. Sogar in einer der jüngern Abhandlungen hierüber konstatiert HERMANN, dieses sei nach wie vor „weit von einer endgültigen Lösung entfernt“ (HERMANN 1985, S.10). Scheinbar zu groß ist die Variation der Phänotypen, um zu einer einheitlichen botanischen Beschreibung von Gliederungstypen zu gelangen. Scheinbar zu groß ist die Variation der benachbart zu findenden Ökotypen, um sich auf wenige Formen zu beschränken. So unterschied beispielsweise FLOUS nicht weniger als 12 Arten sowie eine Varietät (FLOUS 1937). Ihre Gliederung, aufbauend auf Herbarmaterial und daher mit Schwächen belastet, konnte sich nicht durchsetzen (SCHENCK 1939, S. 478ff; HERMANN 1985, S. 9-10). Heute werden i.allg. „mindestens zwei Klimarassen“ (SCHÜTT et al. 1992) unterschieden (Tab. 2-2), wobei in Amerika eine lange Tradition besteht (vgl. FROTHINGHAM 1909, FOWELLS 1965), sich auf zwei Varietäten zu beschränken (zur Übersicht der Namensgebung vgl. HERMANN 1985).

Tab. 2-2: Varietäten von *Pseudotsuga menziesii*

wissenschaftl. Name	am. Name	dt. Name	Vorkommen
a) <u>international gültige Gliederung:</u> (HERMANN 1985, SCHÜTT et al. 1992)			
<i>P. menziesii</i> <i>var. menziesii</i>	coastal Douglas-fir	grüne Douglasie, Küstendouglasie	pazifische Küste von BC bis nach CA, fehlt in den Kammlagen von Cascaden und Sierra Nevada
<i>P. menziesii</i> <i>var. glauca</i>	interior Douglas-fir	blaue Douglasie, Inlandsdouglasie	subhumide bis kontinentale Lagen der Rocky Mountains von BC bis ins nördl. Mexico
b) <u>europäische Untergliederung der Inlandsvarietät:</u> (SCHENCK 1939, FLÖHR 1958, FITSCHEN 1987, [VIDAKOVIC 1991])			
<i>P. menziesii</i> <i>var. caesia</i> (SCHWER.) FRANCO		graue Douglasie, nördl. Inlands- douglasie	Rocky Mountains, östl des Fraser Beckens in BC und nördl. des 39. (UT) bzw. 42. (MO) Breitengrades
<i>P. menziesii</i> <i>var. glauca</i> (BEISSN.) FRANCO		(blaue Douglasie), südl. Inlands- douglasie	Rocky Mountains südl. des 39. bzw. 42. Breitengrades

Zur Unterscheidung der Varietäten wurden neben morphologischen und histologischen Merkmalen auch Eigenschaften bezüglich Wuchskraft, Klimaansprüchen und Krankheitsresistenz herangezogen

(FOWELLS 1965, MÜNCH 1923, SCHENCK 1939, SCHÜTT et al. 1992). In dem vorliegenden Kapitel bleiben die Ausführungen auf solche Merkmal beschränkt, wie sie in der systematischen Botanik als klassisch zu bezeichnen sind: Merkmale der Gestalt von Knospen, Zapfen, Benadelung oder Verzweigung als typische „Marker“ für ein bestimmtes Taxon.

In jüngeren Ausgaben botanischer Fachbücher wird die Existenz unterschiedlicher Varietäten zwar erwähnt, eine eindeutige botanische Merkmalsgliederung unterbleibt jedoch weitgehend (z.B. SCHÜTT et al. 1984, VIDA KOVIÆ 1991, HERMANN 1999). Es wurde daher ein Schema zur morphologischen Unterscheidung der Varietäten erarbeitet (Tab. 2-3), welches die wichtigsten Merkmale zusammenfaßt, die sich in der Literatur nach umfangreichen Diskussionen herauskristallisieren. Im Anhalt an SILVA TAROUCA (1913) und SCHENCK (1939) werden hier drei Varietäten unterschieden, deren Areal ebenfalls *sensu* SCHENCK (1939) zu verstehen ist (vgl. FLÖHR 1958). Wie in den nachfolgenden Kapiteln erläutert wird, finden sich Indizien für eine solche Untergliederung auch bei Studien mit biochemischen Markern. Eine Einschränkung der *var. caesia* auf das Fraser-Becken, wie sie VIDA KOVIÆ (1991) offenbar im Anhalt an SCHWERIN (1922) vornimmt, ist hiermit ausgeschlossen.

Tab. 2-3: Morphologische Merkmale zur Differenzierung von Varietäten der Douglasie

Merkmale	Varietäten		
	<i>var. menziesii</i>	<i>var. glauca</i>	<i>var. caesia</i>
Zapfen			
Größe	bis 11 cm lang	bis 5 cm lang	4 - 8 cm lang
Brakteen	anliegend	z.T. waagrecht abstehend, meist stark zurückgeschlagen	waagrecht abstehend, z.T. anliegend; nur einzelne zurückgeschlagen
Knospen			
Form	eikegelförmig bis spindelförmig	kegelförmig gedrunen bis kegelförmig spitz	
Bereifung	ohne	weißliche, Harzschicht	
Knospenschuppen	anliegend	leicht abstehend	
Farbe	hellbraun bis glänzend rotbraun	kastanienbraun	
Nadelfarbe			
Leitfarbtöne	Hellgrün bis dunkelgrün	bläulich-weiß, hellblau bis graugrün	graugrün bis dunkelgrün(-blau)
Nadelstellung			
um Endknospe am Zweig (Schatten)	offen bis pinselförmig zweizeilig bis gescheitelt	offen gescheitelt bis spiralig	Offen gescheitelt, im spitzen Winkel nach vorne stehend
Aststellung zum Stamm	waagrecht	schräg aufgerichtet	Waagrecht

berücks. Quellen: HEß 1895, v. SAINT-PAUL 1901, MAYR 1901, MAYR 1906, FROTHINGHAM 1909, SCHELLE 1909, SILVA TAROUCA 1913, SCHWERIN 1922, BEISSNER - FITSCHEN 1930, SCHENCK 1939, GÖHRE 1958, KRÜSSMANN 1972, MITCHELL 1974, FITSCHEN 1987, PETRIDES & PETRIDES 1992, SCHÜTT et al. 1992., HERMANN 1999.



Abb. 2-3: *Pseudotsuga meniesii*: Zapfentypen der Varietäten „viridis“ (links: 2 große Zapfen, Brakteen parallel zur Zapfenachse), „caesia“ (Mitte: mittelgroß, die Deckschuppen stehen überwiegend waagrecht ab) und „glauca“ (rechts: klein, die Deckschuppen sind z.T. stark zurückgeschlagen).

(viridis, glauca: coll. KLUMPP 1997, Forstl. Versuchsgarten Knödelhütte, Wien.

caesia: coll. KLUMPP 1994; Isabella Creek, Clearwater N.F., Idaho /USA)

Wie schon SCHENCK erläutert, ist die Nadelfarbe - obgleich namengebend - kein zuverlässiges Merkmal (ders. 1939, S. 486). Die in Tabelle 2-3 aufgezählten Farbtöne werden in der Literatur häufig und übereinstimmend genannt (z.B. MAYR 1906, SCHELLE 1909, BEISSNER-FITSCHEN 1930, FLÖHR 1958, SCHÜTT 1992). Sie können daher als Leitfarbtöne verstanden werden, um welche die zu findenden Farben streuen. Wie bereits SUDWORTH betont, sind die Farbvarianten besonders an einjährigen Trieben deutlich (SUDWORTH 1908, S. 101). Die Abbildung 2-4 zeigt Beispiele für eine exemplarische Ausprägung von Nadelfarben und Nadelstellung am Zweig. Abbildung 2-5 illustriert die Farbausprägung einjähriger Triebe.

Ein enge, z.T. pinselförmige Umschließung der Endknospe mit Nadeln wird nahezu ausschließlich in Küstenpopulationen beobachtet. Inlandsprovenienzen hingegen haben frei stehende, mit Harzüberzug geschützte Knospen. Bei der Nadelstellung gilt ebenfalls, daß von Leittypen ausgegangen werden muß. Aber auch die übrigen Charakteristika variieren nach der persönlichen Beobachtung von SCHENCK beträchtlich³⁵. Dennoch gibt er Aststellung, Zapfen, Knospen sowie die Stellung der Nadeln um die Endknospe als nützliches Unterscheidungskriterium an, sofern die Bandbreite der natürlichen Variation bei einer Beurteilung Berücksichtigung findet (ders. 1939, S. 487)!

Wie die Abbildung 2-3 zeigt (rechts), sind die Brakteen der blauen Douglasie überwiegend stark zugebogen, während Zapfen der grauen Varietät (Bildmitte) überwiegend waagrecht abstehende Deckschuppen aufweist. Bei Zapfen von Küstenpopulationen finden sich die Deckschuppen selbst im trockenen Zustand (beachte: offene Zapfenschuppen) nach vorne gerichtet und parallel zur Zapfenachse (Abb. 2-3; links). Nach der hier mitgeteilten, eigenen Beobachtung, kommen weibliche Blüten in roter Farbe hauptsächlich bei Individuen der Varietät „glauca“ (vgl. Abb. 2-5) vor, gelbgrüne Blüten hingegen überwiegend bei Küstenformen (Abb. 2-7). MITCHELL (1974) beschreibt allerdings rote, grüne und weißliche Blüten für die Küstenformen, KRÜSSMANN (1972) sowie OWSTEN & STEIN (1974) zählen die Farbvarianten auf ohne Zuordnung zu einer der Varietäten. Zuweilen treten bei den männlichen Blüten karmesinrote Staubbeutel (vgl. MITCHELL 1974, OWSTEN & STEIN 1974) auf, nach eigenen Beobachtungen besonders bei der Varietät „caesia“ (Abb. 2-6). Weitverbreitet ist jedoch der Farbton blaßgelb (Abb. 2-7). Die Farbtöne von männlichen und weiblichen Blüten werden unabhängig ausgeprägt (OWSTEN & STEIN 1974).

Die Knospen der grünen Varietät werden seit der Arbeit von HEB aus dem Jahre 1895 glänzend rotbraun bzw. kastanienbraun beschrieben (vgl. HEB 1895, v. SAINT-PAUL 1901, MAYR 1906 / S. 396, SCHELLE 1909, BEISSNER-FITSCHEN 1930, KRÜSSMANN 1972, SCHÜTT et. al. 1992.) Es ist auffallend, daß hiervon nur MITCHELL (1974) abweicht, der „hellbraun“ im Zusammenhang mit einem abweichenden Formtyp beschreibt (s.u.). Die Farbe der Varietät „glauca“ wird ebenfalls seit der Arbeit von MAYR (1906 / S. 405) mit dem Farbton „kastanienbraun“ angegeben unter dem Hinweis auf einen fast geschlossenen Harzüberzug (z.B. BEISSNER-FITSCHEN 1930, S. 92).

Die Knospenform wird bei der grünen Douglasie mit „kegelförmig zugespitzt“ (HEB 1895), „eiförmig zugespitzt“ (v. SAINT-PAUL 1901), „spitz zulaufend“ (SCHELLE 1909), „eikegelförmig“ (BEISSNER-FITSCHEN 1930) oder „schlank-spindelförmig wie bei einer Buche“ (MITCHELL 1974) und spindelförmig (SCHÜTT et. al. 1992) beschrieben. Bei der Varietät „glauca“ gibt MAYR (1906) einen Hinweis auf eine gedrungene Form sowie abstehende Knospenschuppen; im übrigen lauten die Angaben „kegelförmig“ (MAYR 1901) bzw. „kegelförmig spitz“ (BEISSNER-FITSCHEN 1930).

³⁵ „Ich habe die Douglasie nicht in allen, aber in vielen Sektionen ihres Verbreitungsgebietes (...) und den verschiedenen Höhenlagen (...) [gesehen]: da komme ich zur Überzeugung, daß kein einziges Charakteristikum (...) durchschlagend ist.“ SCHENCK 1939, S. 486

Es fällt auf, dass die deutschsprachige Literatur an einmal gefundenen Beschreibungen festhält, andere Autoren wie z.B. MITCHELL (1974) jedoch deutlich abweichende Beschreibungen liefern. Ferner werden zahlreiche morphologische Merkmale immer wieder für alle Varietäten beschrieben, ganz gleich welche unterschiedliche taxonomische Niveaus bemüht werden. Die Knospenform wird bei diesen Beschreibungen jedoch für die beiden Varietäten „glauca“ und „caesia“ gleichlautend und ohne weitere Differenzierung angegeben (Tab. 2-3). Nur SCHENCK, der eine Reihe von Knospengestalten, Schuppenformen und Bereifungstypen aufzählt, weicht hier wohltuend vom Einerlei der übrigen Dendrologen ab (ders. 1939 / S. 484). Die Erklärung hierfür findet sich in der Vita von SCHENCK, der lange Jahre in Nordamerika gelebt hat (STREHLKE 1953). Während die meisten der Dendrologen ihre Beobachtungen nur in Arboreten, an Herbarmaterial, in europäischen Aufforstungen und selten während Reisen in Amerika machten, konnte SCHENCK das Problem der Abgrenzung von Ökotypen vor Ort studieren. Der von MITCHELL (1974) beschriebene Knospentyp wird auch bei SCHENCK (1939) erwähnt, allerdings ohne sie einer der dort genannten Klimazonen zuzuordnen.

Die schräg aufgerichtete Aststellung gilt seit der Publikation von SCHWERIN (1922) als Merkmal ausschließlich für die blaue Varietät (Tab 2-3), obwohl frühere Beschreibungen von SCHWERIN (ders. 1907) oder FROTHINGHAM (ders. 1909) darauf aufmerksam gemacht haben.



Abb. 2-4: Benadelung von *Pseudotsuga meniesii*: Leittypen und -farben für die Varietäten „viridis“ (links), „caesia“ (Mitte) und „glauca“ (rechts).
(coll. KLUMPP 1998: Forstl. Versuchsgarten Knödelhütte, Wien und ÖBF AG Mattighofen)



Abb. 2-5: Rote, weibliche Blüten finden sich häufig bei Individuen der Varietät „glauca“.
(coll. KLUMPP 1998, Forstl. Versuchsgarten Knödelhütte, Wien)



Abb. 2-6: Zuweilen treten karmesinrote Staubbeutel auf, hier an *Var. „caesia“*.
(coll. KLUMPP 1998, ÖBF AG Mattighofen Abt. 156 / Oberösterreich)



Abb. 2-7: Weitverbreitet bei den Antheren ist der Farbton blaßgelb sowie bei ♀ Blüten die Farbe gelbgrün, hier an *Var. „viridis“*.
(coll. KLUMPP 1998, Forstl. Versuchsgarten Knödelhütte, Wien)

2.5.2. Terpene als Unterscheidungsmerkmale

Erste Hinweise, daß innerhalb der Gattung *Pseudotsuga* und darüberhinaus auch innerhalb der Art *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO unterschiedliche Terpenmuster³⁶ zu finden sind, brachte die 1965 veröffentlichte Arbeit von ZAVARIN und SNAJBERK an Rindenharzen einiger Koniferen.

Im gleichen Jahr traten HANCOCK und SWAN (1965) sowie HANOVER und FURNISS (1966) mit ihren Untersuchungen an die Öffentlichkeit. Während das erste Forscherteam mit Douglasien-Hölzern aus British Columbia arbeitete und lediglich geringe intervarietale Unterschiede in der Terpenzusammensetzung entdecken konnte, berichtete das zweite Team von geographisch signifikanten Unterschieden bei **Holzterpenen** aus Idaho und Montana.³⁷

Die Autorengruppe ZAVARIN und SNAJBERK setzte ihre Forschungen an **Rindenharzen** der Douglasie fort. 1973 veröffentlichte sie die Ergebnisse einer Untersuchung der Monoterpen-Konstitution dieses Baumes, die sie an 37 Stichproben aus beinahe dem gesamten natürlichen Verbreitungsgebiet durchgeführt hatte. Durchschnittlich 8 Individuen pro Stichprobe gelangten hierbei zur Analyse (ZAVARIN & SNAJBERK 1973). 1975 folgte dann die Bekanntgabe der Ergebnisse intensiver Studien³⁸ an kalifornischen Provenienzen und an solchen aus Oregon (ZAVARIN & SNAJBERK 1975). Gleichzeitig wurde die Methode auf weitere Terpengruppen, die Sesquiterpene und die oxidierten Monoterpene, ausgedehnt (SNAJBERK et al. 1974, SNAJBERK & ZAVARIN 1976). Heute kann rückblickend folgendes Resümee, die verschiedenen Mono- und Sesquiterpengehalte der Douglasienrinde betreffend, gezogen werden:

Insgesamt sechs verschiedene Gruppen wurden von ZAVARIN und SNAJBERK unterschieden, eine nördliche und eine südliche Inlandsdouglasie, eine nördliche Küstendouglasie, eine südliche Küstendouglasie im Gebiet der Sierra Nevada, sowie zwei Übergangsguppen (vgl. Abb. 2-8). Eine Gruppe hiervon, die Übergangsguppe zwischen den Küstengruppen, erstreckte sich über Kalifornien bis in die Kaskaden,

Legende zu den Abbildungen 2-8 und 2-9:

A	Nördl. Küstendouglasie	B	Südl. Küsten-Dgl
A1	Küstendouglasie (Nadelöle !)	C	Südl. Inlands-Dgl
A2	südl. Küsten-Dgl (Nadelöle !)	D	Nördl. Inlands-Dgl
A/B	Übergangsgebiet N/S- Küsten-Dgl	DI	Nördl. Inlands-Dgl (Nadelöle !)
A/D	Übergangsgeb. Küsten-/Inlands-Dgl	DI/A	Übergangsgeb. Küst./Inl.-Dgl: (Inlandsmerkmale überwiegen)
A/DI	Übergangsgeb. Küst./Inl.-Dgl: (Küstenmerkmale überwiegen)	---	Scheitellinie intermediärer Merkmale

³⁶ Der Ausdruck "terpene-patterns" wird von VON RUDLOFF gebraucht (ders. 1972, 1973, 1975); andere Autoren sprechen von "terpene composition".

³⁷ Zitiert nach ZAVARIN & SNAJBERK 1973, S. 413.

³⁸ Es wurden 32 Provenienzen mit durchschnittlich 10 Bäumen je Population analysiert.

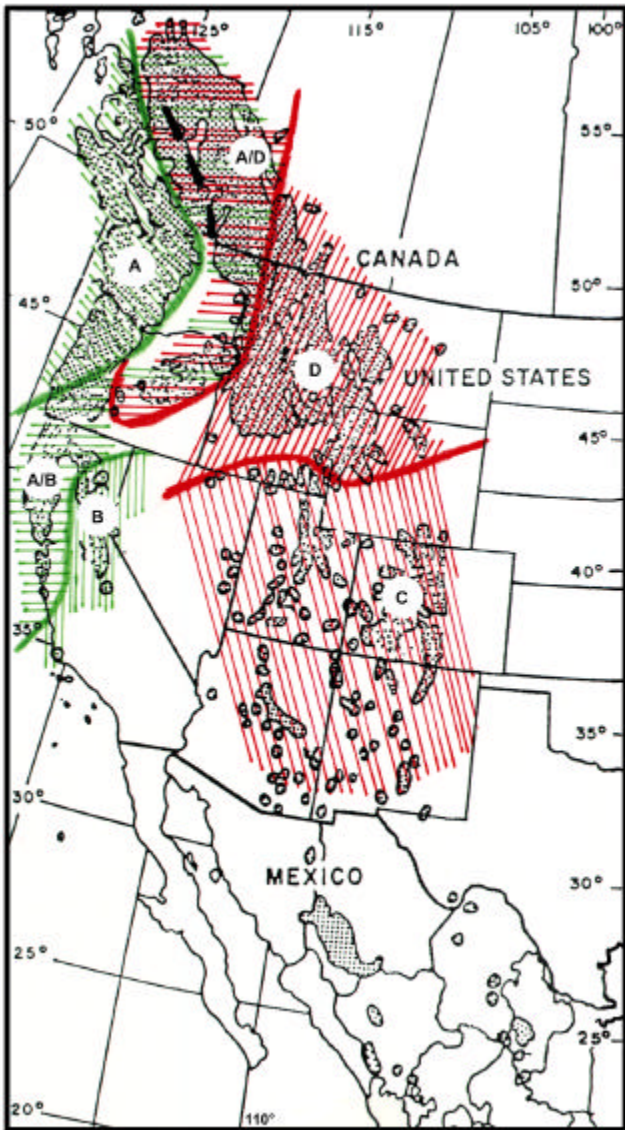


Abb. 2-8: Chemotaxonomische Untergliederung der Douglasie mittels Rindenharzterpenen
 (Im Anhalt an ZAVARIN & SNAJBERK 1973-1976)

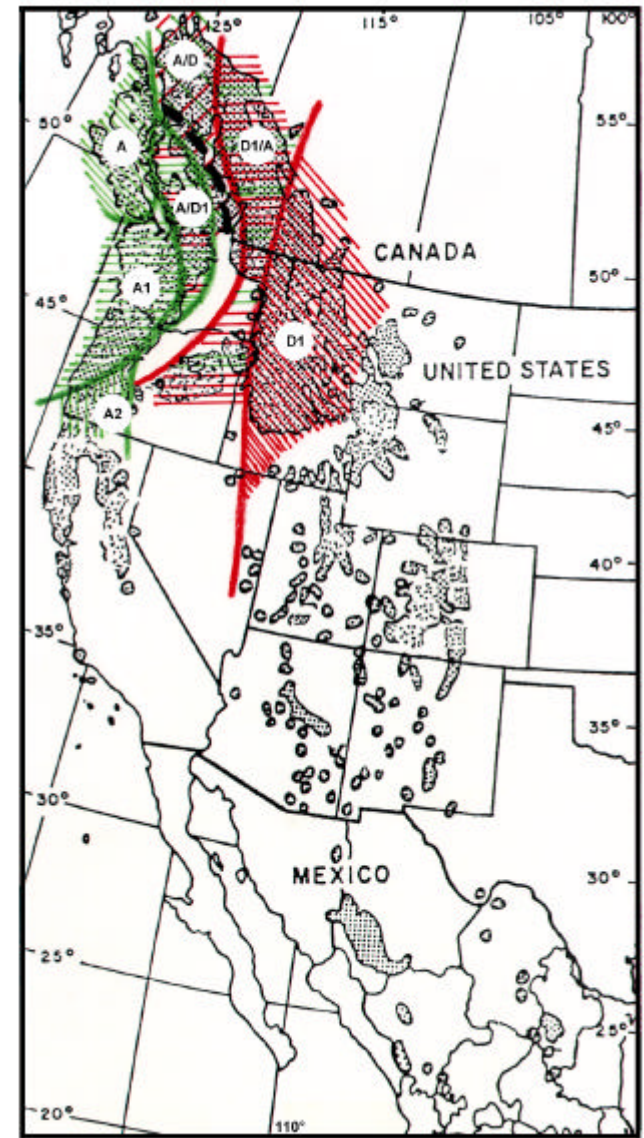


Abb. 2-9: Chemotaxonomische Untergliederung der Douglasie mit Hilfe von Nadelölterpenen
 (Im Anhalt an VON RÜDLOFF 1972-1975)

das Siskyou- und das Küstengebirge im südlichen Oregon (ZAVARIN & SNAJBERK 1975). Das südlichste Vorkommen der Küstendouglasie bei Lompoc³⁹ konnte entsprechend einer Vermutung von GRIFFIN (1964) als pleistozänes Relikt der Sierra-Nevada-Rasse eingestuft werden⁴⁰. Die zweite Übergangsgruppe, diejenige zwischen den Küsten- und der Inlandsdouglasie, wurde für das Gebiet in Zentral-British Columbia im Norden bis ins nördliche Idaho und den östlichen Teil Washingtons beschrieben. Während sich die Daten der Küstenprovenienzen einheitlich präsentierten (ZAVARIN & SNAJBERK 1973, S.419), konnte innerhalb der nördlichen *Inlandsdouglasie* ein Nord-Süd-Klin festgestellt werden, der sich auf die Gehalte an Ó-Pinen, Sabinen sowie Terpinolen zurückführen ließ (ebenda, S.424). Die Intermediarität der Übergangsgruppe zwischen dem Küsten- und dem Inlandstyp nahm von Nord nach Süd ab und war in Zentral-Oregon nur noch schwach ausgeprägt. Deutliche Unterschiede zwischen den nördlichen und den südlichen Inlandsdouglasien, entlang des Snake-River Beckens beobachtet, ließen die Autoren eine getrennte Entwicklung beider Douglasienrassen vermuten (ZAVARIN & SNAJBERK 1973, S. 424). Außerdem wurde hier ein beachtlicher Anteil der Variation zwischen den Populationen an der Gesamtvariabilität diagnostiziert.

Ein Vergleich von Rindenharzterpenmustern Kalifornischer Douglasienpopulationen mit denen dreier *Pseudotsuga macrocarpa* Bestände (ZAVARIN & SNAJBERK 1976) zeigte deutliche Unterschiede zwischen beiden Arten. Ein interspezifischer Genaustausch wurde von den Autoren daher als unwahrscheinlich eingestuft.

Mit den Terpenen eines dritten Gewebetyps, denjenigen aus **Nadelölen**, beschäftigte sich VON RUDLOFF. Er veröffentlichte 1972 Untersuchungen an Douglasien aus British Columbia, bei denen 42 Stichproben mit jeweils zwischen drei und zehn Individuen analysiert worden waren. Anfängliche methodische Schwierigkeiten führten zu Wiederholungen der Untersuchungen. Die Größe der Stichproben wurde auf zehn Individuen ausgedehnt und das Habitat der Douglasie schrittweise (1973a, 1973b) bearbeitet. Im Rahmen der Wiederholungen konnte auch die zeitliche Konstanz der Terpenmuster aufgezeigt werden. Dieser Befund entsprach der Hypothese von der genetischen Kontrolle dieser Muster (VON RUDLOFF 1973b). Als weitere Ergebnisse der Nadelölanalysen sind zum einen die größere Variabilität sowie zum anderen ein Nord-Süd-Klin bei der *Küstendouglasie* herauszustellen (VON RUDLOFF 1973a). Im Übergangsgebiet zwischen der Küsten- und der Inlandsdouglasie wurden drei verschiedene Terpenmuster (*A/DI*, *A/D* und *DI/A*: Abb. 2-9) unterschieden (VON RUDLOFF 1973b). Wie die Abbildung 2-9 zeigt, hat die geographische Ausdehnung dieses Übergangsgebietes große Ähnlichkeit mit jenem, welches mit Hilfe der Rindenharzterpene (Abb. 2-8: *D/A*) ermittelt wurde. Allerdings wurden von diesem Autor keine Proben aus dem Verbreitungsgebiet südlich des 42. Breitengrades (n.B.) untersucht. In einer abschließenden Studie wurden neben Bäumen von 87 Standorten im Nordwesten des Verbreitungsgebietes auch Individuen aus frei abgeblühten Halbgeschwisterfamilien, aus Kreuzungen zwischen den einzelnen Varietäten sowie aus einem Provenienzversuch analysiert (VON RUDLOFF & REHFELDT 1980). Dadurch waren Rückschlüsse auf den Vererbungsmodus möglich. Während beispielsweise eine genetische Kontrolle durch ein einzelnes dominantes Gen für die Camphen-Produktion in Inlandsprovenienzen postuliert wurde, wurde für andere Terpene auf einen „quantitativen“ Vererbungsmodus geschlossen (Terpinene, β-Pinen). Die Analyse von Terpenen der Camphen-Gruppe ergab einen abrupten Übergang von hoher Konzentration in Inlandsprovenienzen zu nahezu camphenfreien Terpenzusammensetzungen in Küstenpopulationen. Die Gruppen der Terpinene und die

³⁹ Isoliertes Vorkommen; Lage: 34° 44' n.Br./ 120° 25' ö.L.

⁴⁰ HERMANN ordnete es irrtümlich dem Übergangsgebiet zwischen den Küstenvarietäten zu (HERMANN 1981, Abb. 7).

der β -Pinene zeigten hingegen breite Übergangszonen des Konzentrationsgefälles zwischen den Varietäten (VON RUDLOFF & REHFELDT 1980).

In anderen, groben Merkmalen stimmen beide chemotaxonomische Untergliederungen recht gut überein. Die ungefähre Scheitellinie⁴¹ der intermediären Terpenmuster in British Columbia verläuft in etwa identisch bei beiden Methoden (vgl. VON RUDLOFF 1975). Aber schon die Douglasienprovenienzen aus dem östlichen Oregon werden in einem Falle (Rindenharze) als Übergangsgruppe zwischen nördlicher Küsten- und Inlandsdouglasie ausgewiesen, im anderen Falle gehören sie zu einer von drei Teilgruppen innerhalb der Zwischentypen, die sehr starke Merkmalszüge der Inlandsdouglasien tragen. Wie bereits HERMANN (1981, S.209) betont hat, sind die schwerwiegendsten Unterschiede zwischen den genannten Methoden in der eindeutigen Untergliederung in nördliche bzw. südliche Inlandsdouglasien sowie in dem Herausarbeiten der Eigenständigkeit der Sierra-Nevada-Form mittels der Rindenharzanalyse zu sehen. Sie stellen jedoch, sowohl vom biochemischen als auch vom genetischen Hintergrund aus betrachtet, eigenständige Methoden dar und können deshalb *nicht*, wie von einzelnen Autoren bereits durchgeführt (z.B. KOHL & NATHER 1994), *in einer* Abbildung zusammengefaßt werden⁴².

2.5.3. Populationsgenetische Untersuchungen auf der Basis von Isoenzymanalysen

Isoenzyme wurden schon früh zu Studien raumbezogener genetischer Variation der Douglasie herangezogen. MUHS (1974) untersuchte Peroxidase-Elektromorphe von 14 verschiedenen Provenienzen aus dem Bereich der Küsten-Douglasie. Die berücksichtigten Isoenzym-Phänotypen ließen den Schluß zu, daß die Varianzen zwischen den Provenienzen größer sind als innerhalb derselben. Mittels der Disc-Gelelektrophorese analysierten YANG und Kollegen (1977) Einzelbaumbeerntungen sowie eine Bestandesbeerntung, welche 9 verschiedene Provenienzen der *Küsten-Douglasie* repräsentierten. Erstmals lagen den Berechnungen Allelhäufigkeiten von vier Markergenen-Loci zu Grunde. Ein schwacher klinaler Anstieg des Heterozygotiegrades bei LAP-C⁴³ mit abnehmendem (nördlichen) Breitengrad sowie eine leichte höhenabhängige Variation des Heterozygotiegrades bei EST-C und GOT-B wurden gefunden. Die eingesetzten genetischen Differenzierungsmaße, genetische Identität und genetischer Abstand (NEI 1972), legten statistisch signifikante Differenzen zwischen den Populationen offen, wobei der genetische Abstand mit abnehmendem Breitengrad zunahm. Zwischen vier kalifornischen Provenienzen ergaben sich überraschend hohe Abstandswerte.

Im Jahre 1980 beginnt mit der Veröffentlichung von YEH & O'MALLEY die Reihe der Forschungen auf der Basis von Horizontal-Gelelektrophorese und Genmarkern, die vergleichbare Daten zu heutigen Untersuchungen liefern. Insgesamt lassen sich vier Gruppen von Arbeiten unterscheiden (Tab. 2-4): Neben arealweiten Studien (**Gruppe I**) wurden Untersuchungen in Teilbereichen von Bundesstaaten vorgenommen (kleinräumige Studien; **Gruppe II**). Außerdem finden sich Bestandesanalysen (**Gruppe III**) und erste Studien an europäischen Beständen (**Gruppe IV**).

* * *

⁴¹ Die Scheitellinie markiert den Bereich, ab welchem vorherrschende Merkmale einer Varietät in ihrer Bedeutung von den Merkmalen (Terpenkomponenten) der jeweils anderen Varietät abgelöst werden.

⁴² **Grund:** Es werden zwei **verschiedene** Organe auf ein jeweils **unterschiedliches Set** an Terpenen untersucht!

⁴³ Die Bezeichnung folgt einer alten Nomenklaturregel, heutige Bezeichnung: LAP-A bzw. LAP-1 (vgl. Kap. 3.2.3.)

Die Ergebnisse innerhalb der **Gruppe der arealweiten Studien** sind durch die Wahl überwiegend gleicher Enzymsysteme sowie durch die nahezu gleiche Anzahl ausgewerteter Genloci, von welchen jedoch nur acht Loci identisch sind, relativ gut vergleichbar. Überwiegend Makrogametophytengewebe wird analysiert. Ausnahmen sind die Parallel-Untersuchungen von Makrogametophyt und Embryo bei 17 Provenienzen zur Analyse des Pollen-Pools in der Studie von LI & ADAMS (1989) und die Heranziehung von Nadelgewebe bei den Analysen von SCHNABEL et al. (1993). Die Stichproben berücksichtigen durchschnittlich je 50 Mutterbäume für die Studie von LI & ADAMS (1989)⁴⁴ bzw. je 72 Individuen (SCHNABEL et al. 1993) oder 100 Mutterbäume (YEH & O'MALLEY 1980) pro Bestand, wobei Einzelstamm- oder Bestandesbeerntungen durchgeführt werden. (Tab. 2.1.)

Die Untersuchungen der Nördlichen Küstendouglasie in *British Columbia* durch YEH & O'MALLEY (1980) ergab eine durchschnittliche Anzahl polymorpher Loci von 68,83 %, die durchschnittliche Anzahl der Allele je Locus lag bei 2,19. Die genische Diversität, über alle 21 Loci berechnet, war 0,1587; die Diversität innerhalb der Populationen hatte daran den größten Anteil mit 97 %. Der durchschnittliche genetische Abstand (nach NEI 1972) über alle Kombinationen betrug 0,0037. Klinale Variationen der Allel- und Heterozygotiegrades wurden an 8 Gen-Loci beobachtet, unter anderem an 6PGDH-1.

Die erste Studie an Isozym-Genmarkern, welche das gesamte natürliche Verbreitungsareal von *Pseudotsuga menziesii* berücksichtigte, wurde im Jahre 1989 von LI und ADAMS der Öffentlichkeit vorgestellt. Durchschnittlich 37% der untersuchten Genloci waren polymorph. Die durchschnittliche, erwartete Heterozygotie lag bei 0,137 (Streubreite 0,021-0,239). Die genische Gesamt-Diversität war 0,182, wovon immerhin 24% auf Unterschiede zwischen den Teil-Populationen zurückgeführt werden konnten. Eine Clusteranalyse, basierend auf genetischen Distanzwerten (Verfahren nach NEI 1978) erlaubte die Unterscheidung von drei Teilarealen: dem der Küstendouglasie, dem der Nördlichen und dem Südlichen Inlandsdouglasie.

Nach den Ergebnissen von LI und ADAMS (ibid. 1989) verläuft die Trennlinie zwischen den Inlandsdouglasien entlang dem 44. Breitengrad (n.B.). Außerdem wurden Provenienzen aus Zentral-Oregon zusammen mit den Vertretern der nördlichen Inlandsdouglasie ein und derselben Gruppe zugeordnet. Die durchschnittlichen genetischen Distanzwerte waren zwischen der Küsten-Varietät und der Gruppe der Südlichen Inlandsdouglasie am größten (Wert: 0,099), die durchschnittlichen genetischen Distanzen zwischen der Küstendouglasie und der Nördlichen Inlandsdouglasie betrug 0,073. Die beiden Gruppen der Inlandsdouglasie wiesen untereinander einen durchschnittlichen genetischen Abstand von 0,034 auf. Innerhalb der einzelnen Gruppierungen wies die südliche Inlandsdouglasie die höchsten genetischen Distanzen (0,021) zwischen den Teilpopulationen auf, gefolgt von der Küstendouglasie (0,015) und der nördlichen Inlandsdouglasie, welche sich mit einer durchschnittlichen genetischen Distanz von 0,008 als die homogenste Varietät präsentierte. Diese Befunde spiegelten sich auch bei der Analyse der durchschnittlichen genetischen Diversität (nach NEI 1973) wider. Auch hier hatte die Gruppe der Nördl. Inlandsdouglasie mit 4,3% den kleinsten Anteilswert der Unterschiede zwischen den Teilpopulationen an der durchschnittlichen Gesamtdiversität von 0,1573. Innerhalb der südlichen Inlandsdouglasie waren dagegen 12,2% der durchschnittlichen Gesamt-Diversität von 0,0872 den Unterschieden zwischen den einzelnen Demen zuzuordnen. Innerhalb der Küstenpopulation betrug der entsprechende Anteil an der durchschnittlichen genetischen Gesamt-Diversität von 0,1771 immerhin 7,1%. Korrelationsanalysen zwischen geographischen und genetischen Distanzen zeigten nur schwache Zu-

⁴⁴ vgl. auch Kap. 3.1.3.!

sammenhänge in der Gruppe der Küsten-Douglasie, aber deutliche Korrelationen innerhalb der Südlichen Inlandsdouglasie ($r=0,7$). Neben diesem geographischen Klin konnte festgestellt werden, daß die genetische Diversität zum Rande des Verbreitungsgebietes der Douglasie abnimmt. Die Autoren LI und ADAMS (ibid. 1989) führten die Untersuchungsergebnisse auf die Entwicklungsgeschichte der Douglasie zurück.

Ausgangsbasis der Untersuchungen von SCHNABEL und Kollegen (1993) an der *Inlands-Douglasie* war die Hypothese, daß auf Grund der Wiederbesiedelungsgeschichte des Randareals im östlichen Great Basin nach der Wisconsin-Eiszeit die heute dort vorkommende Douglasien-Bestände untereinander in ihrer genetischen Struktur stärker differieren müßten, als die größeren Douglasien-Vorkommen in den östlich anschließenden Rocky Mountains. Außerdem wurden die typischen Flaschenhalseffekte von Gründerpopulationen erwartet. Es wurde weiter erwartet, daß die genetischen Distanzwerte zu den vermuteten Ausgangspopulationen relativ klein sein würden.

Die genetische Diversität über alle 15 Populationen berechnete sich hier zu 0,128. In den Demen der Rocky Mountains lag der entsprechende Wert bei 0,1411, in den isolierten Populationen des Great Basin lag er nicht signifikant niedriger bei 0,1129. Der Anteil der Differenzierung zwischen den Populationen betrug für beide Gruppen 5 %. Durchschnittlich 50 % aller Loci waren polymorph in allen untersuchten Demen. Die Werte für die einzelnen Gruppen waren auch hier leicht höher für das Gebiet der Rocky Mountains (51,7 %) bzw. niedriger für die Populationen aus dem Great Basin (47,4 %). Die Zahl der Allele pro polymorphen Locus betrug in den Demen der Rocky Mountains 2,3 und in den Populationen des Great Basin 2,4; insgesamt lag sie bei 2,32. Allerdings wurden in den Inselformen des Great Basin deutlich mehr monomorphe Genloci bzw. eine geringere Zahl seltener Allele registriert. Keinerlei Zusammenhänge zwischen geographischen und genetischen Distanzen innerhalb der Populationsgruppierungen und nur ein äußerst schwacher Zusammenhang bei paarweiser Berechnung über alle Deme war zu verzeichnen.

Der Widerspruch zwischen den genetischen Hypothesen, entwickelt auf Grund der paläontologischen Befunde der Wiederbesiedelung des Gebietes durch die Douglasie, und den Untersuchungsergebnissen wurde von den Autoren mit einem zoochoren Genfluß⁴⁵ erklärt, welcher mit einem Index nach SLATKIN & BARTON (1989) auch an den Genmarkern nachgewiesen werden konnte (SCHNABEL et al. 1993). Die im Vergleich zu LI & ADAMS (1989) höheren Werte von SCHNABEL und Kollegen bezüglich der genetischen Diversität sowie der Allozym-Diversität wurden von den genannten Autoren auf ihre größeren Stichproben⁴⁶ zurückgeführt (ibid. 1993, Seite 1904).

* * *

Die **Gruppe der kleinräumigen Studien** enthält Arbeiten, welche nur Teilbereiche von Bundesstaaten, aber gleichzeitig zwei (Nr. 041 und 262; SHAW & ALLARD 1982) oder mehrere (MERKLE & ADAMS 1987, MORAN & ADAMS 1989) "seed zones" berücksichtigen. Abgesehen von zwei Ausnahmen in der Studie von SHAW & ALLARD (1982) gelangen jeweils zwischen 23 und 63 bzw. 72 Mutterbäume je Population bzw. Teilpopulation zur Analyse. Zumeist Makrogametophytengewebe, teilweise aber auch Embryonen (nur: SHAW & ALLARD 1982a,b) bzw. Knospen und Nadelgewebe (nur: MORAN & ADAMS 1989)

⁴⁵ Hähersaat durch Pinyon Jays (*Gymnorhinus cyanocephalus* Wied.)

⁴⁶ Vgl. Diskussion am Ende dieses Kapitels und Abschnitt 5 der vorliegenden Arbeit!

werden untersucht. Die genetischen Auswertungen beziehen sich auf 11 bzw. 27 Genloci, von denen sieben in allen Arbeiten dieser Gruppe vertreten sind (Tab. 2-4).

Untersuchungen der Qualität einer Samenplantage im Vergleich zu zwei natürlichen Vorkommen der *Küstendouglasie* publizierten SHAW & ALLARD (1982a, b). Obwohl beispielsweise die Werte der erwarteten Heterozygotie in der Plantage höher sind als in den Vergleichsgebieten und sich dieser Trend auch in der analysierten Nachkommenschaft aus dem Jahre 1978 bestätigt (Tab. 2-4), so lassen sich dennoch geringere Polymorphiegrade sowie eine geringere Anzahl von Allelen an der Nachkommenschaft aus der Plantage nachweisen. Wie die allelischen Strukturen der Nachkommenschaften⁴⁷ zeigen (SHAW & ALLARD 1982b, S. 119), sind jedoch nur sehr seltene Allele ($f \leq 0,01$) im Plantagensaatgut von 1978 nicht vertreten. Seltene Allele ($0,01 < f \leq 0,08$) finden sich dort z.T. mit größeren relativen Häufigkeiten wieder.

Im Jahre 1987 veröffentlichten MERKLE & ADAMS Untersuchungen an Material aus 22 "breeding zones"⁴⁸. Die "breeding zones" repräsentierten dabei Höhenzonen innerhalb von 7 "breeding units" aus der *Südwestecke von Oregon*. Sie bildeten gleichzeitig West-Ost bzw. Nord-Süd-Transekte innerhalb des berücksichtigten Gebietes.

Die Befunde offenbarten einen Anteil polymorpher Loci von durchschnittlich 71,7% (Streubreite von 13,0 bis 92,6%) sowie eine durchschnittliche Anzahl von 2,46 Allelen pro Locus (Streubreite von 2,22 bis 2,85). Die erwartete Heterozygotie⁴⁹ erreichte einen Durchschnittswert von 0,178 (Streubreite von 0,155 bis 0,197). Eine gemeinsame Auswertung aller Einzeldaten ergab hohe Werte für die jeweiligen Parameter. Der Prozentsatz polymorpher Loci lag nun bei 77,8, die durchschnittliche Anzahl der Allele pro Locus war 3,81 und die erwartete Heterozygotie errechnete sich zu 0,179. Die Variation zwischen den einzelnen Flächeneinheiten war hingegen äußerst klein. Einer durchschnittlichen genischen Diversität (H_T) von 0,1779 stand eine durchschnittliche genische Diversität innerhalb der "breeding zones" von 0,1766 gegenüber. Damit waren 99% der genischen Diversität auf Variationen innerhalb der Zonen zurückzuführen. Berechnungen lieferten einen Durchschnittswert von $D_U = 0,0004$ für die genische Diversität zwischen den "breeding units" bzw. einen Durchschnittswert für die genische Diversität unter den Zonen einer "breeding unit" von $D_{E/U} = 0,0009$. Die nähere Betrachtung einzelner Loci zeigte, daß die jeweils gleichen Allele in jeder Zone das häufigste Allel stellten, mit Ausnahme der Loci G-6PD und LAP-1. Dort wurden in drei bzw. einer Zone Abweichungen von dieser Regel festgestellt. Insgesamt schwankte die Häufigkeit der häufigsten Allele jedoch nicht mehr als um 23,8 Prozentpunkte in den untersuchten 22 Zonen. Clusteranalysen der genetischen Distanzwerte⁵⁰ zeigten keine Verbindungen zu geographischen oder klimatischen Daten auf.

Die Autoren MERKLE und ADAMS (ibid. 1987) folgerten aus den Ergebnissen ein Fehlen von geographischen oder Umwelt-Mustern in der genetischen Variation sowie die Unmöglichkeit, eine adaptive Variation zur genetischen Charakterisierung von Douglasienmaterial aus den jeweiligen "breeding zones"

⁴⁷ Ergebnisse basieren auf intensiven Stichproben (vgl. Tab. 2-4): Plantage: 724, Bereich Longview: 1020 und Bereich Springfield: 1093 Samen!

⁴⁸ Die Abgrenzung erfolgte nach geographischen und klimatischen Gesichtspunkten und in der Absicht kleine Einheiten (nicht größer als 60705 ha) bzw. Einheiten mit kleinen Höhenunterschieden (unter 305m) zu schaffen. (SILEN & WHEAT 1979, zit.n. MERKLE & ADAMS 1987)

⁴⁹ Berechnet nach NEI 1978

⁵⁰ Berechnet nach NEI 1978

heranzuziehen. Weiterhin schien weder genetische Drift noch Selektion einen nachweisbaren Einfluß auf die allelischen Strukturen der einzelne Deme zu haben.

Ein Jahr später publizierten MERKLE, ADAMS und CAMPBELL (1988) die Ergebnisse von *multivariaten Analysen* des gleichen Datensatzes. Dazu wurden zunächst "durchschnittliche haploide Genotypen" abgeleitet. Eine kanonische Diskriminanzanalyse deutete Unterschiede einzelner "breeding zones" bezüglich genotypischer Variation an. Der Versuch, eine Korrelation der kanonischen Variablen zur geographischen Breite, zur Höhenlage oder zum Abstand von der Pazifik-Küste nachzuweisen, mißlang jedoch.

Genetische Strukturen von 6 Bestandes-Paaren in unterschiedlichen Hangexpositionen bzw. aus unterschiedlichen Höhenlagen (Vegetationsgesellschaften!) untersuchten MORAN & ADAMS (1989). Die Untersuchungsbestände lagen in einem Teilbereich des oben erwähnten Areal der Douglasie in *Südwest-Oregon*, nämlich in den "breeding units" "Jacksonville" und "Butte falls". Eine erwartete Heterozygotie von durchschnittlich 0.164 (Streubreite von 0.128-0.189) wurde ermittelt. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Beständen. Allenfalls sehr schwache bzw. nicht widerspruchslöse Zusammenhänge zwischen Allelhäufigkeiten und Hangexposition bzw. Höhenlage konnten beobachtet werden. Lediglich 1,8% der genetischen Gesamt-Diversität konnte den Unterschieden zwischen den Beständen zugeordnet werden und nur 13% hiervon wurde auf Unterschiede zwischen den einzelnen Standorten zurückgeführt. Eine Erklärung für die krassen Gegensätze dieser Ergebnisse zu Frühtests aus Provenienzversuchen an Sämlingen⁵¹, wie sie beispielsweise REHFELDT durchgeführt hat (zur Übersicht vgl. REHFELDT 1989!), wurde von MORAN und ADAMS (ibid. 1989) in altersabhängig aktiven Genen gesucht.

Ebenfalls der Gruppe kleinräumiger Studien sind die Arbeiten von LEINEMANN zuzuordnen, welcher auf der Basis von Studien an 16 Versuchsgliedern des Douglasien-Provenienzversuches von 1974 (vgl. JAESTEDT 1980) sowie Vergleiche mit nordamerikanischen Studien genetische Profile des Genlocus 6-PGDH-A bzw. ACO-B für die Inlands- und Küstendouglasien nördlich des 48 Breitengrades ableitete (LEINEMANN 1996, 1997). In der Folge wurden diese genetischen Profile mit denen von Beständen aus dem Bundesland Rheinland-Pfalz verglichen, um Hinweise auf möglicherweise genetisch bedingte Predispositionen für Krankheitsbilder unbekanntes Ursprunges zu erhalten (LEINEMANN 1996, ders. 1998, LEINEMANN & MAURER 1999).

* * *

Die **Gruppe III** der Tabelle 2-4 enthält Arbeiten, welche unterschiedliche Phasen in der Entwicklung eines Bestandes bzw. unmittelbar benachbarter **Bestände** untersuchen. Die methodischen Voraussetzungen sind unterschiedlich. Zwischen 160 und 515 Individuen je Population werden untersucht. Zwischen 4 und 27 Genloci werden ausgewertet, wobei nur die Arbeiten von EL-KASSABY & SZIKLAI (1982) sowie von NEALE (1985) sieben identische Loci aufweisen.

DAVIS (1981) untersuchte die Auswirkung einer räumlich und zeitlich heterogenen Umwelt auf die genetischen Strukturen von Baumpopulationen am Beispiel der *Inlands-Douglasie*. An zwei nordwest-

⁵¹ Quantitative Merkmale: Höhenwuchs

exponierten Hängen in einer Höhenlage von 2.600 m ü. N. N. wurden jeweils ein Bestand in einem späten sowie ein angrenzender Bestand in einem frühen Sukzessionsstadium untersucht⁵².

Aus den Angaben von DAVIS (1981, S. 34,35) lassen sich ein Polymorphiegrad von $P_{95}=62,5\%$ bzw. eine durchschnittliche Anzahl von 3,13 Allelen pro Locus errechnen. Die beobachtete Heterozygotie kann lokal mit 0,199 die erwartete mit 0,219 angegeben werden (Tab. B2.1.). Unterschiede zwischen den Sukzessionsstadien eines Standortes fand DAVIS (1981) in signifikanter Weise nur bezüglich der häufigsten Allele des Genlocus SKDH. Abweichungen von der Hardy-Weinberg-Struktur wurden ebenfalls nur am gleichen Locus beobachtet, diese fanden sich jedoch in allen Sukzessionsstadien. Zwischen den Altersklassen der Bestände waren keine Unterschiede an den allelischen Strukturen festzustellen, lediglich bei SKDH konnte als Trend eine Abnahme der Häufigkeit am dominierenden Allel mit zunehmendem Alter in frühen Sukzessionsstadien sowie ein gegenläufiger Trend in den allelischen Strukturen der "späten" Stadien beobachtet werden. Die genotypischen Strukturen zeigten jedoch signifikante Abweichungen von Hardy-Weinberg-Strukturen in der Altersklasse über 29 Jahre (DAVIS 1981, S. 39). Ein Vergleich zwischen den jeweils entsprechenden Altersklassen der verschiedenen Sukzessionsstadien offenbarte signifikante Unterschiede lediglich am Genlocus SKDH in der ältesten Altersklasse (DAVIS 1981, S. 42). Aus diesem Ergebnis folgerte DAVIS (1981, S. 43 und 49), daß die genetischen Strukturen des Saatgut-Pools benachbarter Dgl-Bestände kaum Unterschiede aufweisen und daß Differenzierungen zwischen den Demen erst durch Selektion in den verschiedenen Lebensabschnitten eines Bestandes ausgeformt werden.

Die Untersuchungen bezüglich einer Abhängigkeit der genetischen Variation von kleinstandörtlichen Parametern im allgemeinen ergab, daß Unterschiede in der allelischen Struktur zwischen gleichen Sukzessionsstadien verschiedener Untersuchungsstandorte bei allen vier Marker-Genloci auf signifikantem Niveau festgestellt wurden. Am Standort "Lefthand Canyon" wurden überdies okular abgrenzbare Baum-Gruppen analysiert. Signifikante Unterschiede der allelischen Struktur fanden sich an den Loci GlyDH und SKDH. Sie waren allerdings auf das frühe Sukzessionsstadium begrenzt. Ein solches Ergebnis schien dem Befund eines ungehinderten Genflusses aus den Analysen der zeitlichen Variation zu widersprechen und wurde als zufällige Variation, bedingt durch geringe Individuenzahlen der Einzelgruppen, erklärt (DAVIS 1981, S. 68 ff.).

EL-KASSABY und SZIKLAI, eine kanadische Arbeitsgruppe, gingen der Frage nach, ob sich mittels Isozym-Genmarkern vermutete Änderungen genetischer Strukturen entlang eines Höhentransekts im direkten Vergleich mit quantitativen Merkmalen nachweisen lassen (EL-KASSABY und SZIKLAI 1982). Zu diesem Zweck wurden vier Höhenstufen bei den Probennahmen unterschieden⁵³. 9 der untersuchten 27 Loci waren monomorph, darunter befand sich AAT-1. Die durchschnittliche Anzahl von Allelen pro Locus betrug 1,79; durchschnittlich 54 % aller Loci waren polymorph. Der Durchschnittswert für erwartete Heterozygotie lag bei 0,171 (vgl. Tab. 2-4).

⁵² Das "frühe" Sukzessionsstadium war als eine Fläche definiert, welche etwa 80 Jahre zuvor gebrannt hatte. Unter dem "späteren" Sukzessionsstadium wurde eine Fläche verstanden, welche ohne sichtbare Brandeinwirkung war. Die Flächengröße reichte von 0,3 - 1,2 ha; in einer Vollerhebung wurden insgesamt 1.519 Douglasien untersucht. Die Lage der Bäume, das Alter jeder Pflanze wurden neben anderen Daten erhoben. Drei Altersklassen wurden zur Datenauswertung unterschieden: 0 - 10 Jahre, 11 - 29 Jahre sowie 30 Jahre und älter (DAVIS 1981, S.38). Die einzelnen Bestände unterschieden sich nach der Individuendichte (Standort "Bald Mountain" mit höherer Pflanzendichte!), die "späten" Sukzessionsstadien wiesen zusätzlich unterschiedliche Bestandesstrukturen auf: Standort "Lefthand Canyon" ähnlich einem verjüngungsarmen Plenterwald; Standort "Bald Mountain" ähnlich einem späten Femelstadium (nur etwa 15 % der Bäume im Alter über 19 Jahre!).

⁵³ Höhenstufen: [A: 366 - 381 m]; [B:381 - 396 m]; [C: 696 - 412 m]; [D: > 412 m].

Ähnlichkeiten zwischen den verschiedenen Klassen von Höhenstufen konnten sowohl hinsichtlich der allelischen Strukturen als auch hinsichtlich der genetischen Variation an den meisten Loci beobachtet werden; an einigen Loci zeichneten sich Unterschiede zwischen Klassen von Höhenstufen ab. Durchschnittlich 7 % der genetischen Variation, konnte den Differenzierungen zwischen den Höhenstufen zugeordnet werden. EL-KASSABY und SZIKLAI (1982) interpretierten diesen Befund als Überlagerung des Genflusses (Pollenflug!) durch starke Selektionskräfte. Am stärksten war dieser Effekt bei den Genloci MDH-3, G-6-PDH und bei ACO zu beobachten. Die genetische Gesamt-Diversität über alle Loci betrug 0,19. Eine parallel durchgeführte Varianz-Analyse der quantitativen Daten aus Frühtests an Halb-Geschwister-Familien der gleichen Mutterbäume führte zu ähnlicher Variation innerhalb der Klassen von Höhenstufen von 94 bis 100 % (EL-KASSABY & SZIKLAI 1982, S.124).

Die Auswirkungen der amerikanischen *Schirmschlagverjüngung* auf die *genetischen Strukturen von Beständen* untersuchte NEALE (1985). Er analysierte dabei 2 Bestandespaare aus Südwest-Oregon, welche jeweils aus einem Schirmschlag⁵⁴ mit flächiger Naturverjüngung⁵⁵ sowie einem angrenzenden Altbestand ohne Verjüngung bestanden. Zur Untersuchung gelangte Saatgut sowie Knospengewebe⁵⁶ von Altbestand, vom Schirmbestand, von 3 - 5-jährigen Jungpflanzen sowie von Saatgut des Erntejahres 1980. Sowohl noch allelischen Strukturen als auch nach den Parametern der genetischen Diversität, wie Allele pro Locus, Polymorphiegrad und erwartete Heterozygotie, ließen sich unter den vier verschiedenen "Lebensabschnitten" eines Bestandes keine signifikanten Unterschiede feststellen. Die Zahl der Allele pro Locus schwankte zwischen 2,4 und 2,9, der beobachtete Heterozygotiegrad lag zwischen 0,18 und 0,223 je nach Altersstufe. Lediglich am Genlocus LAP-2 waren signifikante Unterschiede in der allelischen Struktur zum Überhalt-Bestand festzustellen, nicht jedoch im Vergleich zum benachbarten Altbestand. Die Berechnung des Fixierungs-Indexes ergab ebenfalls keine signifikanten Abweichungen vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht. NEALE (1985, S.1003) sah die Gründe für die beobachtete Elastizität der genetischen Strukturen in dem hohen Heterozygotiegrad innerhalb des Bestandes, in der beträchtlichen Populationsgröße sowie in der hohen Fremdbefruchtungsrate.

* * *

Die **Gruppe der Analyse europäischer Bestände** fällt durch unterschiedliche Forschungsansätze auf (Tab. 2-4). Neben direkten Vergleichen zwischen europäischen und amerikanischen Beständen finden sich Analysen einzelner europäischer Bestände sowie Analysen von kleinen Populationen in Provenienzversuchen. Zwischen 6 (STAUFFER & ADAMS 1993) und 120 (HÖPPNER DE RIZO 1991) Einzel- bzw. Mutterbäume werden je Population berücksichtigt. Zur Analyse gelangen zwischen 5 (HOFFMANN 1994) und 22 Genloci (MEJNARTOWICZ & LEWANDOWSKI 1994) aus Makrogametophyten- oder Knospengewebe, selten aus Embryonen. Wenige Enzym-Genloci sind in den verschiedenen Arbeiten gleichzeitig vertreten: vier identische Genloci weisen nur die Studien von STAUFFER & ADAMS 1993, HÖPPNER DE RIZO 1991 und MEJNARTOWICZ & LEWANDOWSKI 1994 auf. Die Arbeit von PRAT & ARNAL 1994 basiert auf einer abweichenden Methode der Ultradünnschicht-Gelelektrophorese

⁵⁴ Nach europäischen Gesichtspunkten handelt es sich um ein Überhaltbetrieb, da vom Altbestand 15 bis 35 Bäume pro ha den Schirm bilden.

⁵⁵ Über 1000 Sämlinge pro ha.

⁵⁶ Stichprobengröße: aus beiden Versuchspaaren "Benshell" (B) und "Cutmore" (C) wurden vom Altbestand 50 (B) bzw. 59 (C) Proben genommen, von den Überhältern waren es 49 (B) bzw. 48 (C), von den Jungpflanzen waren es je 60 und beim Saatgut wurden 69 (B) bzw. 64 (C) Korn untersucht.

Tab. 2-4: Die genetische Variation der Douglasie - eine Übersicht

Land/ Bundesstaat	Popula- tionen [Zahl]	Stichprobe [Art] ^x	Gewebe	Gen- loci [Zahl]	P ₉₅ [%]	P ₉₉ [%]	A/L	H _e	H _o	H _t	H _s	G _{st} [% von H _t]	Anmerkung	Autoren
I. Arealweite Studien														
BC	11	b (100)	M	21	51,5	68,8	2,19	-	0,1546	0,1587	0,1546	3	Küstenprovenienzen	YEH & O'MALLEY 1980
AL,BC,WA, OR,ID,MO,. WY,CA,UT,. CO,NM,AZ, Mex.	104	a (15-20) b (50)	M, z.T.: Er	20	37,3		1,8	0,137	-	0,182	-	24		LI & ADAMS 1989
Küste, Inland, Nord Inland, Süd	43 36 24	s.o.	s.o.	20 20 20	45,2 38,4 22,1		1,8 1,8 1,5	0,165 0,151 0,077	- - -	0,1771 0,1573 0,0872	- - -	7,1 4,3 12,2	Teilergebnisse von vorheriger Zeile	s.o. (LI & ADAMS 1989)
UT,AZ,NV	15	a (72)	N	20	50		2,32	0,107	-	0,128	-	5		SCHNABEL et al. 1993
II. Kleinräumige Studien														
OR, W	3 (9)* 3 (9)*	a (18 - 42) [Samen: je 11 - 17]	M, Er	11	68,2 ^y - 63,6 ^y -	95,5 ^y - 90,9 ^y -	3,23 ^y - 3,0 ^y -	0,225 0,237 0,219 0,228	- - - -				Altbestände (8) Samenplantage (1) Beerntung: Altbe- stände Beerntung: Plantage	SHAW & ALLARD 1982 a SHAW & ALLARD 1982 b
OR	22	a (39 - 72) [Samen: je 2]	M	27		77,8	3,81	0,179	-	0,1779	0,1766	1	"seed zones"	MERKLE & ADAMS 1987
OR	12	a (59 - 63)	Kn, N.	18		70,1	2,3	0,164	0,155	0,1678	0,1648	1,8	Höhentransekt	MORAN & ADAMS 1989
III. Bestandesanalysen														
CO	4	a (285-515)	N	4	62,5 ^y	93,8 ^y	3,13 ^y	0,219 ^y	0,199 ^y				Sukzession	DAVIS 1981
BC	1 (4)*	a (42) ≠ [S.: je 8]	M	27	46 ^y	54	1,79	0,171	-	0,190	0,177	6,8	Höhentransekt	EI-KASSABY & SZIKLAI 1982
OR	2 (8)*	a (48-59) ≠	Kn, M, Er	10		90,8	2,62	0,219	0,207	-	-	-	Waldbauverfahren	NEALE 1985

Land/ Bundesstaat	Popula- tionen [Zahl]	Stichprobe [Art] ^x	Gewebe	Gen- loci [Zahl]	P ₉₅ [%]	P ₉₉ [%]	A/L	H _e	H _o	H _t	H _s	G _{st} [% v. H _t]	Anmerkung	Autoren
IV. <u>Analyse europäischer Bestände</u>														
Frankreich (D, US)	4	a (20 - 39)	M, Er	7	85,7		3,5	0,403		0,402	0,399	0,6	F F (r-Werte) D Methode: US UTILEF	ARNAL 1989, PRAT, CAQUELARD & ARNAL 1990 PRAT & ARNAL 1994
Deutschland (403, Dar- rington)	1 (3)*	(120) [≠]	Kn	7	67,8 ^y		2,57 ^y	0,165 ^y	0,162 ^y				(US - Nr. 403, Darrington)	HÖPPNER DE RIZO 1991
Schweiz (Bern)	3	a (6,14,25) Samen: (72 - 150)	M, Er	15	60,8		2,07	0,209	0,186				Küstenpro- venienzen?	STAUFFER & ADAMS 1993
Polen	1	a (71)	M	22		77,3	2,68	0,192	0,191				Versuch: 41 Küs- tenprovenienzen	MEJNARTOWICZ & LEWAN- DOWSKI 1994
USA/Canada	11	a (50)	Kn	5		58,2	1,9	0,072	0,072				Methodische Pro- bleme; Werte verzerrt	HOFFMANN 1994
Deutschland Küste	12	a (50)	Kn	5		55,0	1,8	0,063	0,066				Versuch: „Gahrenberg“	HOFFMANN & GEBUREK 1995
Inland, Nord	16	b (20)	Kn	15			2,2	2,35	0,2					LEINEMANN 1998
V. <u>Vergleichende Analyse von Pflanzen (Artgruppen)</u>														
	55		?	16,1		70,9	2,35	0,173					Gymnospermae	HARRICK & GODT 1989
	110		?	17,0		64,7	2,19	0,177					Holzige Pflanzen, langlebig	HARRICK & GODT 1989

Legende:

x) a) Einzelstammbeerntung

b) Bestandesbeerntung

(Zahl der beernteten Bäume in Klammer!)

* Teilpopulation (Zahl)

≠ Zahl der beernteten Bäume pro Teilpopulation

y aus Basisdaten errechnet vom Verfasser

? Angaben nicht bekannt

M Makrogametophyt

Er Embryo

Kn Knospen

N Nadeln

(UTILEF) und kann daher nur bedingt verglichen werden.

Vergleiche zwischen Altbeständen und deren Nachkommenschaften am Beispiel von zwei französischen (Au Charnay, En Argaud), einem deutschen (Barlohe) sowie einem amerikanischen Bestand (Bacon Creek) führte PRAT mit Kollegen von der ENSAIA⁵⁷ in Nancy (Frankreich) durch (ARNAL 1989, PRAT et al. 1990, PRAT & ARNAL 1994).

Hohe Werte für die mittlere Anzahl von Allelen wurden ermittelt, sie lagen zwischen 3,4 und 3,7. Abweichungen zwischen dem väterlichen und dem mütterlichen Genom in der Häufigkeit der Allele wurden an dem Markergenlocus α -EST in dem französischen Bestand "Au Charnay" sowie am Locus LAP-1 in der Provenienz "Bacon Creek" festgestellt. Signifikante Abweichungen in der allelischen Struktur zwischen dem mütterlichen Genpool und dem der Nachkommen konnten nicht festgestellt werden. Die Analyse genotypischer Strukturen ergab eine Abweichung im Homozygotiegrad zwischen den Mutterbäumen und ihren Nachkommen am Locus LAP-1 in den europäischen Beständen sowie eine Abweichung am Genlocus α -EST in der amerikanischen Provenienz. Homozygoten-Überschüsse im Vergleich zu Werten, welche unter Panmixie zu erwarten sind, wurden in drei Fällen bei den Nachkommenschaften und in einem Fall im Ausgangsbestand (Au Charnay) festgestellt. Homozygoten-Defizite konnten nur am Altbestand "En Argaud", festgestellt werden. Für den Heterozygotiegrad wurden hohe Werte zwischen 0,381 und 0,405 ermittelt, welche erheblich über den entsprechenden Werten von LI & ADAMS (1989) für die Region Washington von 0,193 lagen (ARNAL 1989, S.37). Auch der Wert für die genische Gesamtdiversität im Durchschnitt für alle drei künstlichen Populationen war recht hoch (0,402), der Anteil der Variabilität zwischen den Beständen mit $G_{st}=0,006$ jedoch überraschend niedrig (ARNAL 1989, S.40). Vergleichsrechnungen mit dem Datenmaterial von LI & ADAMS (1989) für die entsprechenden Genloci ergaben einen Wert von 0,196 für die genische Gesamtdiversität über das Gesamtareal, wobei der Anteil der Variabilität zwischen den Demen zu 11,4 % ermittelt wurde⁵⁸ (ARNAL 1989, PRAT et al. 1990).

Die Autoren interpretierten die Ergebnisse, gestützt auf zusätzliche Analysen realisierter Paarungssysteme, als Folge der künstlichen Bestandesbegründung. So wurde beispielsweise für den Bestand "Au Charney" eine Mischung aus verschiedenen Provenienzen angenommen, die im Laufe der Jahre zu einer Gliederung in Subpopulationen geführt haben mag (PRAT & ARNAL 1994, S. 206) Das Fehlen von grundsätzlichen Unterschieden in der genetischen Variation von Isozym-Genmarkern zwischen künstlichen und natürlichen Beständen führte zu der Hypothese, daß eine Generation nicht genügt, um durch Drift derartige Unterschiede hervorzurufen (PRAT & ARNAL 1994, S. 204).

Die Frage einer *Provenienz- bzw. einer Saatgutsverwechslung bei Pflanzgut der Provenienz "Darrington"* untersuchte HÖPPNER DE RIZO am Beispiel dreier Versuchsflächen eines Wuchsleistungs-Vergleichsanbaues von Fichte, Küstentanne und Douglasie der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt (Tab. 2-4). Weder die Analyse der genotypischen noch die der allelischen Strukturen ergaben Hinweise auf eine Verwechslung des Ausgangsmaterials. Allerdings deuteten Heterogenitätstests sowie genetische Abstandswerte (nach GREGORIUS 1974) im Zusammenhang mit dem Umfang von Mortalität und Nachbesserung in den Versuchspartellen auf eine unterschiedliche genetische Struktur der verwendeten Pflanzgutjahrgänge (HÖPPNER DE RIZO 1991). In dieser Studie wurden durchschnittlich 2,57 Allele pro Locus beobachtet. Die Loci LAP-A und GOT-B erwiesen sich als heterogen in den

⁵⁷ Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires.

⁵⁸ Diese Abweichung in dieser Dimension der Werte muß nach der hier vorliegenden Auffassung als verfahrensbedingt interpretiert werden ! (vgl. Kap. 6.1)

verschiedenen Parzellen. Aus den Daten von HÖPPNER DE RIZO 1991 kann ferner eine beobachtete Heterozygotie von 0,162 abgeleitet werden. Im Vergleich zum entsprechenden Erwartungswert von 0,165, der weitgehend den Angaben aus LI & ADAMS 1989 (Tab. 2-4) entspricht, läßt sich hieraus ein geringfügiges Heterozygotendefizit ableiten.

STAUFFER und ADAMS (1993) untersuchten drei *Mischbestände von Douglasie mit Tanne, Fichte und Buche* in dem *Schweizer Kanton Bern* (Tab. 2-4). Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der genischen Diversität zwischen den einzelnen beobachteten Lebensphasen (STAUFFER & ADAMS 1993): es waren dies der Genpool des Altbestandes, der ♂-Gameten sowie der Embryonen. Auf Grund der geringen Stichprobe war die Anzahl der Allele pro Locus in den Altbeständen jedoch deutlich niedriger als bei den Nachkommenschaften, wo Werte zwischen 2,4 und 2,9 errechnet wurden. Der Anteil polymorpher Loci (95% Kriterium) lag zwischen 40% und 73%. Die beobachteten Heterozygotiegrade streuten im Bereich von 0,135 und 0,256. Der durchschnittliche Wert für H_e über alle Schweizer Populationen hinweg betrug 0,209 im Pollen-Genpool. Er entsprach damit dem Wert, der aus den amerikanischen Vergleichsdaten (gleiche Loci) der Autoren LI & ADAMS (1989) errechnet wurde. Signifikante Unterschiede zwischen beobachteten und erwarteten Heterozygotiegraden wurden im Genpool der Embryonen nicht verzeichnet, obwohl ein Heterozygoten-Defizit offensichtlich war, welches als Ergebnis von Inzucht interpretiert wurde. Multi-Locus-Schätzungen der Fremdbefruchtungsrate ergaben außerdem äußerst niedrige Werte zwischen 0,683 und 0,864 in den Schweizer Beständen. Eine derartige, hohe Inzuchtrate wurde daher auf die kleine Bestandesgröße sowie deren isolierte Lage zurückgeführt (STAUFFER & ADAMS 1993, S. 256).

Eine Anlage des *IUFRO-Douglasien-Provenienzversuches von 1968* in Polen analysierten MEJNARTOWICZ & LEWANDOWSKI (1994). Die dortige künstliche Population repräsentiert 100 Provenienzen aus dem nördlichen Verbreitungsareal der Douglasie in drei- bis vierfachen Wiederholungen mit heute jeweils 15 Bäumen pro Parzelle. Untersucht wurden 71 stark fruktifizierende Mutterbäume aus 41 Provenienzen. In der Mutterpopulation wurde eine durchschnittliche Anzahl der Allele pro Locus von 2,68 festgestellt; Unterschiede zwischen der erwarteten und der beobachteten Heterozygotie waren kaum nachweisbar und nur ein leichter Heterozygotenüberschuß nach WRIGHT (1965) wurde berechnet. Die Untersuchungen der Nachkommenschaften aus dem Jahre 1990, nur an sechs polymorphen Loci durchgeführt, ergab eine größere Zahl von Allelen pro Locus als der Vergleichswert bei den Mutterbäumen. In Übereinstimmung mit einer hohen Fremdbefruchtungsrate von 0,966 (Mehrlocus-Schätzung) konnte dies auf die Vollmast im Untersuchungsjaar zurückgeführt werden. Ein leichtes Heterozygotendefizit wurde nach WRIGHT (1965) für die Nachkommenschaft geschätzt. MEJNARTOWICZ & LEWANDOWSKI (1994) erklärten die teilweise hohen Werte im Vergleich zu anderen Arbeiten mit der Wahl und der Zahl der untersuchten Loci, zumal die Population aus Provenienzen der Küsten- sowie der Nördlichen Inlandsdouglasie künstlich zusammengesetzt ist (ibid. 1994, S.184).

HOFFMANN (1994) unternahm den Versuch, *amerikanische Mutterbestände mit den hiervon abstammenden deutschen Versuchspopulationen des internationalen Douglasien-Provenienzversuches von 1970* zu vergleichen. Auf Grund methodischer Schwierigkeiten kamen nur 5 Enzym-Genloci zur Analyse. Die außerordentlich niedrigen Werte für H_e und H_o sind eindeutiges Indiz für eine stark begrenzte Aussagefähigkeit der Studie (Tab. 2-4). Auch Unterschiede mit doppelt so hohen Heterozygotiewerten der Küstendouglasie wie die der nördlichen Inlandsdouglasie (HOFFMANN & GEBUREK 1995, S.224), sprechen für eine derartige Wertung. Die Ergebnisse, wonach eine "nur sehr geringe Verminderung der genetischen Vielfalt für die Folgegeneration" in deutschen Provenienzversuchen bzw. ein diagnostizierter

Unterschied bei der genetischen Struktur zu beobachten war (HOFFMANN 1994, S. 53) , sollten daher mit gebührender Vorsicht gewertet werden. Sie könnten stichproben-abhängig bzw. methodisch bedingt sein (vgl. auch HOFFMANN & GEBUREK 1995, S.224).

Einen weiteren Provenienzversuch, den von Gahrenberg in Niedersachsen, untersuchte LEINEMANN (ders. 1996, 1998). Insgesamt 16 Provenienzen gelangten zur Analyse. Hiervon stammten 14 aus dem nördlichen Verbreitungsgebiet der Küsten- bzw. Inlandsdouglasie. Die Parameter für genetische Variation zeigen vergleichbare Durchschnittswerte für die Küsten- und die Inlandsrasse, wobei die Populationen der Inlandsvarietät erwartungsgemäß über leicht niedrigere Werte verfügen (Tab. 2-4). LEINEMANN gelang es, einen weiteren Ansatz zur Unterscheidung von Douglasienrassen und deren Mischungen zu entwickeln (ibid. 1998).

Die obige, ausführliche Schilderung der bisherigen Arbeiten zur geographischen Variation von Isozym-Genmarkern bei der Douglasie erlaubt es, die Bedeutung der einzelnen populationsgenetischen Parameter zu relativieren. Wie aus den synoptischen Arbeiten von HAMRICK & GODT (1989) bekannt, liegen die Werte für Vertreter der Entwicklungsstufe der Gymnospermae bzw. für langlebige holzige Pflanzen bei einem H_e von 0,17. Diesen Schätzungen liegt eine große Zahl von untersuchten Populationen mit durchschnittlich 16 bis 17 beobachteten Genloci zugrunde, welche einen Polymorphiegrad von durchschnittlich etwa 71 bzw. 65% bei durchschnittlich 2,35 bzw. 2,19 Allelen pro Genlocus zeigten (Tab. 2-4).

Die hier besprochenen Arbeiten über die Douglasie streuen, abgesehen von zwei Ausnahmen, um diese Angaben. Davon abweichende, doppelt so hohe Werte der Arbeitsgruppe aus Nancy (PRAT & ARNAL 1994) erklären sich durch die Verwendung einer anderen physikochemischen Methode (s.o.). Innerhalb der Gruppe der arealweiten Studien kann mit Hilfe der Arbeit von SCHNABEL et al. 1993 im Vergleich zu derjenigen von LI & ADAMS 1989 gezeigt werden, daß durch eine zu 55% andere Zusammensetzung des Sets verwendeter Genmarker in Verbindung mit der Analyse unterschiedlichen Gewebes (hier: Nadelgewebe) ebenfalls höhere Werte erzielt werden. Die nicht einmal halb so hohen Werte von HOFFMANN (ibid. 1994, HOFFMANN & GEBUREK 1995) lassen sich hingegen auf methodischen Schwierigkeiten zurückführen. Hierdurch gelangten bei den letztgenannten wenige Genloci zur Analyse, welche überdies aus der arealweiten Studie von LI & ADAMS (1989) als mono- bzw. minorpolymorph *bekannt* waren und somit für die dortige Fragestellung nur bedingt geeignet waren!

Neben Einflüssen von Polymorphie-Charakter, von physikochemischen Bedingungen oder der Zusammensetzung des Genmarker-Sets lassen sich aus der Tabelle 2-4 weitere Zusammenhänge ableiten: Erst arealweite Studien (**Gruppe I**) zeigen auch quantitativ die geographischen Unterschiede in der genetischen Variation mittels Isozymgenmarkern auf. Andere Arbeiten führen zu nahezu identischen Ergebnissen für jeweilige Teilareale, wenn eine größere Zahl an Loci bei ausreichendem Stichprobenumfang berücksichtigt sind. So finden sich bei den Arbeiten der **Gruppen II** und **III** aus Tabelle 2-4 (MERKLE & ADAMS 1987, EL-KASSABY & SZIKLAI 1982), welche 27 Genloci einbeziehen, übereinstimmende Schätzungen der Parameter mit den Ergebnissen von LI & ADAMS (1989). Kleinräumige Studien aus einem eng begrenzten Teilareal (Gruppe II: SHAW & ALLARD 1982), ebenso wie Bestandesanalysen (Gruppe III: DAVIS 1981) generieren hohe populationsgenetische Parameter besonders dann, wenn eine geringe Zahl von offensichtlich unter 12 Genloci untersucht wird. Die Arbeiten der Gruppe IV (Tab. 2-4) führen daher zu zwangsläufig ähnlich hohen Werten wie bei den beiden vorgenannten Gruppen, obwohl teilweise eine hohe Zahl an Genloci verwendet wird. Somit bestätigt sich die von EL-KASSABY (1991, S. 65) aufgestellte Regel, daß eine Erhöhung von Stichprobenumfang und Zahl der analysierten Genloci die Werte der populationsgenetischen Parameter reduziert und zu zuverlässigeren Schätzungen

führt. Auch BERG & HAMRICK (1997) haben auf die Bedeutung eines adaequaten Stichprobendesigns zur Artenbeschreibung verwiesen, wobei für Arten, welche über eine große Habitatdiversität verfügen, eine große Anzahl an Stichproben selbstverständlich sein sollte (BROWN & MARSHALL 1995).

Das Beispiel von HÖPPNER DE RIZO (1991) zeigt (**Gruppe IV**, Tab. 2-4), daß bei einer ausreichenden Stichprobengröße sowie geschickter Wahl weniger, aussagekräftiger Markergenloci Schätzungen mit hoher Zuverlässigkeit (z.B. H_e) möglich sind! WESTFALL und CONKLE (1992) war es ebenfalls möglich, auf der Basis einer kleinen Zahl von Genloci gute Übereinstimmungen von Allozymvariation und „breeding zone“-Abgrenzungen bei der Douglasie zu erzielen. Allerdings wurden dort die Allelhäufigkeiten über alle Loci zu kanonischen Variablen transformiert.

Die Parameter „Polymorphiegrad“ und „Allele pro Locus“ lassen hauptsächlich Rückschlüsse auf die Eigenschaften des verwendeten Sets an Markergenen zu, welche offenbar nur begrenzt über die realisierbare Stichprobengröße beeinflusst sind (Rolle sehr seltener Allele !). Eine Schwankung der entsprechenden Werte je nach Lage des Untersuchungsgebietes im Teilareal, wie sie für einzelne Loci bekannt sind (arealspezifische Allele, vgl. Kap. 2.1.3 und 2.4.), ist von der übrigen Zusammensetzung des verwendeten Genmarker-Sets abhängig. Schließlich können sich gegenläufige klinale Trends in ihrer Wirkung beeinflussen bzw. abschwächen. Gemeinhin können also folgende Regeln empirisch aus der Übersicht der Tabelle 2-4 sowie aus der diskutierten Literatur abgeleitet werden:

**Schlußfolgerungen
zu
Stichprobengröße und Genmarkerset
bei der Isozym-Analyse**

S2*1a) Allgemein:

Ein Erhöhung von Stichprobenumfang und Zahl der Genloci reduziert die Größenordnung von populationsgenetischen Parametern und führt zu zuverlässigen Schätzungen.

S2*1b) Allgemein (Erweiterung):

Die Variations-Parameter „Polymorphiegrad“ und „Allele pro Locus“ lassen bei gleicher Stichprobengröße primär Rückschlüsse auf Eigenschaften des verwendeten Sets an Genmarkern zu. Sie sind, auf Grund der Rolle seltener Allele, nur begrenzt über realisierbare Stichprobengrößen beeinflussbar.

S2*2 Für die Douglasie gilt

Die zu empfehlende Zahl bei einer Analyse zu berücksichtigender Genloci kann für die Douglasie mit über 12 angegeben werden, wobei ein Anteil von 70% polymorph (P_{95}) sein sollte.

3. Material und Methoden

3.1. Material

3.1.1. Material für eigene Untersuchungen

Saatgut und Knospen unterschiedlicher Douglasien-Formen wurden in die nachfolgend beschriebenen Experimente einbezogen. Hierfür fanden insgesamt 38 verschiedene Stichproben mit bekannter (Gebiets-) Abstammung sowie sieben baden-württembergische Bestände unbekanntem Ursprungs Verwendung.⁵⁹

Aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet von *Pseudotsuga menziesii* standen 27 **handelsübliche Saatgutstichproben** zur Verfügung. Damit waren sowohl die Küsten- als auch die Inlandsvarietäten flächendeckend vertreten (vgl. Abb. 3-1); lediglich der Bezug kalifornischen Materials war, abgesehen von einer Ausnahme, unmöglich. Die Höhenlage der berücksichtigten Populationen reichte von 60 m bis 1400 m ü.N.N. Das Erntejahr des Saatgutes ist nur für einen Teil der Proben bekannt (Tab. 3-1), über die Zahl der Erntebäume liegen keine Angaben vor. Die genannten Proben wurden bei -24 °C bis zur Analyse eingelagert.

An Material aus Versuchsanlagen der Forstl. Versuchsanstalt Baden-Württemberg in Freiburg, Rastatt und Steinheim wurden **Knospen** gewonnen (vgl. Abb. 3-2). Insgesamt 11 Populationen, fünf aus Washington sowie sechs aus British Columbia, fanden Berücksichtigung. Die Lage der entsprechenden Mutterbestände in Amerika wurde in Abb. 3-1 eingezeichnet. Sie entstammen Höhenlagen zwischen 60 und 610 m ü.N.N. Wie die Tabelle 3-2 zeigt, befanden sich die Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte im Alter von 2-4, 7 und 17 Jahren.

Ebenfalls **Knospen** wurden von sieben "**heimischen**" **Altbeständen** aus dem badischen Landesteil geerntet (Abb. 3-2, Tab. 3-3). Ausschließlich Bestände, deren Begründung in der Zeit um die letzte Jahrhundertwende zu vermuten war, wurden hierfür ausgewählt. In Tabelle 3-3 sind die für genetische Interpretationen wichtigen Eckdaten zu einer Übersicht zusammengefaßt. Die Douglasien gedeihen an ihren Wuchsorten in Höhenlagen zwischen 300 m und 800 m ü.N.N. so hervorragend, daß sie zur weiteren Beerntung von Vermehrungsgut in Deutschland zugelassen sind.

In der Zeit vom 13.01. bis 14.02. 1989 wurde eine erste Ernte von Knospenmaterial durchgeführt. In dem Bestand "Gwd Münstertal X,1" des Forstamtes Staufen konnten die Knospen von 20 Bäumen an *liegenden Stämmen* entnommen werden. Zur Gewinnung des restlichen Materials wurden Zweigabschnitte aus dem oberen Bereich der Kronen geschossen.

Da die *Einlagerung* des Materials in einfachen Gefriertruhen Schwierigkeiten bereitete, war eine Wiederholung der Knospenernte notwendig. Diese fand vom 19. Januar bis 18. Februar 1990 statt. Während bei den Pflanzen bis zum Alter von 17 Jahren Zweigabschnitte mittels Scheren entnommen werden

⁵⁹ Auch an dieser Stelle wird die Unterstützung bei der Materialbeschaffung durch die Herren Chr. Eisele (Fa. C.APPEL, Darmstadt) und OFR Franke (FVA, Freiburg) mit Dankbarkeit erwähnt.

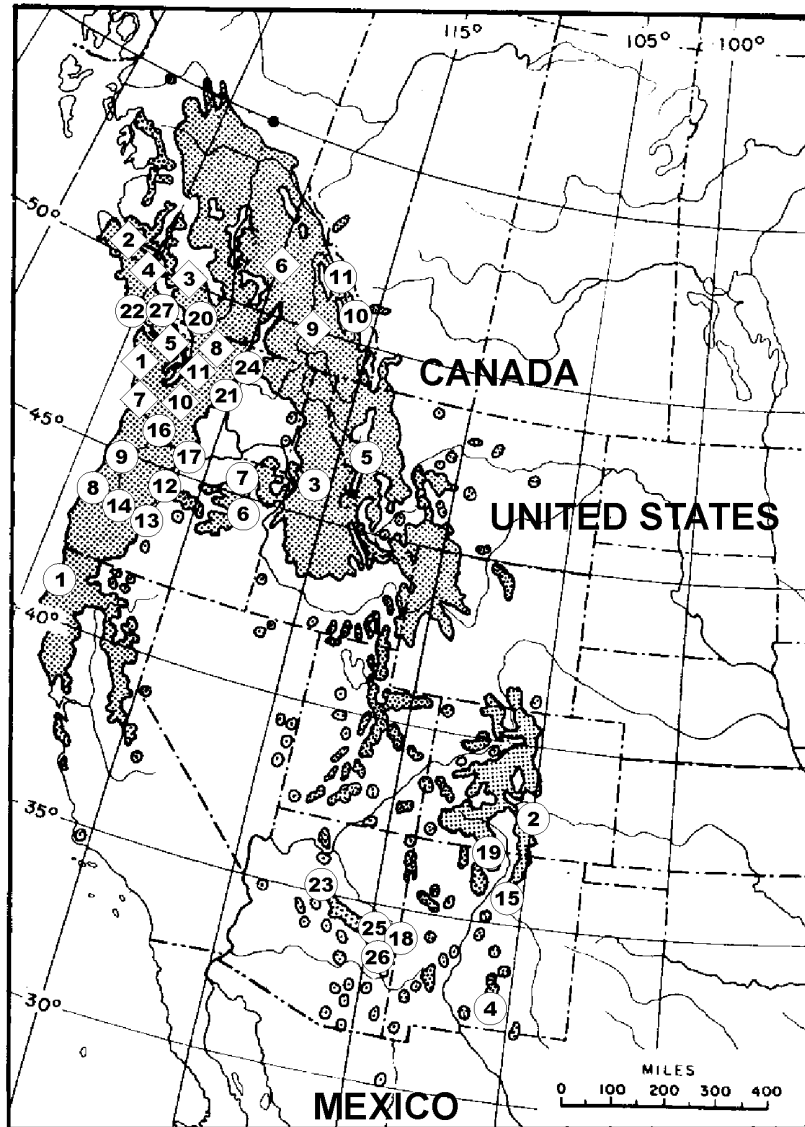


Abb. 3-1: Lage der analysierten Provenienzen in Nordamerika.

Verwendet wurde Handelsaatgut (Kreise: 1-27) und Knospengewebe (Rauten: 1-11) aus dem Provenienzversuch "Steinheim" der bad.-würt. FVA Freiburg. Weitere Erläuterungen im Text.

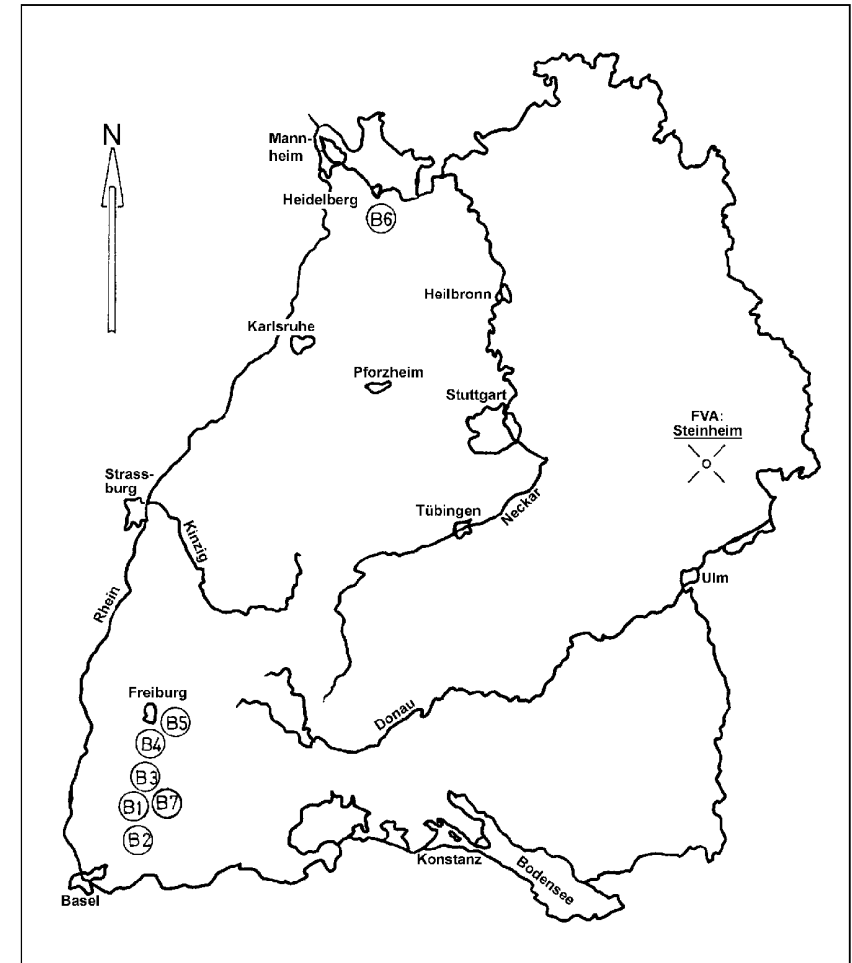


Abb. 3-2: Lage der analysierten badischen Altbestände (Nr. B1-B7) sowie Lage des Versuches Steinheim der FVA Freiburg.

Weitere Erläuterungen im Text.

Tab. 3-1: Übersicht der untersuchten nordamerikanischen Douglasien-Provenienzen:

I. Analysiertes Handelssaatgut.

Code	Bundesstaat ¹	Provenienz ²		Lage		Höhe ³ [m ü.N.N.]	Saatgut- ernte ³ [Jahr]	Probe	
		Zone	Name	W.L. [o, ']	N.Br. [o, ']			Samen- zahl ⁴	Art ⁵
S01	Cal.	303		123 26	40 51	<100	n.b.	45	Z
S02	Col.		San Isabel N.F.	105 04	37 57	n.b.	n.b.	44	G
S03	Idah.		Orofino	115 21	46 28	900	n.b.	45	G
S04	New M.		Lincoln N.F.	105 33	32 50	n.b.	n.b.	45	G
S05	Mont.		Western Montana	114 00	47 00	1200-1400	n.b.	45	G
S06	Oreg.	882		118 09	44 57	1050-1200	n.b.	45	Z
S07	Oreg.	853		118 11	45 39	1100	n.b.	45	Z
S08	Oreg.	061		123 53	44 23	150-300	n.b.	45	Z
S09	Oreg.	251	Willamina	123 30	45 08	450-600	1980	45	TZ
S10	B.C.	EK(1195)	Horsethief	116 15	50 34	1200	n.b.	45	TZ
S11	B.C.	(25180)					n.b.	45	
S12	Oreg.	662		121 22	45 15	1050-1200	n.b.	45	Z
S13	Oreg.	675		121 39	44 12	900-1050	n.b.	45	Z
S14	Oreg.	461/62		122 26	44 24	600-750	n.b.	45	mZ
S15	New M.		Santa Fe N.F.	105 50	35 45	n.b.	n.b.	45	G
S16	Wash.	241	Pe Ell/Elma	123 19	46 48	0-500	1982	45	mTZ
S17	Wash.	652	Trout Lake	121 33	46 00	450-600	1985	45	TZ
S18	New M.		Gila N.F.	108 36	33 26	n.b.	n.b.	45	G
S19	New M.		Carson N.F.	106 18	36 41	n.b.	n.b.	45	G
S20	Wash.	202	Arlington	122 10	48 10	150-300	1985	45	TZ
S21	Wash.	411	Skykomish/Startr.	121 20	47 42	0-500	1988	45	mTZ
S22	B.C.	DYM(391)	Mt. Benson	124 02	49 06	450	n.b.	45	TZ
S23	Ariz.		Coconino N.F.	111 21	34 56	n.b.	n.b.	45	G
S24	Wash.	403	Darrington	121 37	48 15	300-450	1988	45	TZ
S25	Ariz.		Apache N.F.	109 21	33 38	n.b.	n.b.	45	G
S26	Ariz.		Apache	109 21	33 38	n.b.	n.b.	45	G
S27	B.C.	WTM(1022)	Gordon R.H.	124 22	48 52	600	n.b.	45	TZ

Tab. 3-2: Übersicht der untersuchten nordamerikanischen Douglasien-Provenienzen:

II. Amerikanische Provenienzen aus baden-württembergischen Versuchsanbauten

Code	Bundesstaat ¹	Provenienz ²		Lage		Höhe [m ü.N.N.]	Anbauort ⁶	Pflanzenalter ⁷ [Jahre]	Probengröße ⁴ [Anzahl]
		Zone	Name	W.L. [o, ']	N.Br. [o,']				
K01	Wash.	012-10	Soleduck River	123 57	48 02	300	A	7	30
K02	B.C.	M(1020)	Nimkish	126 53	50 19	90	B	17	30
K03	B.C.	SM(1070)	D'Arey	122 30	50 33	270	B	17	30
K04	B.C.	M(1020)	Courtenay	125 03	49 42	70	B	17	30
K05	B.C.	M(1020)	Duncan	123 45	48 45	60	B	17	30
K06	B.C.	SA(3050)	Clearwater	120 00	51 39	460	B	17	30
K07	Wash.	030-05	Humtulips	124 00	47 00	150	C	2-4	38
K08	Wash.	403-10	Darrington	121 18	48 16	300	C	2-4	30
K09	B.C.	WK(3030)	Revelstoke	118 12	50 00	610	B	17	27
K10	Wash.	430-15	Cispus River	121 51	46 27	400	C	2-4	32
K11	Wash.	412-20	Greenwater	121 42	47 09	510	C	2-4	36

Anmerkungen zu den Tabellen 3-1 bis 3-3:

1. - CANADA: B.C.=British Columbia;

USA: Ariz. = Arizona; Cal. = California; Col. = Colorado; Idah. = Idaho; Mont. = Montana; New M. = New Mexico; Oreg. = Oregon; Wash. = Washington.

2. - Händlerbezeichnungen:

* Für die Bundesstaaten Oregon und Washington finden die Nummern der Zonen des "Western Forest Tree Seed Council" (i.d.F. v. 1973) Anwendung.

* Proben aus B.C. werden nach "seed planning zones" (seit 1989: Buchstaben-Code; EREMKO et al. 1989) und "forest tree seed zones" (1974-1982; vgl. LAVENDER et al. 1994, S. 183 ff.) des provinzeigenen Registers bezeichnet.

3. - n.b. = Daten nicht bekannt.

4. - Anzahl der analysierten Samenkörner aus der jeweiligen Partie (Tab. 3-1: Saatgut) bzw.

Anzahl der untersuchten Baumindividuen je Provenienz/Bestand (Tab. 3-2, 3-3: Knospen).

Tab. 3-3: Übersicht der untersuchten Douglasien-Provenienzen:
III. Bestände von Alt-Douglasien aus dem badischen Raum.

Code	Forstamt	Bezeichnung			Lage		Höhe [m ü.N.N.]	Pflanzen- alter ⁷ [Jahre]	Proben- größe ⁴ [Anzahl]
		Waldbesitzer ⁸	Waldort		Ö.L. [o, ']	N.Br. [o, ']			
			Distr.	Abt.					
B01	Müllheim	Sulzburg	I	24	07 45	47 50	730-780	83	30
B02	Kandern	Kandern	I	03	07 39	47 44			30
B03	Staufen	Münstertal	X	01	07 49	47 52	770-800	75-85	30+20
B04	Freiburg	Freiburg	I	03	07 52	47 59	430-470	80-100	31
B05	Freiburg	Freiburg	V	15	07 54	48 00	310-350	70-100	30
B06	Heidelberg	Heidelberg	I	25	08 43	49 24	270-330	90-100	30
B07	Müllheim	Britzingen	XVIII	09	07 41	47 49	520	70-100	30

Anmerkungen zu den Tabellen 3-1 bis 3-3 (Fortsetzung):

5. - Die Saatgutproben stammen aus: TZ - einem Teilgebiet einer Zone mZ - zwei Zonen
mTZ - mehreren Teilgebieten einer. Zone G - einem Gebiet
Z - einer "seed zone"

6. - Anbauorte : A - Rastatt; B - Steinheim; C - Freiburg.

7. - Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Knospenernte 1990.

8. - Stadt bzw. Gemeinde

konnten, war bei den über 70jährigen Douglasienbeständen der Einsatz von Schrotflinten⁶⁰ erneut notwendig. Die Zweige wurden in Plastikbeuteln verpackt transportiert und in einem Kühlraum bei -4 °C maximal 24 h zwischengelagert. Anschließend wurden kleine, mit Knospen besetzte Stücke der Zweige nach Erntebäumen getrennt in flüssigem Stickstoff (-196 °C) über 24 - 48 Stunden schockgefrostet. Die weitere Lagerung erfolgte in Gefriertruhen herkömmlicher Bauart bei -24°C.

Einzelstammnackkommenschaften wurden am 8. September 1990 von acht Bäumen des Bestandes "Heidelberg I.25" genommen (Tab. 3-4). Hierzu wurden zwischen 4 und 10 Zapfen von jedem Baum geschossen und anschließend bei Zimmertemperatur getrocknet. Das auf diese Weise geklengte Saatgut wurde bei -24 °C bis zur Analyse eingelagert. Für die vorliegende Untersuchung fand das Saatgut von fünf Bäumen Berücksichtigung, um die Zymogramme von Embryo, Makrogametophyt und Apicalmeristem vergleichen zu können bzw. um in Einzelfällen Isozym-Phänotypen auf ihre Eigenschaft als Genmarker zu prüfen (vgl. Kap. 4.1). Wie die nebenstehende Tabelle 3-4 zeigt, waren beachtliche Hohlkornanteile mit durchschnittlich 62% sowie Schäden durch Insekten (durchschnittlich 14 %) und Pilze (durchschnittlich 1%) zu registrieren. Lediglich zwischen 0% und 33% - im Mittel 23% - des Saatgutes waren keimfähig.

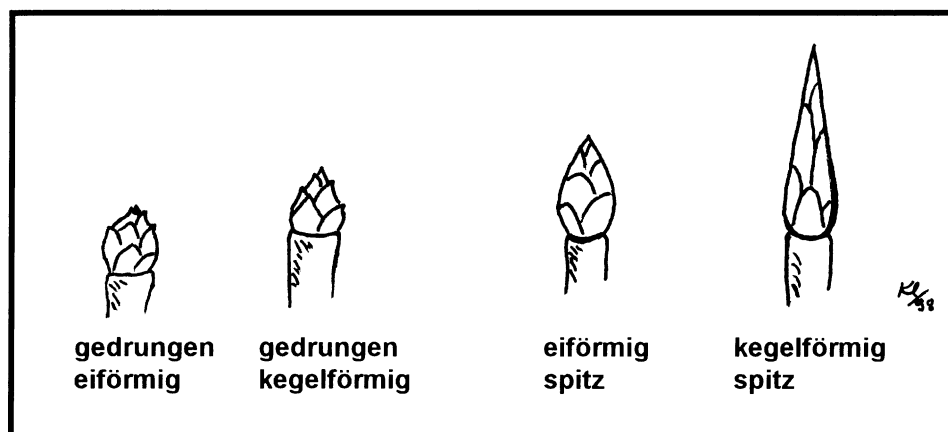


Abb. 3-3: Formen der Endknospe bei der Douglasie, schematisch.

Die Beurteilung der *Knospenmorphologie* wurde während der Präparation zur Tiefgefrierlagerung vorgenommen. Gestalt und Oberfläche der Endknospen von Zweigen erster bzw. zweiter Ordnung wurde an Hand typisierter Charakteristika festgehalten. Die Form wurde hierbei vier Typen zugeordnet, wie sie in Abbildung 3-3 dargestellt sind. Zur Auswertung wurden die beiden Formtypen gedrunge-eiförmig und gedrunge-kegelförmig zu einem Haupttyp „gedrunge“ zusammengefaßt, so daß in weiterer Folge drei Haupttypen unterschieden werden. Bei den Farbtypen wurden vier Dunkelstufen⁶¹ des Farbtones Braun unterschieden, Farbtafeln standen nicht zur Verfügung. Tabelle A.II-1 im Anhang der vorliegenden Arbeit zeigt am Beispiel des Bestandes B04 (Stadtwald Freiburg I, 03) den Aufbau des entsprechenden Datenblattes.

⁶⁰ Kaliber 12, Schrotstärken: 3,5 und 4,0 mm (Fabrikat Rottweil Jagd).

⁶¹ Zu den Begriffen vgl. Dt. Normenausschuß Farbe 1980

Tab. 3-4: Einzelbaumnachkommenschaften aus dem Bestand Nr. B06 (Heidelberg I.25), gewonnen im Herbst 1990.

Baum-Nr.	Zapfen [Zahl]	Samen- Ausbeute [Zahl]	Samen (analysiert)								
			voll		hohl		Insekten		Pilze		Σ
			[Zahl]	[%]	[Zahl]	[%]	[Zahl]	[%]	[Zahl]	[%]	[Zahl]
2	6	165	35	33	47	44	21	20	3	3	106
6	4	57	3	5	48	84	6	11	-	-	57
19	5	15	1	7	9	60	4	26	1	7	15
19a	1	10	-	-	10	100	-	-	-	-	10
19b	7	14	1	7	10	71	3	21	-	-	14
21	6	43	13	30	19	44	11	26	-	-	43
24	6	280	42	27	106	67	10	6	-	-	158
∩	5	83,4	13,4	25	35,6	60	7,9	14	0,6	1	57,5
Σ	35	584	94	23	249	62	55	14	4	1	403

3.1.2. Stichprobengröße

Um eine Vergleichbarkeit der eigenen Ergebnisse mit denen von LI (1986) bezüglich der Erfassungswahrscheinlichkeit allelischer Strukturen zu gewährleisten, wurden bei Saatgutproben je 45 Korn untersucht. Bei den Knospenproben gelangten je 30 Individuen zur Analyse. Davon abweichend konnte für die Provenienz K09 nur noch 27 Individuen in den Versuchsfeldern von Steinheim gefunden werden, während die Provenienzen K07, K10 und K11 (Tab. 3-2) sowie der Bestand B03 (Tab. 3-3) in den vorliegenden Stichproben durch eine leicht höhere Individuenzahl repräsentiert sind.

In der Literatur findet sich eine Reihe von Arbeiten, welche sich mit der Aussagekraft von Stichproben bei Isoenzymanalysen beschäftigen. GREGORIUS (1980), beispielsweise, stellte statistische Berechnungen über die Wahrscheinlichkeit an, mindestens ein Allel in einer Stichprobe nicht zu finden, das in einer bestimmten Häufigkeitsgruppe einer *unendlichen* Population vertreten ist. EL-KASSABY (1983) führte Simulationen von Stichproben in einer *endlichen* Population am Beispiel eines 42jährigen Douglasienbestandes aus British Columbia durch.

Wie GREGORIUS (1980, S. 649) ausgeführt hat, beträgt bei einer Stichprobengröße von 39 Individuen die Irrtumswahrscheinlichkeit, das Vorkommen seltener Allele, d.h. solcher mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von $\alpha \geq 0.2$, richtig einzuschätzen, lediglich $\sigma = 0.001$. Allele mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von $\alpha \geq 0.1$ würden in ihrem Anteil an der jeweiligen Population nur bei einer Stichprobengröße von 51 Korn mit der Wahrscheinlichkeit von $P = 0.95$ verlässlich erfaßt werden (ibid.). Demgegenüber folgt aus den Simulationsläufen von EL-KASSABY & SZIKLAI (1983), daß der Anteil sehr seltener Allele (Häufigkeit $\alpha \leq 0.05$) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% richtig bestimmt wird, wenn die Stichprobengröße mindestens 30 Individuen beträgt. EL-KASSABY & SZIKLAI fordern weiter eine Stichprobengröße von 35 bzw. 42 Bäumen, wenn der Anteil an allelischen Strukturen bestimmt werden soll bei a) seltenen Allelen (Häufigkeit $0.1 \geq \alpha \leq 0.2$) bzw. bei b) häufigen Allelen (Häufigkeit $\alpha \sim 0.5$). Allerdings unterliegen die beobachteten Anteilswerte allelischer Strukturen bereits ab einer Stichprobengröße von 30 Individuen deutlich geringeren Streuungen in den genannten Simulationsmodellen (ibid., S.351 ff.).

Die eingangs genannten und hier verwendeten Stichprobengrößen lassen somit eine Schätzung der allelischen Strukturen im vergleichbaren Bereich einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\sigma \sim 0.05$ sowohl für die Saatgutproben (unendliche Population) als auch die „endlichen“ Populationen der in Baden-Württemberg wachsenden Douglasien zu. Aussagen über allelische Strukturen bewegen sich dadurch im vergleichbaren Wahrscheinlichkeitsbereich, wie in anderen Arbeiten (z.B. CHELIAK et. al. 1988, FADY & CONKLE 1993, KONNERT 1992).

3.1.3. Zusätzliches Daten-Material

Neben den Daten, die aus eigenem Material gewonnen wurden, standen für die Modellentwicklung die allelischen Strukturen von 104 Provenienzen aus dem gesamten Verbreitungsgebiet der Douglasie zur Verfügung. Dieses Datenmaterial, von den Herrn P. LI und Prof. Adams (Corvallis, USA) freundlicherweise zur Verfügung gestellt, wurde bereits an anderer Stelle beschrieben (LI 1986, LI & ADAMS 1989), so daß hier auf eine Auflistung der Stichproben verzichtet wird. Im Anhang "A.I" zu der vorliegenden Arbeit ist jedoch die Übersichtskarte aus der Veröffentlichung von LI & ADAMS 1989 nochmals wiedergegeben (Abb. A.I-1). In der genannten Arbeit wurde die Makrogametophyten von durch-

schnittlich 42 Samen pro Sammel-Stichprobe (74 Provenienzen) analysiert. Makrogametophyt und Embryo von durchschnittlich 40 Samen wurden bei Proben von geringer ($x \leq 15$) oder unbekannter Zahl von Mutterbäumen untersucht (17 Provenienzen). Sofern die Proben über Samen einzelner Bäume repräsentiert waren (13 Provenienzen), gelangten je zwei Makrogametophyten pro Baum zur Analyse (LI & ADAMS 1989).

3.2. Methoden

3.2.1. Biochemische Methoden

Um die verschiedenen Enzymsysteme von *Pseudotsuga menziesii* darzustellen, wurde die Methode der **Stärke-Gel-Elektrophorese** gewählt. Hierbei werden in einem elektrischen Feld die Proteingemische eines Gewebehomogenats aufgetrennt. Dieser Trennvorgang beruht auf den unterschiedlichen Wander- geschwindigkeiten der Proteine im elektrischen Feld, welche auf die einzelnen Nettoladungen zurückzu- führen sind. Bei der Stärke-Gel-Elektrophorese wird zusätzlich ein Molekularsiebeffekt des Laufmedi- ums ausgenutzt. Durch enzymespezifische, histochemische Färbeporgänge werden anschließend die nach Größe und Ladung "sortierten" Proteinformen sichtbar gemacht. Ein solches "Flecken- (Banden-) Mu- ster" von Isoenzymen auf dem Laufmedium bezeichnet man als Zymogramm. (vgl. HATTEMER et al. 1993, S. 35 ff.)

Drei Gewebetypen wurden zu den Untersuchungen herangezogen: **Makrogametophyt**, **Embryo** sowie das **Apicalmeristem** aus Knospen.

Eine aliquote Menge Saatgut wurde 30 h in Leitungswasser eingeweicht (OWSTON & STEIN 1974, S. 679) und anschließend auf feuchtem Filterpapier in Keimschalen ausgebreitet. Bei Zimmertemperatur gelagert, zeigten sich nach durchschnittlich 5 Tagen die Keimwurzeln in Längen von 3 bis 14 mm. Ma- krogametophyt und Embryo wurden herauspräpariert, mit 50 µl bzw. 25 µl eines Extraktionspuffers (s. Tab. B3-5) versetzt und (separat) homogenisiert. Das Gewebehomogenat wurde auf Filterpapierplätt- chen aufgesaugt und anschließend paarweise nebeneinander, Embryo und Makrogametophyt aus dem entsprechenden Samenkorn, an der Startlinie im Stärkegel (Laufmedium) inseriert. Ungekeimtes Saatgut wurde für besondere Fragestellungen verwendet. Zur Analyse des Apicalmeristems wurden wahlweise 2-3 Triebknospen oder eine Blütenknospe (♂) zusammen mit dem Extraktionspuffer homogenisiert.

Tab. 3-5: Verwendete Extraktionspuffer

Interne Bezeichn.	Gewebe	Quelle	Änderung
HP 01	Embryo, Makrogametophyt	BERGMANN ^{a)}	pH 7,5
HP 15	Apicalmeristem	CHELIAK & PITEL 1984a	pH 7,5

a) mündl. Mitt.: 0,1M TrisHCl-Puffer (mit PVP u. EDTA)

Als Laufmedium für die angewandte **Horizontal-Gel-Elektrophorese** diente ein Stärkegel aus hydroly- sierter Kartoffelstärke (Biomol Nr. 07378) in einer Konzentration von 12% (w/v) bei den Trennpuffer- systemen A) und B) bzw. in einer Konzentration von 13% bei den übrigen Puffersystemen. Somit sind diese Gele als kleinporig einzustufen (WILLIAMS & WILSON 1984), was einen hohen Molekularsie- beffekt zur Folge hat. Einen Überblick über eingesetzten Trennpuffersysteme sowie die jeweiligen phy- sikalische Laufbedingungen gibt die nebenstehende Tabelle 3-6:

Tab. 3-6: Eingesetzte Trennpuffersysteme sowie physikalische Trennbedingungen

Trennpuffersysteme					Quellen	Gewebe	physik. Bedingungen		
Kürzel	EP ^{a)}	pH	GP ^{b)}	pH			U [V]	I [mA]	t [h]
A	LiOH / H ₃ BO ₃	8,1	Tris/Citrat	8,3	(2),(3)	Me	220*	50	6
B	NaOH / H ₃ BO ₃	8,6	Tris/Citrat	8,8	(3),(5)	Er, M	140*	50	6,5
C	Tris/Citrat	8,3	Tris/Citrat	8,3	(3) (4)	M, Me, Er	160	60*	6
D	Morpholin/Citrat	6,1	Morpholin/Citrat	6,1	(1)	M, Me, Er	190	50*	6

Erläuterungen:

a) Elektrodenpuffer

b) Gelpuffer

*) = konstant

Me - Apicalmeristem (Knospen)

M - Makrogametophyt

Er - Embryo

Quellen: (1) ADAMS et al. 1990

(2) ASHTON & BRADON 1961

(3) BERGMANN (mündl. Mitt.)

(4) EL-KASSABY et al. 1982

(5) POULIK 1957

Die Rezepte A) - C) wurden im wesentlichen in der von Herrn Dr. Bergmann, Göttingen, verwendeten Form übernommen und nur leicht modifiziert. Das in den vorliegenden Untersuchungen benutzte dis-

Tab. 3-7: Enzymdarstellung

Enzym-system	Trenn-system ^{a)}	Färbe-Rezept
GOT	A,B	YEH & O'MALLEY 1980
IDH	C	BERGMANN*; ADAMS et al. 1990
LAP	A,B	BERGMANN 1974
6-PGDH	C,D	BERGMANN*; ADAMS et al. 1990
SKDH	C	BERGMANN*; ADAMS et al. 1990

* mündl. Mitt.

a) vgl. Tab. 3-6

kontinuierliche Puffersystem A) unterscheidet sich von dem bei EL-KASSABY (1982) genannten durch eine stärkere EP-Konzentration, eine schwächere GP-Konzentration sowie durch die gewählten pH-Bereiche. Die von ADAMS und Mitarbeitern (1990) beschriebenen Rezepturen entsprechen hingegen weitgehend den eigenen. Lediglich für das Trennsystem B) wurde von den

genannten ein gleichbleibender pH-Bereich von 8,3 bevorzugt. Wie der Tabelle 3-6 zu entnehmen ist, wurden für Gewebe aus Knospen bzw. aus Saatgut zur Darstellung der Enzymsysteme GOT und LAP unterschiedliche Puffersysteme verwendet (vgl. Kap. 5.1.1.). Die Trennsysteme C) und D) gestatten eine Auftrennung der übrigen Enzymsysteme bei Extrakten aus allen drei Gewebetypen.

Die *spezifische Anfärbung* der einzelnen Enzymsysteme in den Gelen erfolgte mit den modifizierten Rezepturen der Autoren, die in Tabelle 3-7 aufgelistet sind, durch Inkubation der behandelten Gele im Wärmeschrank bei einer Temperatur von 37° C.

In Vorversuchen zur Klärung verfahrensbedingter bzw. gewebespezifischer Besonderheiten wurden Extrakte aus Makrogametophyt, Embryo und Knospengewebe nebeneinander im Laufmedium aufgetragen. Extrakte ein und desselben Materials wurden parallel unterschiedlichen Trennpuffersystemen ausgesetzt (s. Kap. 5.1.)

3.2.2. Mathematisch-statistische Verfahren

Allgemeine statistische Analysen der Datensätze erfolgten mit den Programmen "SPSS 6.1" (Institut für Waldbau, Wien) und "SAS 6.0" (Universität Karlsruhe). Für spezielle statistische Auswertungen der Genetik wurden die Programme GSED, Vers. 1.1 (GILLET 1994), sowie POPGEN, Vers. 1.21 (YEH et al. 1997), verwendet. Eine Übersicht über die eingesetzten Verfahren der einzelnen Programme gibt die Tabelle 3-8. Die zu der vorliegenden Arbeit herangezogenen genetischen Parameter wurden eingangs (Kap. 2.1.3.) besprochen, so daß nachfolgende Ausführungen auf mathematische Aspekte beschränkt bleiben.

Der Vergleich empirisch ermittelter Häufigkeiten mit einer vermuteten Verteilung wurde mit dem *Chi²-Anpassungstest* geprüft. Dieser setzt lediglich nominalskalierte Daten voraus und ist somit für genetische Merkmale anwendbar (KÖHLER et al. 1992). In Kapitel 5.1.5 wurde die Übereinstimmung der

beobachteten Segregation vermuteter Allele eines Genlocus mit der hypothetischen Mendel-Segregation⁶² (=Nullhypothese) auf einem Signifikanzniveau von $P=0,99$ getestet.

Der **Rang-Korrelationskoeffizient (r_s) von Spearman** prüft den Grad des stochastischen Zusammenhangs zwischen zwei Variablen (SACHS 1992, WEBER 1978). Als nicht parametrischer Test setzt er eine zumindest ordinale Skalierung des Datenmaterials voraus, welches beliebig stetig verteilt sein kann. In der vorliegenden Arbeit wurde r_s zur Bestimmung der Korrelation zwischen der Aktivität einzelner Isozym-Zonen des Enzymsystemes GOT und einem Parameter für den Entwicklungszustand des Keimlings verwendet (vgl. Kap. 5.1.1.). Geprüft wurde die Nullhypothese (H_0), daß keine positive bzw. negative Korrelation, sondern Unabhängigkeit besteht (einseitige Fragestellung).

Die Prüfung paarig angeordneter (d.h. abhängiger) Beobachtungen auf Zugehörigkeit zu einer Grundgesamtheit wurde mit dem **Wilcoxon-Test für Paardifferenzen** vorgenommen. Er verlangt zwar keine normalverteilten Differenzen, testet jedoch solche fast ebenso scharf wie der t-Test (SACHS 1992, S. 410). Zur Klärung der Unabhängigkeit von Aktivitäten verschiedener Teilzonen im Zymogramm von GOT-C in Kap. 5.1.1. ff. wurde der Wilcoxon-Test herangezogen, da die entsprechenden Messungen stets an ein und derselben Gewebeprobe vorgenommen wurden. Geprüft wurde die Nullhypothese (H_0), daß sich die mittleren Rangwerte der beiden Verteilungen nicht unterscheiden (zweiseitige Fragestellung).

Tab. 3-8: Verwendete Programme zur statistischen Datenauswertung

Fragestellung	Kapitel	Programm	Operationen
Normalverteilung	4.3.	SPSS	Komolgorov-Smirnov
Enzymaktivität / Entw., Zusammenhänge	4.3. / 5.1.1.	SPSS	r_s
Enzymaktivität / Entw.	5.1.1.	SPSS	Wilcoxon-Test f. Paardiff.
Referenzstrukturen	5.3.	SPSS	U-Test (Mann Whitney)
Mendel-Segregation	5.1.3.	SPSS	X^2
Datenverdichtung	4.3.	SPSS	Faktorenanalyse: Varimax
Abstammungsrekonstr.	4.3. /5.4.	SPSS	Clusteranalyse (hierar.): euklid.Distanz.
d, v, δ, H	5.2.	GSED	G, X^2 , genet. Parameter (vgl. Kap. 2.1.3.) (Göttinger Schule: z.B. GILLET 1994, GREGORIUS & ROBERDS 1986)

Homogenitätstests wurden zur Prüfung von Allelverteilungen herangezogen. Der **G-Test** nimmt das Verhältnis zweier Wahrscheinlichkeiten zur Prüfung der Anpassung zwischen beobachteter und erwar-

⁶² vgl. Kap. 2.1.2.

teter Häufigkeit (WEBER 1976). Die Nullhypothese lautet folglich: die vorgefundene Allelverteilung zweier zu vergleichenden Populationen sind homogen. Der G-Test ist besonders bei kleinen Stichprobengrößen dem X^2 Test vorzuziehen, da seine Prüfgröße in solchen Datenbereichen die bessere Anpassung an die X^2 Verteilung besitzt.

Zum Vergleich der Mittelwerte der Häufigkeiten von Allelen in den Referenzstrukturen wurde ein nicht parametrischer Test, der **U-Test** nach Mann Whitney gewählt. Er gehört zu den Rangsummentests und sollte nicht bei zu kleinen Stichprobenzahlen Anwendung finden (KÖHLER et al. 1992).

Zur Bestimmung der Form der Verteilung des Datenmaterials wurde der **Komolgorov-Smirnov-Test** eingesetzt. Dieser setzt zwar strenggenommen eine stetige Verteilung voraus, kann aber bei diskreten Verteilungen Anwendung finden. Er wird daher zu den nicht-parametrischen Tests gezählt (BÜHL & ZÖFEL 1996). Abweichungen von der Normalverteilung werden auch bei kleinen Stichprobenumfängen nachgewiesen (SACHS 1992).

Um eine größere Anzahl von z.T. abhängigen Merkmalen auf wenige, unabhängige Einflußgrößen (Faktoren) zu reduzieren, wird die **Faktorenanalyse** eingesetzt. Die herausgearbeiteten, möglichst einfachen Faktoren sollen die beobachteten Zusammenhänge weitgehend vollständig erklären und gut interpretierbar sein (HARTUNG & ELPELT 1989). In verschiedenen Arbeitsschritten werden die Daten transformiert, Korrelationskoeffizienten errechnet und damit Matrizen aufgestellt. Als Ergebnis stehen „Eigenwerte“ von Faktoren fest, die durch „Eigenvektoren“ näher bestimmt sind. Elemente der Eigenvektoren sind die Faktorladungen, welche als Korrelationskoeffizienten zwischen den Faktoren und den betreffenden Variablen verstanden werden können (BÜHL & ZÖFEL 1996). Es werden üblicherweise so viele Faktoren extrahiert, wie Eigenwerte mit einem Wert größer 1 vorliegen. Im Falle der Operationen zur Abstammungsrekonstruktion mittels morphologischer Merkmale der Knospen (Kap. 4.3.) wurden stets so viele Faktoren extrahiert, daß damit kumulativ 100% der vorliegenden Varianzen erklärt werden konnten. Die Eigenwerte der zusätzlichen Faktoren lagen stets nahe 1, in einem Fall (Gesamter Datensatz) bei 0,55. Die Faktoren wurden mit dem Verfahren der Hauptkomponentenanalyse unter Einsatz der Varimax-Methode erzeugt. Letztere ist eine Methode zur orthogonalen Rotation von Faktoren, die iterativ erfolgt (HARTUNG & ELPELT 1989). Bei den Operationen zu Kapitel 4.3. wurden jeweils 5 bzw. 6 Iterationen benötigt. Die resultierenden Faktoren der rotierten Faktor-Matrix wurden bei der Interpretation mit Bezeichnungen versehen und finden im jeweiligen Kapitel eine gesonderte Darstellung.

Die **Clusteranalyse** ist ein Instrument, um anhand vorgegebener Variablen eine Menge von Objekten zu strukturieren. Dabei sollen die gebildeten Klassen in sich homogen sein und sich von den anderen Klassen deutlich unterscheiden (Heterogenität zwischen den Klassen: HARTUNG & ELPELT 1989). Im Falle der Abstammungsrekonstruktion mittels morphologischer Merkmale (Kap. 4.3.) wurden als Eingangsgrößen die transformierten Variablen der jeweils vorgelagerten Faktorenanalyse gewählt. Als Ähnlichkeitsmaß wurde der quadrierte Euklidische Abstand⁶³ zwischen den Faktoren verwendet, das Fusionsverfahren erfolgte hierarchisch (BÜHL & ZÖFEL 1996). Die Ergebnisse der Clusteranalyse wurden als Dendrogramme dargestellt.

3.2.3. Dokumentation

Während die untersuchten Saatgutproben durch den Herkunftsschlüssel und die untersuchten Versuchspflanzen durch die Unterlagen der Provenienzversuche hinreichend charakterisiert sind, war es für

⁶³ Der Euklidische Raum ist ein n-dimensionaler, strukturierter Vektorraum (BRONSTEIN & SEMENDEJAJEV 1989). Der n-dimensionale Charakter der künstlichen Variablen aus der Faktorenanalyse wird optimal ausgenutzt.

die untersuchten Douglasien-Altbestände erforderlich, die Lage der beernteten Bäume auf **Grobskizzen** festzuhalten. Anhang A.I-2a zeigt eine solche Grobskizze zusammen mit Lage-Skizzen A.I-2b)-c) am Beispiel des Bestandes B03 ("Münstertal X.1"). Darüberhinaus erfolgte eine Numerierung mit gelber Farbe an den entsprechenden Bäumen. Die Nummern wurden in Brusthöhe auf der leicht entschuppten Borke so angebracht, daß sie von den Wegen nicht einsehbar sind, um die Waldbesucher nicht unnötig zu verunsichern.

Alle Endergebnisse (Zymogramme) wurden in Zeichenprotokollen festgehalten. Diese Zeichenprotokolle enthalten auch Angaben über die Wanderstrecke (in mm) von Banden und einem Frontmarker (Brom-Phenol-Blue, SERVA-Nr. 15375) sowie die daraus berechneten "rm"- und "rf"- Werte. Die letztgenannten dienen zum Wiedererkennen von Banden unter gleichen oder veränderten physikochemischen Laborbedingungen. Beide Werte stellen Dezimalwerte dar, welche als Quotienten aus der Wanderstrecke einer fraglichen Bande und der Wanderstrecke - entweder der häufigsten Bande eines Genlocus (→ **rm**) oder des Frontmarkers (→ **rf**) - als Bezugs-Standard gebildet werden. Allerdings führt diese Standardisierung keineswegs zu allgemeingültigen Werten, vielmehr handelt es sich um verfahrensspezifische Charakteristika, die von Methode zu Methode schwanken können (vgl. Kap. 5.1. sowie CHELIAK & PITEL 1984a, S. 15 ff.).

Bei der Nomenklatur der einzelnen Isoenzyme wird üblicherweise für die "schnellsten" (anodischen) Markerloci die kleinste (arabische) Nummer vergeben, desgleichen gilt für die schnellsten Allozyme⁶⁴ eines Markergenlocus. Die Nummer des Markergenlocus erscheint direkt hinter dem Kürzel für das Enzymsystem, die Nummer des Allozyms wird mit einem Bindestrich daran angehängt. Alternativ zu der Nummer der Allozyme wird deren "rm"-Wert angehängt. Unter Botanikern ist zunehmend die hochgestellte Schreibweise der "rm"-Werte, direkt hinter den Nummern der Loci zu registrieren (vgl. WERTH et al. 1993). In Europa hingegen werden große lateinische Buchstaben zur Bezeichnung der Markergenloci verwendet, die durch Bindestrich mit dem Kürzel für das Enzymsystem verbunden werden. Der Buchstabe "A" wird hierbei analog dem "schnellsten" Locus zugeordnet (ROTHE 1994). Die Nummern der Allozyme können direkt an die Buchstaben der Loci angehängt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die europäische Schreibweise verwendet; Zymogramm-Teilzonen ein und desselben Mendelgen-Locus wurden mit hochgestellten römischen Zahlen bezeichnet.

Neben zeichnerischen Protokollen wurde eine Auswahl an Zymogrammen zusätzlich photographisch oder densitometrisch dokumentiert. Außerdem wurde eine Anzahl der Gele auf Filterpapier (Schleicher & Schüll Nr. 2208; Ref.Nr. 342494) im Trockenschrank bei +37 °C (Umluft) getrocknet und mit Klarsichtfolie eingebunden.

Die fotografischen Aufnahmen erfolgten mit einer Kamera vom Typ "LEICA-Flex SL", ausgestattet mit einem Objektiv "Makro-Elmarit-R" (60 mm), im Gegenlicht eines DIA-Betrachtungstisches, dessen Lichtquelle zwei 8 Watt Neonröhren bildeten. Als Filmmaterial wurde "FUJI Chrome (100 iso)" eingesetzt.

⁶⁴ Zu beachten ist beim Literaturvergleich, daß in älteren Arbeiten oft die kleinste Nummer für die "langsamsten" (kathodischen) Allozyme eingesetzt wurden (vgl. HATTEMER et al. 1993, S. 96). Bei der Douglasien-Literatur gilt diese Feststellung für Arbeiten, die vor 1980 erschienen sind.

Für die Densitometrie⁶⁵ stand ein Helium/Laser-Densitometer⁶⁶ vom Typ "2222-020 UltraScan XL" der Firma Pharmacia LKB (Freiburg) mit passender Hard- und Software⁶⁷ zur Verfügung. Der Laser-Densitometer besitzt ein Auflösungsvermögen von 40 µm sowie eine Fokustiefe bis zu 3 mm. Er konnte daher zum Vermessen der Wanderstrecken einzelner Banden ebenso wie zur Aktivitätsmessung der Isozym-Markerloci herangezogen werden, obwohl es sich um feuchte Stärkegel-Zymogramme mit einer Dicke von bis zu 2mm handelte (vgl. WESTERMEIER et al. 1988). In Einzelfällen wurde das hohe Auflösungsvermögen des Densitometers zur Identifikation von Banden-Triplets heterozygoter Merkmalsträger verwendet.

⁶⁵ Bei der Densitometrie werden Lage und Extinktionswerte (Lichtabsorption) einer definierten Lichtquelle an verschiedenen Punkten entlang einer Laufstrecke gemessen. Das Ergebnis ist ein Kurvendiagramm (Densitogramm).

⁶⁶ Wellenlänge = 632,5 nm

⁶⁷ Programm: GelScanXL © Pharmacia LKB.

4. Ergebnisse der morphologischen Studien

Ergebnisse der Untersuchung morphologischer Merkmale von Knospen der Douglasie werden in diesem Kapitel vorgestellt. Die nachfolgenden Abbildungen illustrieren die Variation der auffälligsten Merkmale, der Knospenform sowie der Knospenfarbe. Abbildung 4-1 zeigt Beispiele für Endknospen. Links außen sind zwei dunkelbraune, kegelförmig gedrungene Knospen zu sehen; die Knospenschuppen stehen etwas ab. In der Mitte finden sich rotbraune, eiförmig-spitze Knospen mit anliegenden Knospenschuppen. Ganz rechts ist eine hellbraune, langgestreckt-kegelspitze (pfriemliche oder spindelförmige) Knospe der *Var. glauca* abgebildet, die fast einer Buchenknospe ähnlich sieht. Abbildung 4-2 zeigt die Form einer eiförmig-gedrungenen Knospe. Abstehende Knospenschuppen sowie teilweiser Reifüberzug kennzeichnen diesen Knospentyp. Der Unterschied zwischen dem hier abgebildeten Beispiel vom Gipfelreis der grauen Douglasie (links) im Vergleich zu einer Knospe der blauen Douglasie (rechts) von einem Seitenzweig des unteren Kronenbereiches (Lichtkrone) ist offensichtlich. Knospen vom Gipfelreis der blauen Varietät vermitteln übrigens den Eindruck langgezogener „Dorne“ und dies bei dann vergleichbaren Dimensionen!

Theoretisch ist eine beliebig große Zahl an Farb- oder Formtypen unterscheidbar. Als wirkungsvoll bei der Bearbeitung des Materials hat sich jedoch die vorgenommene Unterscheidung der in Kap. 3.1.1. dargestellten Haupt-Merkmalgliederung erwiesen. Auf beobachtete Schwierigkeiten der Anwendung wird gesondert eingegangen. Beobachtungen bezüglich anderer morphologischer Merkmale (z.B. Nadelfarbe) werden fallweise mitgeteilt.

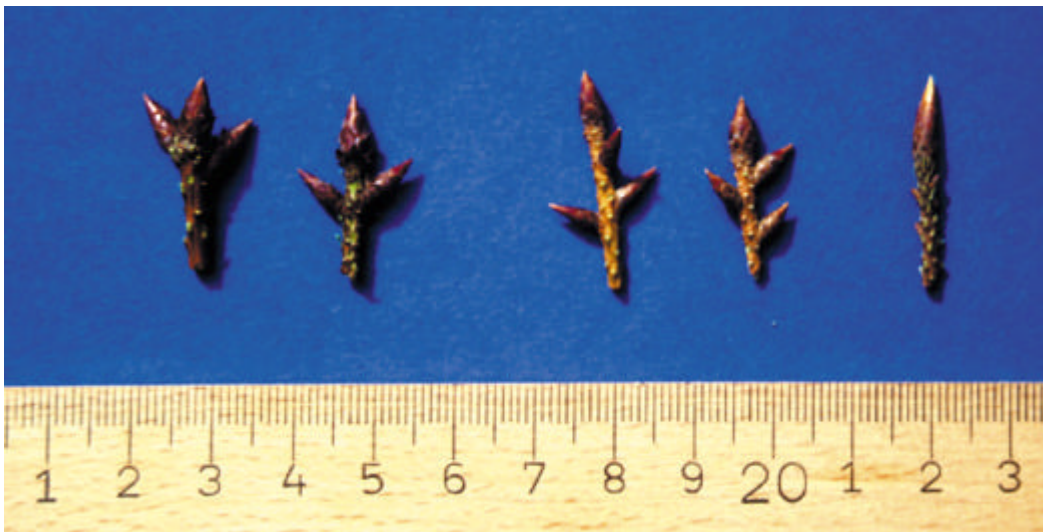


Abb. 4-1: Beispiele von Form- bzw. Farbtypen der Endknospe an Zweigen erster und zweiter Ordnung von *Pseudotsuga menziesii*. v.l.n.r.: dunkelbraun, kegelförmig-gedrungen (2x); rotbraun, eiförmig-spitz (2x) und hellbraun, kegelförmig spitz. (coll. Klumpp 1998)

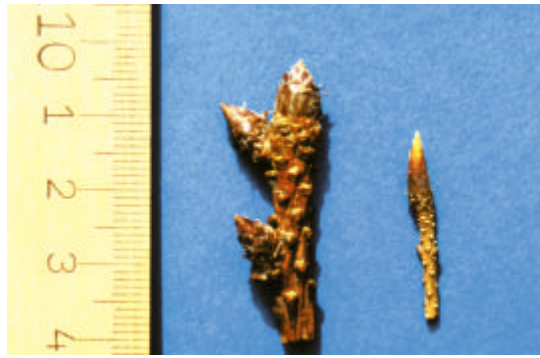


Abb. 4-2: Beispiele von Formtypen der Endknospe bei der Douglasie (vgl. Text): „eiförmig-gedrungen“ (links) und „langgestreckt-kegelförmig“ (rechts).

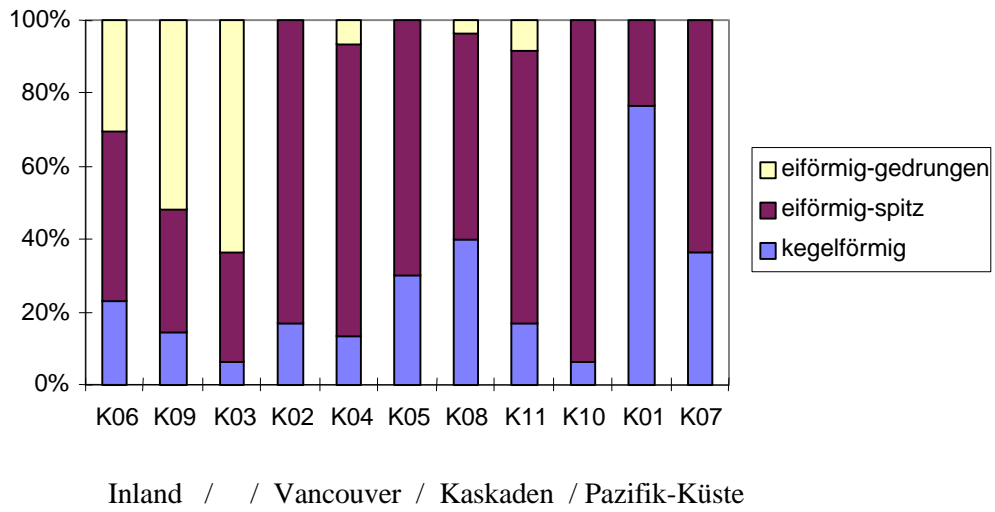
4.1. Morphologische Merkmale von Vergleichsherkünften

Anhand der in dieser Arbeit berücksichtigten Versuchsglieder aus dem Provenienzversuch Steinheim sowie aus kontrollierter Anzucht von amerikanischen Provenienzen wurde versucht, die Variation im Aussehen der Knospen zu beschreiben. Die Originaldaten bezüglich Form und Farbe sind im Anhang zu finden (Tab. A.II-2a).

Die Abbildung 4-3 zeigt die Vergleichsprovenienzen in einer Ordnung von Ost nach West bzw. Nord nach Süd (vgl. auch Anh. II-2a), d.h. links außen finden sich die beiden Inlandprovenienzen K06 und K09, gefolgt von einer Population aus dem Westteil des Fraser-Tales (K03). Danach sind die drei Provenienzen aus Vancouver (K02, K04, K05) in Nord-Südrichtung aufgelistet. Es folgen die Provenienzen aus dem Kaskaden-Gebirge (K08, K10, K11) sowie diejenigen aus Küstennähe (K01, K07). Bei den Inlandspopulationen fällt der hohe Anteil (**eiförmig-) gedrungener** Knospen auf, der sich zwischen 30 und 52% bewegt und von der am Osthang des Küstengebirges wachsenden Populationen „d’Arey“ (K03) noch übertroffen wird (76,7%). Bei allen anderen Proben (Abb. 4-3, Tab. 4-1) bewegt sich der Anteil dieser Knospenform zwischen 3% (K04: Courtenay) und 8% (K11: Greenwater). Hierzu muß bemerkt werden, daß die Klasse „gedrungen“ in der vorliegenden Auswertung auch das Zwischenmerkmal „eiförmig“ enthält. Bis auf eine Ausnahme sind alle Individuen der Küstenvarietät in dem hier untersuchten Material, das in diese Klasse fällt, Träger des Zwischenmerkmals.

Hohe Anteile „**kegelförmiger**“ Knospen (Abb. 4-3) finden sich hauptsächlich in den Küstenprovenienzen Washingtons, nämlich zwischen 38% (K07: Humptulips) und 78% (K01: Soleduck River). In den Populationen der Cascade-Range streuen die entsprechenden Anteile zwischen 7% (K10: Cispus River) und 40% (K08: Darrington) und auf Vancouver Island finden sich Werte zwischen 13,3% (K04: Courtenay) und 30% (K05: Duncan). In den Inlandspopulationen sowie bei der Provenienz aus dem Frasertal schwanken die Werte von 6,7% (K03) bis 23,3% (K06). Die Zwischenform „ei-bis-kegelförmig“ wird in dem vorliegenden Material ausschließlich in den küstennahen Populationen (K01, K07) gefunden.

Knospenform



Knospenfarbe

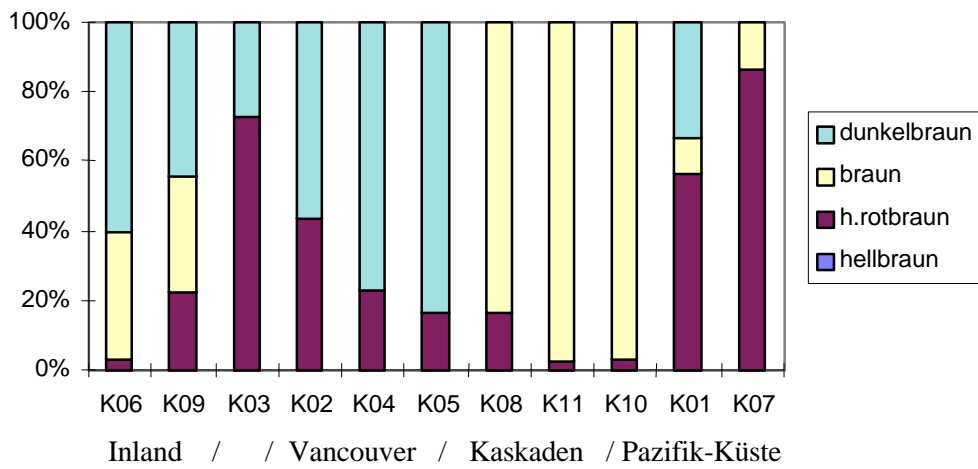
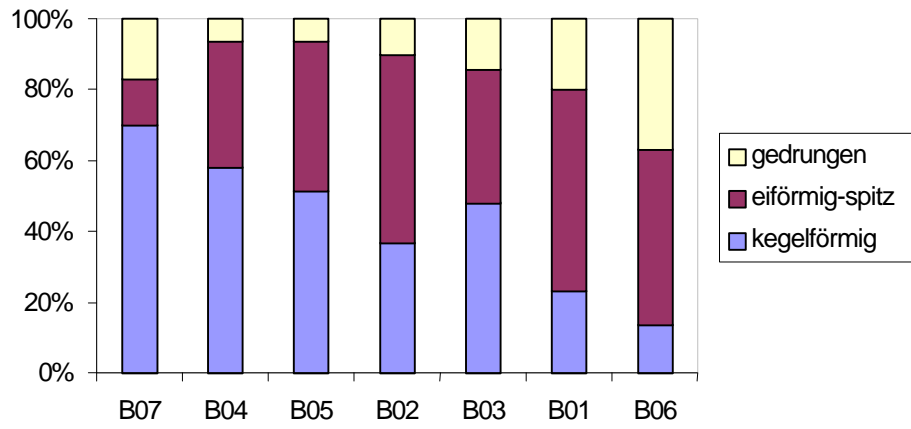


Abb.4-3: Knospenmorphologie von Vergleichsprovenienzen, angezogen in Baden-Württemberg
(zur Bezeichnung vgl. Tab. 3-2)

Knospenform



Knospenfarbe

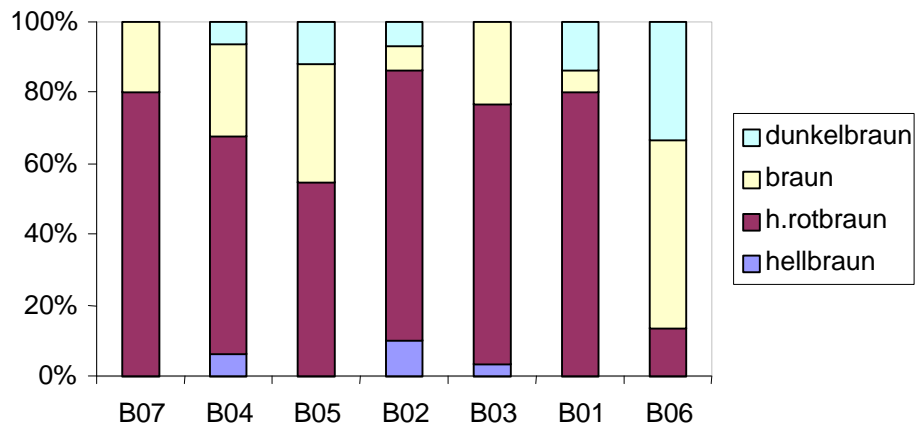


Abb.4-4 Knospenmorphologie badischer Altbestände
(zur Bezeichnung vgl. Tab. 3-3)

Die Form „**eiförmig-spitz**“ dominiert in den Küstenpopulationen von Vancouver Island (K02, 04, 05) und den Populationen aus der Cascade-Range von Washington (K08, 11, 10). Diese Klasse enthält die Zwischenform „ei-bis-kegelförmig“ in kleineren Anteilen. Interessant erscheint bei den letztgenannten Gruppen die Häufung des Merkmales „kegelförmig“ im Bereich um den Puget-Sound (Provenienzen K05 und K08).

Die Abbildung 4-3 zeigt im rechten Teilbild die Variation der Farben. In den Populationen aus British Columbia dominiert ein dunkler Branton zwischen 26,7% (K03: d’Arey) und 83,3% (K05: Duncan), der mit einem kupferfarbenen wirkenden Rotbraunton kombiniert vorliegt. Dieser erreicht Werte zwischen 3,3% und 22,2% in der Inlandsdouglassie sowie Werte zwischen 16,7% und 73,3% in Populationen der Insel Vancouver. Die Provenienzen der Cascade-Range (K08-K10) weisen zu 83,3% bis 97,2% einen Branton auf, die restlichen Individuen dieser Deme wurden als „rotbraun“ klassifiziert. Die Küstenpopulationen Washingtons präsentieren sich durch das Rotbraun geprägt (56,7-83,3 %), Braun und Dunkelbraun treten in geringeren Anteilen auf. Interessant ist hier, daß der Farbton „Hellbraun“ in dem Vergleichsmaterial nicht auftritt. Der Verfasser der vorliegenden Arbeit konnte durch Beobachtung in Arboreten feststellen, daß dieser Farbton bei der Varietät „glauca“ häufig ausgeprägt wird.

Die Ergebnisse der morphologischen Studien an Vergleichsprovenienzen können in nachfolgender Tabelle 4-1 zusammengefaßt werden. Dabei wird die in den Deme der unterschiedlichen Regionen beobachtete Streubreite der Anteile von Trägern des jeweiligen Merkmales in Prozentwerten ausgedrückt.

Wie die Tabelle zeigt, überlappen sich die Wertebereiche, besonders in benachbarten Ursprungsregionen. Insgesamt können „viridis“- Provenienzen der Küstenregion als überwiegend (hell-) rotbraune, kegelförmige Knospen, solche von nördlichen Inlands-Populationen mit dunkelbraunen bis braunen, eiförmig-gedrunenen bis eiförmigen-spitzen Knospen beschrieben werden. Bei den übrigen „viridis“- Provenienzen des vorliegenden Materials dominieren eiförmig-spitze Knospen wobei die hier unterschiedenen Farben in ihrer Ausprägung zu wechseln scheinen, hellbraune Farbtöne jedoch gänzlich fehlen (Tabelle 4-1).

Tab. 4-1: Morphologische Charakteristika der Knospen von Douglasie aus dem nördlichen Teilareal: Merkmalsträger in Prozentanteilen

Merkmale	Ursprungs -Regionen			
	Inland-Nord	Vancouver	Cascade-Range	Paz.-Küste
Formen				
kegelförmig	15-23	13-30	6-40	36-77
eiförmig-spitz	33-47	70-83	57-94	23-63
gedrunen	30-52 (63)	0-7	0-8	-
Farben				
hellbraun	-	-	-	-
h.rotbraun	3-22	23-73	3-17	55-86
braun	33-36	-	83-97	10-13
dunkelbraun	44-60	27-77	-	0-33

Erläuterungen: Dominierende Merkmale herausgehoben; Angaben in Prozent.

Zusätzlich wird bemerkt, daß die Stichprobe Nr. K06 und K09 durch einen deutlich ausgeprägten **Wachsüberzug** auffallen, der etwa auf 87% der Individuen zu beobachten ist. Er findet sich in Häufigkeiten zwischen 13 und 46% in den übrigen Populationen aus British Columbia, nur vereinzelt (K 11) jedoch in den Provenienzen aus Washington. Dort treten in einigen Stichproben Knospen auf, welche nur stellenweise, meist an der lichtexponierten Seite, kleine Wachsflächen besitzend. Die küstennahen „viridis“-Provenienzen K07 (Humptulips) und K01 (Soleduck River) zeigen dieses Merkmal an 36% bzw. 53% der untersuchten Individuen ebenso wie die Provenienzen K08 (Darrington: 3,3%), K11 (Greenwater: 8,3%) oder K10 (Cispus River: 34,4%).

Die übrigen Merkmale der Datenerhebung, etwa abstehende Knospenschuppen, erwiesen sich bei dem vorliegenden Pflanzenmaterial bzw. unter Beachtung der verfügbaren Arbeitsmittel (vgl. Kap. 3.1.1) als wenig geeignet für die Ausscheidung von Einzelkriterien.

4.2. Morphologische Knospenmerkmale badischer Altdouglasienbestände

In Abbildung 4-4 ist die Merkmalsausprägung an den Knospen der hier untersuchten Altbestände der Douglasie zu sehen. Die Bestände sind nach ihrem abnehmenden Anteil von Trägern kegelförmiger bzw. zunehmenden Anteil gedrungener Knospen gereiht. Die Originaldaten sind im Anhang aufgelistet (Tab. A.II-2b).

Es fällt zunächst der Bestand in Britzingen ins Auge, der mit wenigen Merkmalen beschrieben werden kann: überwiegend kegelförmige, hellrotbraune Knospen. Tatsächlich bietet dieser Bestand im gesamten Erscheinungsbild ein gleichförmiges Aussehen. Seine Benadelung ist einheitlich mit einem frischen Grün zu beschreiben. Der überraschend hohe Anteil der Merkmalsklasse „gedrungen“ entsteht durch Träger ausschließlich von eiförmigen Knospen (Zwischenmerkmal: vgl. Kap. 4.5.). Der Bestand kann theoretisch mit den küstennahen Populationen K07 oder K01 verglichen werden (Abb. 4-3). Ein Hinweis, der durch die ausschließlich vorhandenen Farbtöne Rotbraun und Braun noch unterstrichen wird.

Die Bestände aus Freiburg und Kandern zeigen die geringsten Anteile der Formenklasse „(eiförmig-) gedrungen“. Während die beiden Freiburger Populationen je ein Individuum mit gedrungenen Knospen aufweisen, finden sich in der Probe aus Kandern nur Knospen des Zwischenmerkmals „eiförmig“. Die Anteile der kegelförmigen Knospen erreichen jedoch ebenfalls hohe Werte, wie sie eigentlich am Vergleichsmaterial aus dem Bereich der Pazifik-Küste zu finden ist (vgl. Abb. 4-3). Hierfür spricht auch der hohe Anteil rotbrauner Knospen, der mit den beiden dunkleren Farbtönen zu maximal 45% kombiniert auftritt, wie dies bei dem Bestand Freiburg V,15 der Fall ist. Interessant ist bei den Beständen Freiburg I,3 und Kandern das Auftreten des hellbraunen Farbtones. Solche Knospen fühlen sich meist filzig an, da die Ränder der Knospenschuppen z.T. ausgefranst sind und auch die Oberfläche nicht glatt ausgebildet wird. Knospen dieser Form und Farbe waren in den Proben der Vergleichsprovenienzen nicht zu finden, was bei der Argumentation für eine Abstammungsrekonstruktion besonders bedacht werden muß (s.u.). Nur für den Bestand Freiburg V,15 können folglich Parallelen zu den Provenienzen aus der Nähe der Pazifik-Küste festgestellt werden (z.B. K01: Abb. 4-1).

Die Bestände aus Sulzburg und Münstertal verfügen über annähernd gleiche Anteile des Knospentyps „eiförmig-gedrungen“ zwischen 17% (Sulzburg) und 20% (Münstertal), wobei der Anteil des Zwischenmerkmals „eiförmig“ in dem Bestand Münstertal überwiegt. Der noch bemerkenswerte Anteil kegelförmiger Knospen, kombiniert mit dem erwähnten Anteil gedrungener Formen läßt Parallelen zu den

Vergleichs-provenienzen aus den Kaskaden (z.B. K11) aufkommen. Dies gilt besonders für den Bestand in Münstertal, der außerdem über nennenswerte Anteile des Farbtones Braun (23,3%) verfügt, der in den betreffenden Vergleichsprovenienzen stark vertreten ist. Der Sulzburger Bestand hingegen erinnert von seinem Formenmuster an die Provenienz K04 von der Insel Vancouver, wobei besonders das Farbenmuster mit seinem nennenswerten Anteil des dunkelbraunen Farbtones als Indiz gewertet werden kann. Bei der Population Münstertal ist das Auftreten hellbrauner, z.T. filziger Knospen an einem Individuum zu beachten, das, wie bereits erwähnt, nicht in den Vergleichsprovenienzen beobachtet worden war und daher Anlaß für weitere Untersuchungen sein muß. Die Individuen dieses Bestandes vermitteln auch in der Summe den Eindruck von durch hellere Brauntöne gezeichneten Knospen, wie das in der Abbildung 4-7 zum Ausdruck kommt.

Der Bestand Heidelberg I,25 hingegen zeigt bemerkenswerte Ähnlichkeiten mit der „caesia“- Provenienz K06. Dies trifft nicht nur für das Formenmuster zu, welches ähnlichen Anteile aller drei Formenklassen aufweist (!), sondern auch für das verblüffend ähnliche Farbenmuster. Der Bestand zeigt mit 37% den höchsten Anteil gedrungener Knospen im Formenmuster und liegt damit eindeutig innerhalb des in Tabelle 4-1 genannten Wertebereiches für Populationen aus dem nördlichen Inland.

Zur Nadelfarbe verbleibt zu bemerken, daß diese am Vergleichsmaterial nicht erhoben wurde (vgl. Kap. 4.1.), da dort immerhin fünf Provenienzen nur über Baumschulmaterial repräsentiert waren (vgl. Kap. 3.1.1.). Bei den badischen Altbeständen war der einheitlich wirkende Farbton der Bestände Britzingen (frisches Grün) und Münstertal (Grün) augenfällig. Bei den anderen Beständen fanden sich immer wieder verschiedene Farbtöne, die bei der Wiederholung der Beerntung im Jahre 1990 freien Auges zu 70-90% identisch klassifiziert wurden. So fanden sich Grautöne zu jeweils etwa 23% in beiden Beständen aus Freiburg, zu über 40% jedoch im Bestand Heidelberg I,25! Darüber hinaus wurde vereinzelt ein tiefdunkles Tannengrün beobachtet (Heidelberg, Freiburg I,3). Die vielfältigen Übergänge der Farbtöne machen eine Klassifizierung ohne Farbtafeln unmöglich, so daß eine nähere Analyse unterblieb.

4.3. Mathematische Betrachtungen zur provenienztypischen Strukturierung morphologischer Merkmale

Die Darstellungen der Abbildung 4-3 sowie der Tabelle 4-1 machen deutlich, daß offensichtlich bestimmte Merkmalskombinationen von Form und Farbe der Knospen typisch sind für bestimmte Regionen des natürlichen Vorkommens der Douglasie. Es stellen sich daher folgende Fragen:

- A) In welcher Weise können die einzelnen Merkmalsausprägungen zu wirksamen Unterscheidungskriterien kombiniert werden?
- B) Ist eine eindeutige Zuordnung der badischen Altbestände aufgrund solcher Merkmalskombinationen möglich?

4.3.1. Typische Merkmalsstrukturen für Regionen der Vergleichsprovenienzen

Zur Beantwortung der ersten Frage wurde ein Datensatz aufgebaut, der jeweils drei Ausprägungen der Merkmale Knospenform und Knospenfarbe als Variablen enthält. Der Farbton Hellbraun wurde bei den Vergleichsprovenienzen nicht beobachtet und bleibt hier daher außerhalb der Betrachtung (vgl. Abb. 4-3). Die

verfügbaren 11 Vergleichsprovenienzen werden also mit Hilfe der Häufigkeiten einzelner Variablen beschrieben. Die Kombination der Variablen soll dann mittels Faktoranalyse¹ vorgenommen werden.

Zunächst wurde untersucht, welche der sechs Variablen für die Beschreibung provenienztypischer Knospenmerkmale am wirksamsten sind. Die durchgeführte Hauptkomponentenanalyse erlaubte die Bildung von vier Faktoren, welche jeweils zwischen 38,4 und 13,4 %, in Summe aber 100% der in diesem Datensatz vorhandenen Varianzen erläutern können (Tab. 4-2).

Tab. 4-2: Faktoranalyse der Vergleichsprovenienzen: Verwendete Variablen sowie Eigenwerte und Erklärungsfähigkeit der extrahierten Faktoren

Variable	Faktor-Nr.	Eigenwerte	Anteil an Gesamtvarianz [%]	kumulativer Anteil d. Var. [%]
braun	1	2,30377	38,4	38,4
dkbraun	2	1,51536	25,3	63,7
eispitz	3	1,37938	23,0	86,6
gedrungen	4	0,80150	13,4	100
kegelförmig	5	0	0	100
h.rotbraun	6	0	0	100

Den Zusammenhang mit den „Ursprungsvariablen“ erläutert die Tabelle 4-3, welche die Faktorladungen der jeweiligen Eigenvektoren auflistet.

Tab. 4-3: Rotierte Faktormatrix: Eigenvektoren der extrahierten Faktoren

Variable	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4
gedrungen	,91535	,05987	,07141	-,39172
eiförmig-spitz	-,85844	,04994	-,20421	-,46786
dkbraun	,02062	,99118	-,12257	-,04603
braun	-,12469	-,77306	-,61689	-,07918
h.rotbraun	,14718	-,02579	,97600	,15842
kegelförmig	,04036	-,01042	,15595	,98689
Bezeichnung:	Inlandsfaktor	BC-Faktor	Allgem. Viridis Faktor	Pazifik Faktor

Die bedeutendsten Variablen sind die Formen „gedrungen“ und „eiförmig-spitz“, welche generell hohe Faktorladungen aufweisen (Tab. 4-3). So wird der Faktor 1 durch die Form „gedrungen“ mit dem Wert 0,91535 geladen und auch die Merkmalsausprägung „eiförmig-spitz“ ist mit diesem sehr eng korreliert, allerdings

¹ vgl. Kap. 3.2.2.

negativ. Damit kann der Faktor 1 als „Inlandsfaktor“ bezeichnet werden, da er von der Form gedrunge dominiert wird. Seine Rolle bezüglich der zweiten, bedeutenden Variablen wird später bei der Clusteranalyse genauer erörtert. Der zweite Faktor wird als BC-Faktor bezeichnet, da er den Farbton „dunkelbraun“ als prägende, eng korrelierte Variable enthält. Dieser Farbton dominiert in den Populationen aus British-Columbia (vgl. Abb. 4-3). Auch bei diesem Faktor trägt eine zweite Variable des gleichen Merkmals, der Farbton „braun“ mit einer hohen (negativen) Ladung zum Eigenvektor bei (Tab. 4-3).

Von geringerer Bedeutung sind die Variablen für den Farbton „Hellrotbraun“ (= „kupferfarben“) und die Form „kegelförmig“. Erstere bestimmt den Faktor 3 wesentlich, daneben zeigt der Farbton „Braun“ eine hohe (negative) Faktorladung. Wie die Abbildung 4-3 zeigt, findet sich der Farbton „Hellrotbraun“ in unterschiedlichen Häufigkeiten bei den Küstenvarietäten und in überraschend hohen Anteilen bei K03 aus dem Frasertal. Gerade noch nennenswert ist die Ladung der Form „kegelförmig“ für diesen Faktor, der als „Allgemeiner-Viridis-Faktor“ bezeichnet wird. Der vierte Faktor wird als „Pazifik-Faktor“ bezeichnet. Er wird durch die hohe Faktorladung der Variablen „Kegelform“ geprägt, bei gleichzeitiger negativer Korrelation mit den übrigen Merkmalsausprägungen „eiförmig-spitz“ und „gedrunge“. Schließlich weisen die beiden Provenienzen K01 und K07 überwiegend hellrotbraune, kegelförmige Knospen auf!

Als letzter Schritt wurde eine Clusteranalyse mit den genannten vier Faktoren durchgeführt. Sie sollte klären, wie weit eine derartige, mittels Faktoranalyse vorgenommene, Merkmalskombination sinnvolle Beschreibungen bzw. Gruppierung von Populationen ermöglicht.

Die Clusteranalyse (Abb. 4-5) gruppiert die Cascaden-Populationen K08, K10 und K11 ebenso separat zusammen wie jeweils die Populationen aus Vancouver oder die Inlandsprovenienzen K06 und K09. Interessant ist der Abstand der Provenienz K08 (Darrington) zu den übrigen Cascaden-Populationen. Die Stichproben aus Vancouver werden relativ gleichmäßig zusammengefasst. Allerdings bilden sie keine gemeinsame Obergruppe mit den übrigen Küstenprovenienzen sondern, auf mittlerem Abstandsniveau, eine Gruppe innerhalb einer Hauptgruppe, die sich als „nördliche und östliche Provenienzen“ beschreiben lässt und aus den genannten drei Gruppen besteht. Die Provenienz aus dem Frasertal (K03) clustert auf hohem Abstandsniveau als nächste an die erwähnte Hauptgruppe, mit weitem Abstand folgen die Populationen aus dem Bereich der Pazifikküste (K07, K01).

Obwohl mit nur 11 Vergleichsprovenienzen ein relativ kleiner Datensatz vorliegt, der, wie unten erläutert wird, noch andere Schwächen hat, so ist dennoch mit den gewählten Faktoren eine befriedigende Gruppierung der Populationen möglich, die der Lage im natürlichen Areal der Douglasie entspricht. Bestimmte Eigenheiten, wie die Zuordnung von K03 oder die Einordnung der Inlandspopulationen kann auf den kleinen Datensatz zurückgeführt werden. Die Gruppierung der Provenienz K03 beispielsweise erfolgt offensichtlich auf Grund des „Viridis“-Faktors (vgl. Abb. 4-3), der die drei Populationen (i.e. K03, K01, K07) mit der höchsten Ausprägung des Hauptmerkmals „Hellrotbraun“ zusammenführt. Während der „Pazifik-Faktor“ zu einer deutlichen Distanz zwischen K03 und den beiden Pazifik-Provenienzen K07 und K01 führt. Größere Anteile des Farbtones „Braun“ (negativ korreliert im BC-Faktor !) kennzeichnet im vorliegenden Vergleichsmaterial die Populationen der Kaskaden und des Inlandes, die eine gemeinsame Obergruppe in der Hauptgruppe „Nördliche und östliche Provenienzen“ bilden. Der geringe Anteil dieser Farbmerkmalsträger in der Provenienz K03 lässt diese aus jener Gruppe ausscheiden.

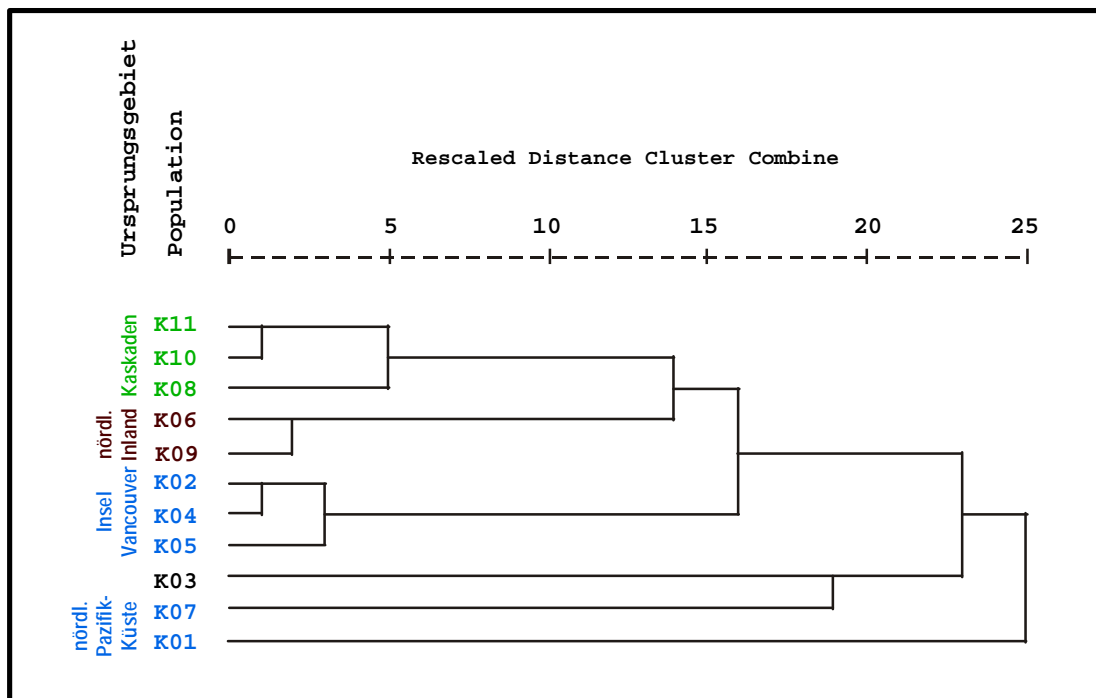


Abb. 4-5: Dendrogramm der Clusterung von Vergleichsprovenienzen auf der Basis kombinierter morphologischer Merkmalsmuster

Da mit K03 nur ein Vertreter aus dem Frasertal im Datensatz vorliegt, führt dies offensichtlich zu einer gewissen Schiefe der Daten bzw. des Eigenvektors von Faktor 1, dem Inlandsfaktor. Die leicht positive Korrelation (Faktorladung +0,14718; vgl. Tab 4-3) mit der Variablen „Hellrotbraun“ ist auf den Einfluß der Provenienz K03 zurückzuführen. Da die Bestimmung der Knospensfarbe durch die Verwendung von zu feuchtem Material beeinflusst sein kann, wäre hier die Erweiterung der Studie auf eine größere Anzahl von Inlands- und Übergangsprovenienzen wünschenswert.

Der deutliche Abstand von K08 innerhalb der Cascaden-Gruppe läßt sich auf unterschiedliche Formzusammensetzungen² zurückführen (vgl. Abb. 4-3). Der Pazifik-Faktor wiederum führt zur leichten Differenzierung zwischen K05 (Duncan) und den übrigen Populationen der Insel Vancouver. Die Provenienzen Duncan verfügt über vergleichsweise hohe Anteile kegelförmiger Knospen bei gleichzeitig geringem Anteil hellrotbrauner Merkmalsträger.

4.3.2. Ursprungsrekonstruktion mittels morphologischer Merkmalsstrukturen

Zur Beantwortung der Eingangs diesen Kapitels gestellten zweiten Frage wurde die entsprechenden Arbeitsschritte an einem um die Variable „Hellbraun“ sowie um die badischen Altdouglasienbestände erweiterten Gesamtdatensatz vorgenommen. Wie die Tabelle 4-4 zeigt, ergeben sich nun drei Faktoren mit Eigenwerten über „1“, welche immerhin nahezu 80% der Gesamtvarianzen des Datensatzes erklären können. Es wurden jedoch die ersten fünf Faktoren für die weiteren Schritte herangezogen (vgl. Kapitel 3.2.2.).

² hoher Anteil von „kegelförmig“ nur bei K08, Darrington !

Tab. 4-4: Faktoranalyse des Gesamtdatensatzes: Verwendete Variablen sowie Eigenwerte und Erklärungsfähigkeit der extrahierten Faktoren

Variable	Faktor-Nr.	Eigenwerte	Anteil an Gesamtvarianz [%]	kummulativer Anteil d. Var. [%]
braun	1	2,65128	37,9	37,9
dkbraun	2	1,65302	23,6	61,5
eispitz	3	1,25336	17,9	79,4
gedrungen	4	0,88778	12,7	92,1
hellbraun	5	0,55456	7,9	100
kegelfrömig	6	0	0	100
h.rotbraun	7	0	0	100

Den Zusammenhang mit den „Ursprungsvariablen“ erläutert die Tabelle 4-5, welche die Faktorladungen der jeweiligen Eigenvektoren auflistet.

Tab. 4-5: Rotierte Faktormatrix des Gesamtdatensatzes inklusive badischer Altbestände: Eigenvektoren der extrahierten Faktoren

Variable	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5
braun	-,13427	-,82556	-,06132	-,53354	-,10954
dkbraun	-,17497	-,02042	,04804	,97032	-,15855
eiförmig-spitz	-,83285	-,22948	-,49261	,09075	-,05288
gedrungen	-,03033	,03371	,99543	,05798	-,06076
hellbraun	,08910	,16062	-,05672	-,12630	,97319
kegelförmig	,88962	,20795	-,36375	-,14555	,10875
h.rotbraun	,29590	,88588	,02588	-,31030	,17521
Bezeichnung:	Pazifik-Faktor (nördl. Küste)	Allgem. Viridis Faktor	Inlandsfaktor	BC-Faktor	Südlicher Küsten Faktor

Betrachtet man die Eigenvektoren der Faktoren, so stellt man jeweils zwei bis drei dominierende Variablen fest, welche hohe Faktorladungen aufweisen. Lediglich der Faktor fünf verfügt über nur eine enge Korrelation, und zwar mit der Variablen „hellbraun“. Er wird im Analogieschluß aus den in Kapitel 4.1. bezeichneten Gründen³ daher als „Südlicher Küstenfaktor“ bezeichnet. Dies geschieht an dieser Stelle ohne geographische Präzisierung, da der Farbton nur im fraglichen Material und nicht in Referenzherkünften vorliegt. Die

³ Farbe Hellbraun vom Verfasser an *Var. glauca* (südl. Inlandsvorkommen) häufig beobachtet; vgl. S. 74.

Bezeichnung ist somit für Abkömmlinge von Küstenpopulation zu verstehen, deren Habitat südlich von dem der hier vertretenen Vergleichsprovenienzen liegt.

Wie bereits bei der rotierten Faktormatrix aus dem Datensatz der Vergleichsprovenienzen (Tab. 4-3), zeichnet sich der Pazifik-Faktor durch eine enge, positive Korrelation mit der Variablen „kegelförmig“ sowie durch eine negative mit der Variablen „eiförmig-spitz“ aus. Auch der „Viridis-Faktor“ verfügt über einen vergleichbaren Eigenvektor wie in Tabelle 4-3, wobei sich bei beiden Faktoren eine Stabilisierung der jeweils wichtigsten Korrelationen ergibt. Beim Inlandsfaktor zeigt sich nun eine eindeutige Korrelation mit dem Merkmal „gedrungen“; die Faktorladung der Variablen „eiförmig-spitz“ hat sich abgeschwächt, die von „kegelförmig“ verstärkt. Dies gilt ebenfalls für den BC-Faktor, der mit der Variablen „hellrotbraun“ hier über eine dritte bedeutende Faktorladung verfügt (Tab. 4-5).

Die Eigenvektoren der Faktoren entsprechen damit weitgehend denen des Vergleichsdatsatzes, woraus eine ähnliche Gruppierung der Stichproben wie in der vorangegangenen Clusteranalyse dann erwartet werden kann, wenn

- a) die Merkmalskombinationen der Populationen unbekannter Abstammung unabhängig vom neuen Standort ausgeprägt werden und wenn
- b) eine enge Verwandtschaft zu den Vergleichsprovenienzen besteht und / oder
- c) die Variation der gewählten Merkmalskombinationen in relativ engen Grenzen erfolgt.

Da die Anzahl der Populationen um 63 % im Datensatz erhöht wird, wäre beim gänzlichen Fehlen ähnlicher Merkmalskombinationen eine starke Änderung der Eigenvektoren zu erwarten. Im vorliegenden Fall bleibt sogar der Erklärungswert des „Viridis-Faktors“ mit 23% der Gesamtvarianzen unverändert (Tab. 4-2, 4-4), lediglich die Faktoren „Inland“ und „BC“ verlieren an Bedeutung, während der Pazifikfaktor nun zum bedeutendsten Faktor aufsteigt. Hieraus kann gefolgert werden, daß ein relativ hoher Anteil der fraglichen Populationen ähnliche Merkmalskombinationen wie die Gruppe um K01 und K07 zeigt und diese Gruppe verstärkt wird. Die Annäherung in der Bedeutung der Faktoren „Inland“ und „BC“ (vgl. Tab. 4-2, 4-4), läßt eine ausgeglichene Gruppenstärke erwarten. Dies erfordert zumindest die Auffüllung der Gruppe um K09 und K06.

Die Abbildung 4-6 zeigt das Ergebnis der hierarchischen Clusteranalyse des Gesamtdatsatzes. Zunächst kann festgestellt werden, daß die Gruppierung der Referenzprovenienzen entsprechend der Grundstruktur von Abbildung 4-5 erfolgt. Weiterhin ist die aus der Faktoranalyse erwartete Erweiterung der Gruppen „Nördliches Inland“ um den Bestand B06 (Heidelberg) sowie die Clusterung der Bestände B01, B05 und B07 mit der Gruppe der Pazifik-Provenienzen zu beobachten. Die Fraser-Provenienz K03 wird in diesem größeren Datensatz erwartungsgemäß mit gewissem Abstand zu der Gruppe der Inlandsdouglasien gestellt. Die Bestände B04, B03 und B02 zeigen sich als separate Gruppe, auf hohem Abstandsniveau von den übrigen Populationen und Beständen deutlich getrennt.

Die Obergruppe der „östlichen“ Provenienzen (vgl. Abb. 4-5) wird auch hier aufgebaut (Abb. 4-6). Dabei bleibt die Cascaden-Gruppe unverändert, der Abstand zur erweiterten Inlandsgruppe erhöht sich allerdings. Eine zweite Obergruppe der „nördlichen“ Provenienzen wird nun gebildet, welcher die unveränderte Gruppe der Populationen der Insel Vancouver angehört. Auf leicht verringertem Abstandsniveau clustern

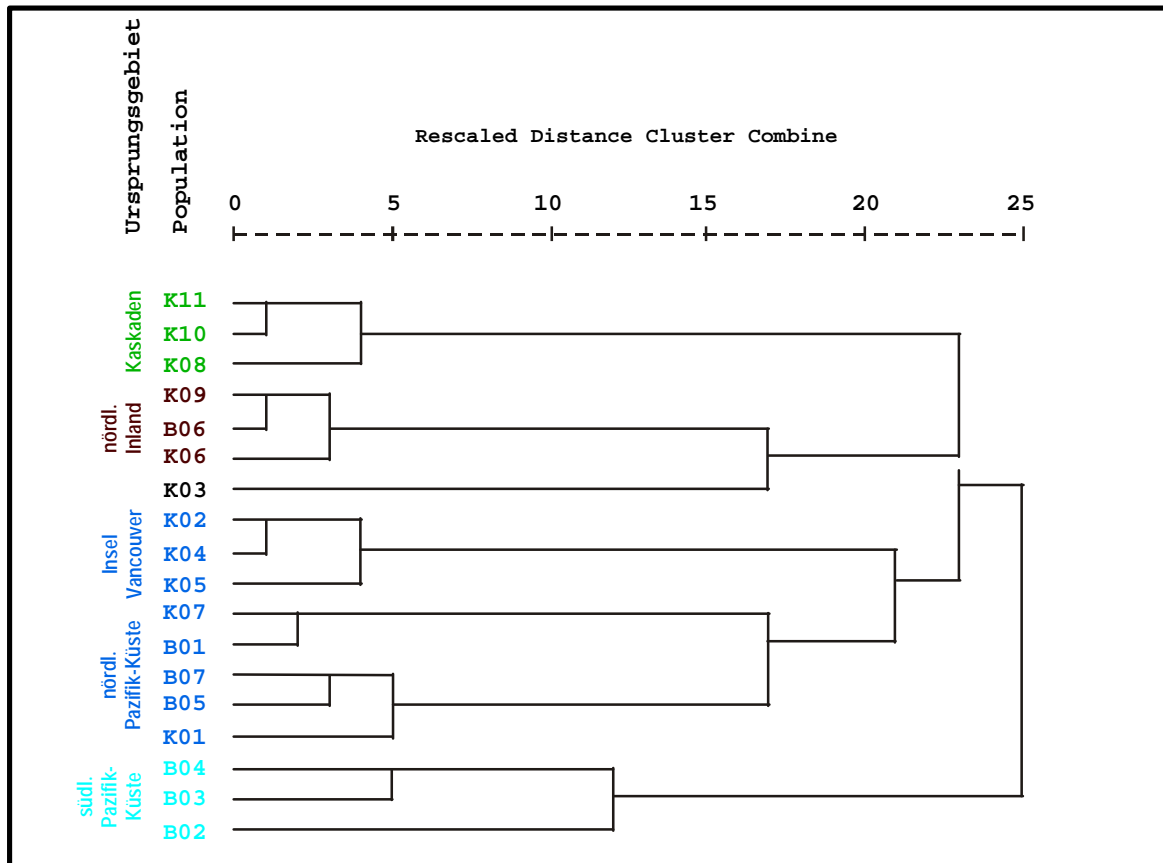


Abb. 4-6: Dendrogramm der Clusterung des Gesamtdatensatzes auf der Basis faktoranalytisch kombinierter morphologischer Merkmalsmuster

Erläuterungen im Text

hier zwei getrennte Gruppen von Pazifik-Populationen: Es sind dies auf kleinem Abstand K07 und B01 sowie untereinander mit weiterem Abstand die Provenienz K01 und die Bestände B07 bzw. B05.

Einzelheiten zu den Ähnlichkeiten in der Ausprägung der morphologischen Strukturen zwischen den badischen Altbeständen sowie den Vergleichsprovenienzen wurden in Kap. 4.2. eingehend erörtert. Auf die dortigen Ausführungen wird verwiesen.

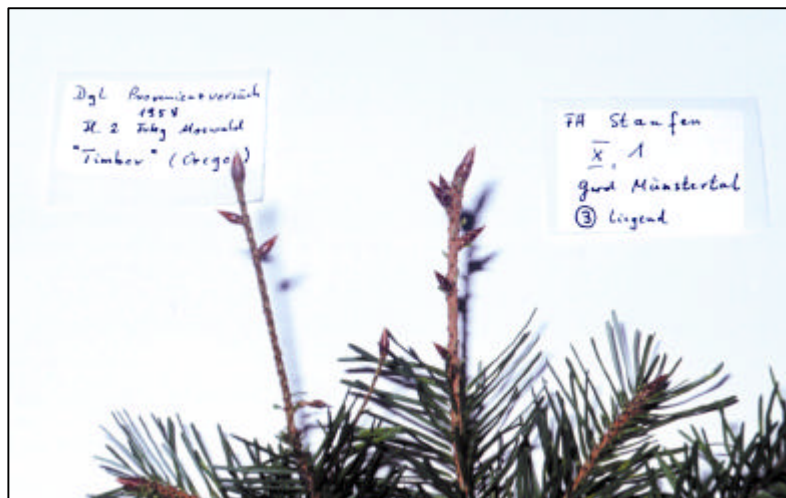


Abb. 4-7: Beispiele von Formen der Endknospe bei der Küstendouglasie: links eiförmig spitz (FA Freiburg-Stadt), rechts kegelförmig (FA Staufen).

4.4. Diskussion

Obwohl die allgemeine Botanik zunehmend auch morphologische Merkmale quantitativ analysiert, um Unterschiede innerhalb und zwischen Taxa zu verifizieren (EHRENDORFER 1991), wird diese Methode in der Forstbotanik wenig eingesetzt. Die Arbeit von AAS und Kollegen über die geographische Variation der Nadelmorphologie bei der *Weißtanne* demonstrierte hier das Potential, Brücken zu älteren, morphologisch descriptiven Studien aufzubauen (AAS et al. 1994). Dabei muß eine Merkmalsauscheidung, wie sie in Kap. 3.1.1. erfolgte, zwei Kriterien Rechnung tragen: Die Bandbreite der vorliegenden Variation muß erfaßt werden und geeignete Übergangsgestalten zur Verknüpfung zwischen unähnlichen Formen (botanisches Stetigkeits-Kriterium: SITTE 1991) müssen definiert werden. Die notwendige Aggregation auf wenige Haupttypen darf beide Kriterien nicht verletzen.

Im vorliegenden Fall haben sich die gewählten Form- und Farbtypen bewährt. Das Ausscheiden von Zwischentypen erleichterte die Entscheidung der Zuordnung der Individuen sowie die spätere Interpretation der Ergebnisse. Ebenfalls bewährt hat sich die quantitative Beschreibung der beobachteten Variation innerhalb einer Population in Form prozentualer Anteilstrukturen, trotz der mathematischen Besonderheiten⁴ solcher Datensätze. Die Verwendung jungen Pflanzenmaterials läßt eine gewisse Unsicherheit in der Datengewinnung befürchten. Wie der Vergleich der Ergebnisse zwischen den Herkünften K01 und K07 zeigt, finden sich innerhalb eines Teilareals jedoch weitgehend übereinstimmende Merkmalsstrukturen (Abb. 4-3), woraus ein Einsatz dieser Methode bereits in einem frühen Stadium abgeleitet werden kann. Auch Untersuchungen der Knospen-Phänologie an frei abgeblühten Nachkommenschaften von *P. menziesii* unter verschiedenen Umweltbedingungen ergaben Unterschiede zwischen Altersstadien lediglich im Bezug auf den Knospenbildungszeitpunkt, nicht jedoch bezüglich des Austriebszeitpunktes (LI & ADAMS 1993), welcher durch Form und Farbe der Knospen unterschiedlich beeinflußt werden kann (s.u.).

⁴ I.e. gegenseitige Abhängigkeit der Variablen bei fehlender Normalverteilung.

Die in der Faktoranalyse extrahierten Faktoren lassen sich sehr gut erklären, wodurch dieser oft vernachlässigte Analyseschritt als gelungen bezeichnet werden kann (BÜHL & ZÖFEL 1996). Form- und Farbstrukturen der Populationen mit jeweils drei bzw. vier Variablen werden dabei auf nur fünf Faktoren reduziert. Durch die jeweiligen Faktorladungen kann die Wirkung der Variablen abgeschätzt werden (HARTUNG & ELPELT 1989). Die hohen und eindeutigen Ladungen von „dunkelbraun“, „hellbraun“ sowie „gedrungen“ (vgl. Tab. 4-5) weisen diese Variablen als „diskriminierende“ Faktoren aus, während die teilweise geringere, mehrfache Ladung der Variablen „hellrotbraun“ und „eiförmig-spitz“ diese als verbreitete und in weiten Bereichen schwankende Merkmalsausprägungen entlarvt. Insgesamt laden alle Variablen zumindest einmal auf einen Faktor hoch, d.h. mit Werten über |0,826| (vgl. Tab. 4-5), - ein weiteres Indiz für die Eignung als Descriptoren.

Betrachtet man die Ausführungen in Kapitel 2.5. im Zusammenhang mit den Ergebnissen der in der vorliegenden Arbeit gebildeten morphologischen Strukturen, so werden weitere Erklärungen für bestimmte botanische Beschreibungen offenbar. MAYR hat beispielsweise seine Erfahrungen u.a. im Jahre 1885 auf einer Reise mit der 1883 (!) fertiggestellten „North Pacific Railway“⁵ gewonnen (vgl. MAYR 1906, S. 40 ff.). Von der Ostküste kommend, hat er die nördliche Inlandsdouglasie zuerst gesehen⁶, welche in den vorliegenden Stichproben (K06, K09) über unterschiedliche Anteile dunkelbrauner und brauner Merkmalsträger verfügt. Auch in der anschließend besuchten Kaskaden-Region überwiegt ein Branton in der Färbung der Douglasienknospen. (vgl. Abb. 4-3). Auf der Rückreise aus Japan im Jahre 1887 betreibt er dendrologische Studien in Süd-Kalifornien und unterscheidet von da an zwei Arten der heute als *P. menziesii* bezeichneten Art, nämlich *P. douglasii* und *P. glauca* (MAYR 1901). Das Areal der ersteren ist deckungsgleich dem der heute als *Var. viridis* bekannten Form, während er für die zweite Art das Vorkommen „vom britischen Territorium“⁷ bis nach Mexiko“ angibt (MAYR 1901), welches dem der Inlandsdouglasie entspricht. Die Reisebeschreibungen lassen den Schluß zu, daß Mayr die Inlandsdouglasie lediglich in der Region um den Pend Oreille-See in Idaho (s.o.) in ihrem natürlichen Areal gesehen hat (MAYR 1906, S. 51). Dies wird durch die Tatsache gestützt, daß MAYR beim wichtigsten und auffälligsten Merkmal, der relativen Länge und Stellung der Brakteen (vgl. Kap. 2.5.1.), auf Beschreibungen von SARGENT⁸ zurückgreift (MAYR 1906, S. 405). Beim Besuch der Wälder hätte er unzweifelhaft dieses selbst bemerken müssen. So sind seine Unterscheidungen von drei Formen der „Art“ *P. glauca* offensichtlich auf andere Studien, etwa im Versuchsgarten zu Grafrath, zurückzuführen. Schließlich berichtet MAYR von im Wuchs erheblich kümmernden Inlandsdouglasien des dortigen Versuchsgartens, welche noch nicht geblüht hatten (MAYR 1906, S. 405).

Da nach FROTHINGHAM (ders. 1909) bis 1870 das Saatgut für Europa hauptsächlich aus dem Nordwesten der USA stammte, ist es nicht verwunderlich, wenn sich in deutsch-sprachigen, dendrologischen Publikationen die Farbtöne „(Rot-)braun“ bzw. „Kastanienbraun“ immer wieder finden. Wie die Darstellung 4-3 zeigt, dominieren die dunkleren Brauntöne im nördlichen Areal der Douglasie, d.h. im Inland, auf Vancouver und im Bereich der Kaskaden. An dieser Stelle muß bereits angenommen werden, daß die erwähnte abweichende Farbbeschreibung (Hellbraun) von MITCHELL (1974) auf die Verwendung anderer Ökotypen in britischen Arboreten zurückzuführen ist.

Dieser Schluß gilt für die Analysen der Knospenformen ebenfalls. Wie die Abbildung 4-3 verdeutlicht, treten die Merkmalsträger der einzelnen Knospenformen in unterschiedlichen Häufigkeiten in den jeweiligen Populationen auf, wobei in den Regionen von Vancouver und den Kaskaden die „eiförmig-spitzen“ Knospen

⁵ STIER et al. 1972, S. 133

⁶ „Tritt man von Osten her (...) in das Gebirge ein, so erscheint (...) ein Wald, der (...) Erinnerungen an (die) europäischen Alpen wachruft. Die Lärchen (...) leuchten in goldgelber, herbstlicher Färbung aus dem dunklen Grün der Douglasien hervor;“ (MAYR 1906, S. 40-41).

⁷ Anm. d. Verf.: gemeint ist British Columbia in Canada.

⁸ SARGENT 1898

überwiegen. Die Kegelformen überwiegen im Bereich der Pazifikküste. Setzt man, in Übereinstimmung mit obigem Befund, auch hier eine Beschaffung des Saatgutes für die Arboreten aus dem Nordwesten des Verbreitungsgebietes der Douglasie voraus, so erklären sich die botanischen Beschreibungen der Küstendouglasie in der deutschsprachigen Literatur von den Anfängen bis in die Gegenwart. Dabei stehen die Werke von SAINT-PAUL (1901) bis SCHÜTT und Mitarbeiter (dies. 1984) für die Nennung der „Eiform“, das von HEB (1895) für die Kegelform sowie das von KRÜSSMANN (1972) für die „Eikegelform“. Eine „Spindelform“ wurde in der vorliegenden Arbeit nicht unterschieden, wohl aber eine synonyme Zwischenform „langgestreckt-kegelförmig“, welche in der vorliegenden Arbeit unter die Formenklasse „kegelförmig“ subsummiert wurde. Diese trat bei den Herkünften K01 und K07 mit Häufigkeiten von 3,5% bis 34% sowie mit Häufigkeiten zwischen 3,5 und 17% bei badischen Beständen (B04 bzw. B02, B03) auf. Es ist nicht auszuschließen, daß Träger dieses Merkmales in anderen Provenienz als den hier untersuchten in größeren Häufigkeiten beobachtet werden können. Erst nach der Publikation von MITCHELL (ders. 1974), welcher die Spindelform erwähnt, wird diese Beschreibung auch in der deutschen Literatur⁹ verwandt (FITSCHEN 1987, SCHÜTT et al. 1992). Die Verwendung anderer Ökotypen in den Sammlungen der britischen Arboreten wäre somit eine Erklärung für die abweichende Beschreibung. Es ist also auch aus den Studien an diesem Merkmal zwingend eine Ausdehnung morphologischer Studien zu fordern. Erst dann wird es möglich sein, die Frage zu entscheiden, ob die Zwischenform „langgestreckt-kegelförmig“ einer Formenklasse „spindelförmig“ zugeschlagen werden muß. Aus der persönlichen Beobachtung des Verfassers¹⁰ an einigen Exemplaren der *Var. glauca*, welche über hellbraune, spindelförmige Knospen verfügen (vgl. Abb. 4-2), können jedoch nur Vermutungen über eine derartige Merkmalsvariation in Provenienzen aus dem südlichen Verbreitungsgebiet angestellt werden, welche es zu verifizieren gilt.

Bei der Inlandsdouglasie kann die Beschreibung der Knospenform von MAYR (1906) als „gedrungen“ bestätigt werden (Abb. 4-3). Es werden sowohl Kegel- (vgl. MAYR 1901) als auch Eiformen beobachtet (s.a. Kap. 3.1.1.), die über eine breite Basis verfügen, welche teilweise die Dimension der Länge übertreffen (vgl. Abb. 4-2).

Andere Merkmale der Knospengestalt waren weniger hilfreich bei der Unterscheidung von Ökotypen. Das Kriterium der abstehenden oder gar zurückgeschlagenen Knospenschuppen beispielsweise (MAYR 1906, SCHENCK 1939, S. 484), war nur in Verbindung mit bestimmten Farb- bzw. Formkombinationen als Zusatzmerkmal hilfreich. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig.

Das Kriterium des Wachsüberzuges auf den Knospenschuppen (MAYR 1906) konnte in den vorliegenden Untersuchungen als hilfreiches Nebenkriterium bestätigt werden. Die nördlichen Inlandsprovenienzen (hier: K06, K09) verfügen über mehr als 80% von Merkmalsträgern, welche einen Wachsüberzug auf den Knospen aufweisen. Dieser Anteil nimmt sowohl nach Westen als auch nach Süden ab. Merkmalsträger mit einzelnen Wachsflecken treten in Stichproben aus Washington mit unterschiedlichen Anteilen bis zu etwa 50% auf. Beide Kriterien kommen nebeneinander in den Populationen vor. Einzelne Wachsflecken finden sich zumeist am unteren Drittel der Knospe, wie bereits in frühen Beschreibungen erwähnt (HEB 1895, BEISSNER & FITSCHEN 1930, KRÜSSMANN 1972).

Insgesamt bleibt festzustellen, daß mit Hilfe des Pflanzenmaterials aus einem Provenienzversuch eine umweltunabhängige Variation von Knospengestaltsmerkmalen nachgewiesen werden konnte, welche für bestimmte Regionen des natürlichen Areals der Douglasie typische Strukturen aufweist. Vergleichsdaten in der Literatur fehlen hierzu. Lediglich die Arbeiten aus Provenienzversuchen über Zeitpunkte von Knospenbildung

⁹ Die genannte Publikation von MITCHELL wurde von SCHÜTT ins Deutsche übertragen, vgl. Literaturverzeichnis: MITCHELL 1974.

¹⁰ s.a. Kap. 4.1. S.74, Kap. 4.3.2. S. 81.

und Vegetationsbeginn belegen eine regionaltypische Variation eben dieser Merkmale im natürlichen Areal der Douglasie (KLEINSCHMIT et al. 1974, KLEINSCHMIT 1984, NATHER 1985) sowie deren Erbllichkeit (z. B. REHFELDT 1983, LI & ADAMS 1993). Studien über anatomische bzw. histologische Veränderungen im Gewebe der Knospen von *P. mezii* führte die Arbeitsgruppe von OWENS¹¹ durch, welche ein Ende der Knospendormanz erst mit dem Einsetzen der Frühholzbildung im Kambium feststellen konnte (RENSING & OWENS 1994). Über die physiologische Steuerung von Knospenbildung und Knospenruhe ist erst wenig bekannt (MOHR & SCHOPFER 1992). Die Perception photoperiodischer Reize in den Knospen (Blattprimordien) wird angenommen (LYR et al. 1992, S. 441). In einem solchen Falle sind sowohl Form (Lichtbrechung) als auch Farbe (Lichtreflexion) der Knospen von entscheidendem Einfluß!

Eine Kombination der verschiedenen Gestaltsmerkmale ermöglicht eine Gruppierung bekannter Provenienzen entsprechend dem Vorkommen im natürlichen Areal sowie die Zuordnung von Populationen unbekannter Provenienz zu einem möglichen Ursprungsgebiet, wie die vorgenommene Clusteranalyse zeigt. Die Knospenmorphologie erhält dadurch eine neue Bedeutung bei der botanischen Bestimmung von Ökotypen und Varietäten, allerdings nicht bei Einzelindividuen, sondern bei Gruppen von Individuen (Populationen). Somit konnten BEISSNER & FITSCHEN (1930, S. 88) widerlegt werden, welche eine Brauchbarkeit der Knospengestalt zur Unterscheidung von Taxa völlig ausgeschlossen hatten. Diese Ansicht ist bis heute weit verbreitet (vgl. LEINEMANN 1997).

4.5. Schlußfolgerungen aus den morphologischen Studien

Zur Unterscheidung von Ökotypen der Douglasie werden Merkmale der Knospengestalt empfohlen. Diese charakterisieren Gruppen von Individuen und eignen sich für Fragen der Abstammungsrekonstruktion besonders im Zusammenhang mit Faktoren- und Clusteranalyse. Die Merkmale Knospengestalt, Knospenfarbe sowie die Art des Wachsüberzuges auf den Knospen haben sich als hilfreich für die Unterscheidung von Varietäten und Populationsgruppen aus Teilarealen erwiesen. Im einzelnen wurden die Merkmalsklassen und Zwischenmerkmale in der vorliegenden Arbeit unterschieden, welche in der nachfolgenden Tabelle 4-6 aufgelistet sind.

Die Zwischenmerkmale der Knospenform leiten in kleinen Schritten von Merkmalsklasse zu Merkmalsklasse über. Die Einordnung des Merkmales „kegelförmig-länglich“, in älterer Literatur gerne als „pfriemlich“ bezeichnet (vgl. SCHENCK 1939), als Zwischenmerkmal ist eine vorläufige. Da diese Knospengestalt oft mit der Farbe Hellbraun sowie mit einer filzigen Oberfläche kombiniert ist (vgl. Kap. 4.2.), liegt hier eventuell ein eigener Typ vor, welcher die Ausscheidung einer separaten Merkmalsklasse erfordern könnte. Zur Klärung dieser Frage sind dringend weitere Studien an Provenienzen aus dem südlichen Teilareal notwendig.

¹¹ University of Victoria, BC / Kanada

Tab. 4-6: Merkmale der Knospengestalt zur intraspezifischen Differenzierung bei *Pseudotsuga menziesii*

Merkmalsklasse	Knospenform	Knospenfarbe	Wachsüberzug
Merkmal	gedrungen	dunkelbraun	geschlossener WÜ
Zwischenmerkmale	eiförmig-gedr. kegelförmig-gedr. eiförmig		
Merkmal	eiförmig-spitz	braun	einzelne Wachsflcken
Zwischenmerkmale	ei-länglich ei-kegelförmig		
Merkmal	kegelförmig	hell-rotbraun	
Zwischenmerkmale	kegelförmig-länglich (= pfriemlich)		
Merkmal		hellbraun	

Die hier vorliegenden Ergebnisse lassen im einzelnen folgende Charakterisierung der Knospengestalt zu (vgl. auch Tab. 4-1):

Populationen aus dem Areal der *Var. caesia* verfügen über nahezu gleichmäßige Anteile kegelförmiger, eiförmig-spitzer sowie gedrungener Knospen, wobei letztere Formen in Einzelfällen an der Hälfte aller Individuen auftreten kann. Es überwiegt der Farbton dunkelbraun, mehr als zwei Drittel der Knospen einer Probe zeigt großflächige Wachsauscheidungen.

Bei der Küstendouglasie treten regionaltypische Variationen in der Knospengestalt auf. Großflächige Wachsüberzüge finden sich bis etwa 50% einer Probe in Provenienzen aus British Columbia, nur vereinzelt dagegen in solchen aus Washington. Provenienzen von der Insel Vancouver zeichnen sich durch einen Anteil von mehr als zwei Dritteln eiförmig-spitzer Knospen aus, welche von brauner oder hellrot-brauner Farbe sind. Provenienzen aus dem Bereich der Kaskaden fallen durch hohe Anteile eiförmig-spitzer Knospen auf, die im Gegensatz zur vorgenannten Gruppe über eine deutliche Mehrheit brauner Knospen verfügt. Im Gegensatz zu den übrigen Gruppen weisen Populationen aus dem Bereich der Pazifik-Küste mehr als ein Drittel kegelförmiger Knospen mit mehrheitlich hellrotbrauner Farbe auf. Merkmalsträger, welche einzelne, kleine Wachsflcken zeigen, treten in den hier untersuchten Regionen Washingtons an bis zu einem Drittel der Populationen auf.

Die Provenienz K03 (d'Arey / BC) aus dem Übergangsbereich zwischen *Var. caesia* und der Küstendouglasie zeigt eine interessante Merkmalskombination: Die Form erinnert mit über 50% gedrungener Knospen an die Inlandsdouglasie, während die Struktur der Farbtöne mit Hellrotbraun und Dunkelbraun an eine Provenienz von der Nordspitze der Insel Vancouver erinnert.

Die Populationen der badischen Altbestände zeigen vergleichbare Merkmalsstrukturen, sie können mittels Clusteranalyse der Küstenregion von Washington (drei Bestände) und der nördlichen Inlandsdouglasie (ein Bestand) zugeordnet werden. Drei weitere Bestände können der Küstendouglasie zugeordnet werden, wobei die

engere Ursprungsrekonstruktion auf Grund des Auftretens einiger weniger, vom Vergleichsmaterial abweichender Farbmerkmalsträger (Hellbraun) nicht erfolgen kann. Für diese Bestände wird im Analogieschluß über Beobachtungen an der blauen Douglasienform ein Ursprung aus dem Küsten-Bereich südlich des Columbia Flusses (46^o n.Br.) angenommen.

5. Ergebnisse biochemisch-genetischer Studien

5.1. **Auswirkung von Entwicklungsstadium, Gewebetyp sowie von unterschiedlichen physikochemischen Versuchsbedingungen auf die Enzymdarstellung**

Zu den Vorteilen der Isoenzymanalyse gehört deren Anwendbarkeit in nahezu jedem ontogenetischen Stadium einer Pflanze. Allerdings müssen zur Identifikation von Markergenloci deren Ausprägungen in unterschiedlichen Organen bekannt sein. In der Vergangenheit gab es mehrere Ansätze, Beweisketten aufzubauen, die derartige Zusammenhänge erhellen (NEALE et al. 1984, ADAMS et al. 1990, KONNERT 1992).

Nachfolgend wird versucht, durch entsprechende Experimente die unterschiedlichen Aussagen früherer Veröffentlichungen zusammenzuführen und offene Fragen zu klären bzw. als solche herauszustellen. Die identifizierten Genmarker werden in Übersichten mit ihren **rf**- und **rm**- Werten aufgelistet, so daß gewissermaßen "Übersetzungshilfen" entstehen. Dadurch wird der Ergebnisvergleich über verschiedene Verfahren hinweg möglich. Die Numerierung der Allele richtet sich nach der von ADAMS & Koll. (1990) vorgenommenen; sie wurde lediglich in Einzelfällen korrigiert (Bsp.: GOT-C, 6-PGDH-A). Weitere Details zur Nomenklatur enthält das Kapitel 3.2.3.

5.1.1. Die Zymogramme des Enzymsystemes GOT

Unter den in Kap. 3.2.1. vorgestellten Versuchsbedingungen konnten die in den Spalten 3 und 4 der Tabelle 5-1 aufgelisteten Elektromorphen nachgewiesen werden. Nur bei vier von ihnen war bislang eine Überprüfung der genetischen Kontrolle nicht möglich (vgl Sp. 7): bei GOT-A3, GOT-B1, GOT-Bn und bei GOT-C3. Durch unabhängige Beobachtungen verschiedener Autoren (Sp. 8) sind Artefakte jedoch mit größter Wahrscheinlichkeit auszuschließen.

Einige der bisher veröffentlichten Beobachtungen an GOT-Zymogrammen aus Saatgut- oder Knospengewebe von *Pseudotsuga menziesii* veranlaßten zu Nebenuntersuchungen:

- a) Die (abgeleiteten) **rm**-Werte aus den Arbeiten von EL-KASSABY et. al. (1982) bzw. ADAMS et al. (1990) unterscheiden sich. Welche Zuordnung der einzelnen Allele läßt sich durch Vergleiche der eingesetzten Trennpuffersysteme ermöglichen?
- b) ADAMS und Koll. (1990) finden verschiedene **rf**-Werte für Saatgut- und Knospengewebe unter denselben Trennbedingungen. Dies führt zu der Frage, ob ein unterschiedlicher Bau der Isoenzyme vorliegt und ob folglich eventuell unterschiedliche Genloci aktiv sind.
- c) Die Douglasie gehört zu den Koniferen, die überraschenderweise über eine absolut gleichgerichtete Variation der (Makrogametophyten-) Isoenzyme in den Zymogrammzonen 3, 4 und 5 verfügen (vgl. ADAMS et al. 1990). Bisher wurden alle drei Teilzonen als gemeinsames Produkt eines Markergenlocus GOT-C interpretiert (vgl. Abb. 5-1).

Tab. 5-1.: Die Isoenzyme des Systems GOT

Enzym-Genlocus	Nr.	Alloenzyme Position				Prüfung	Hinweise
		[rf] ¹	[rm] ²	[rm] ³	[rm] ⁴		
1	2	3	4	5	6	7	8
GOT-A (GOT1) ⁵	1	64	-	106	114	(1)	
	2*	60*	100	100	100	(1)	
	3	54	-	90	89	-	(1),(4)
GOT-B (GOT2) ⁵	1	-	-	119	121	-	(3)
	2	51	112	111	116	(1),(2)	
	3*	46*	100	100	100	(1),(2)	
	4	38	82	86	82	(1),(2)	
	n	-	(1)
GOT-C ^I (GOT3) ⁵	1	51	-	-	-	-	(4)
	2	43	130	124	144	(1),(2)	
	3	39	-	114	-	(1)	(3)
	4*	35*	100	100	100	(1),(2)	
	5	28	-	81	50	(1)	
	n	..	-	(1)	

Erläuterungen:

1. NaOH/H₃BO₃-Puffersyst., Angaben aus (1)
2. LiOH/H₃BO₃-Puffersyst., Angaben aus (2)
3. NaOH/H₃BO₃-Puffersyst. (B), vgl. Tab. 3-6
4. LiOH/H₃BO₃-Puffersyst. (A), vgl. Tab. 3-6
5. Übliche Bez. i.d. amerikanischen Literatur

* Häufigstes Allozym (Allel)

fett gedruckte Zahlen verweisen auf direkte Vergleiche

Literatur:

- (1) ADAMS et al. 1990
- (2) EL-KASSABY et al. 1982
- (3) HÖPPNER DE RIZO 1991
- (4) LI 1986

- c) (Forts.) Zwischen den Teilzonen wurden niemals Hybridbanden beobachtet, ebensowenig wie Abweichungen bei der Vererbungsanalyse. Eine Erklärung für dieses Phänomen blieb die forstgenetische Literatur bislang schuldig (vgl. auch WENDEL & WEEDEN 1990, S.38!).
- d) ADAMS und Koll. (1990, S. 162, 163) berichten von *gewebespezifischen* Zymogrammen im Bereich des Genlocus GOT-C: Isoenzyme aus Knospen- und Embryogewebe würden nur zwei von drei Teilzonen abbilden, welche im Makrogametophyten sichtbar sind. Außerdem konnte für das Allel C^I₃ keine Positionsangabe für Knospengewebe gegeben werden. EL-KASSABY und Koll. (1982) fanden in Embryo- und Makrogametophytengewebe jeweils nur zwei Zonen im Bereich von GOT-C.

5.1.1.1. Vergleich von GOT-Zymogrammen verschiedener Gewebetypen unter unterschiedlichen physikochemischen Bedingungen.

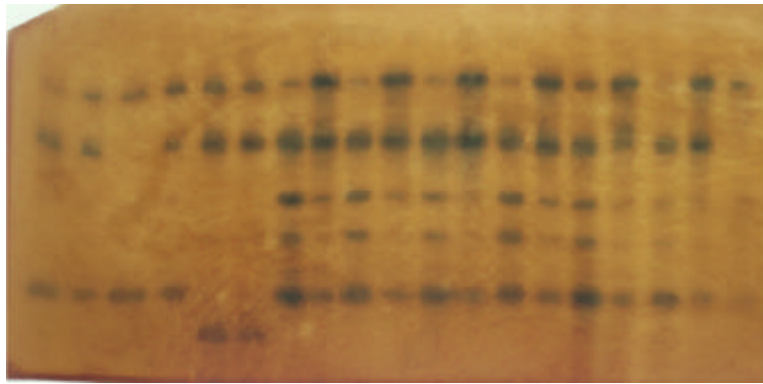
Die gemeinhin bekannte Tatsache⁷⁹, daß das LiOH/H₃BO₃-Puffersystem den Frontbereich eines wandernden Proteingemisches besser auftrennt, spiegelt sich in den **rm**-Werten der Tabelle 5-1 wider, welche eine relativ größere Distanz der einzelnen Elektromorphe zueinander dokumentieren (Sp. 5,6) als dies bei dem NaOH/H₃BO₃-System der Fall ist. Eine lange Laufzeit ermöglicht auch bei dem erstgenannten Puffersystem die Darstellung aller Teilzonen von GOT-C. Allerdings färben die Banden der Zone GOT-C^{III} nur in unmittelbarer Nähe des Auftragepunktes. Die hiervon abweichende Beobachtung von EL-KASSABY und Mitarbeitern (1982) ist folglich in erster Linie auf die *Trenndauer* zurückzuführen [ad 5.1.1. d)]. Eine positive Nettoladung der entsprechenden Allozyme, welche in anderen Fällen beobachtet wurde (RUDIN & EKBERG 1978), scheidet als Ursache aus. Ein vollständiges GOT-Zymogramm von Embryo, Makrogametophyt oder Apicalmeristem besteht demnach aus fünf Variationszonen. Die Abbildungen 5-1 und 5-2 belegen diesen Befund. Auf der erstgenannten Abbildung ist ein Zymogramm von Makrogametophyt/Embryo-Paaren der Provenienz S02 (Colorado) festgehalten, aufgetrennt mit einem NaOH/H₃BO₃-System (pH: 8,6/8,8). Die zweite Abbildung zeigt identisches Material, aufgetrennt mit einem LiOH/H₃BO₃-Puffer (pH: 8,1/8,3). Während das Puffersystem nach POU-LIK (1957) alle fünf Zonen abbildet, finden sich in dem anderen Zymogramm nur drei Zonen, die vierte färbt nur schwach (Abb. 5-2).

Allerdings führten weite Trennstrecken zu unscharfen Banden. Aus diesem Grunde wurde die Rezeptur von EL-KASSABY und Koll. im Sinne von ASHTON & BRADEN (1961) abgewandelt. Die vergleichenden Experimente ermöglichten eine eindeutige Zuordnung der einzelnen Isoenzyme aus unterschiedlich aufgetrennten Zymogrammen, wie sie in Tab. 5-1 (Sp. 5,6) durchgeführt ist. Damit wurden die o.g. *verfahrensbedingten* Unterschiede geklärt [ad 5.1.1. a)]. Nach arealweiten Studien dieses Enzymsystems der Douglasie, ist ferner davon auszugehen, daß am Genlocus A drei Allele zu finden sind, am Genlocus B fünf und am Genlocus C sind es deren sechs. Lediglich an den Loci B und C wurden bislang Null-Allele beobachtet.

Besonders die GOT-B-Zone, speziell die aus Knospengewebe, erwies sich als sehr empfindlich für leichte Änderungen von elektrischem Widerstand (Temperatur!) und pH-Wert im Trennsystem. Auch die Zimmertemperatur während der Zubereitung des Gewebehomogenats spielte eine Rolle. Die gefrorenen Apicalmeristeme wurden daher unter Kühlung homogenisiert. ADAMS und Koll. (1990) berichten von ähnlichen Problemen, besonders bei der Arbeit mit Nadelgewebe (ibid. S. 163 unten) und empfehlen die gekühlte Herstellung des Gewebe-Extraktes (ibid. S. 154). Die Gesamtheit der physikochemischen Trennbedingungen des LiOH/H₃BO₃-Systems erwies sich in den Vorversuchen als vorteilhafter zur Analyse von Knospen. So färbten die bei Zimmertemperatur hergestellten Knospenextrakte nach Trennung im LiOH/H₃BO₃-Puffer (Abb. 5-2), während im Poulik-System (Abb. 5-1) sich nur GOT-A deutlich zeigt. Zu beachten (s.u.) ist auch die geänderte Position des Allels B3 der "warm" homogenisierten Knospenextrakte in Abb. 5-1.

Sowohl bei Segregationsanalysen als auch in Voruntersuchungen wurden stets Extrakte der drei Gewebetypen nebeneinander im Laufmedium aufgetragen. *Gewebespezifische* Unterschiede der Isoenzyme konnten nicht festgestellt werden [ad 5.1.1. b)]. Abbildung 5-3 demonstriert diesen Sachverhalt an frei

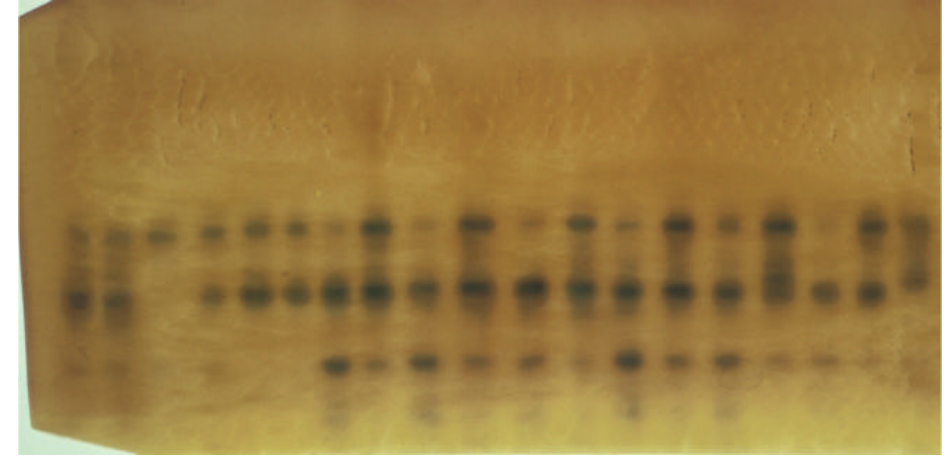
⁷⁹(mündl. Mitt.: Dr. Bergmann, Göttingen).



M Er M

Abb. 5-1: GOT-Zymogramm aus Makrogametophyten- (M) und Embryogewebe (Er).
Trennung : Puffersystem B (NaOH/H₃BO₃). Kühlung +4°C

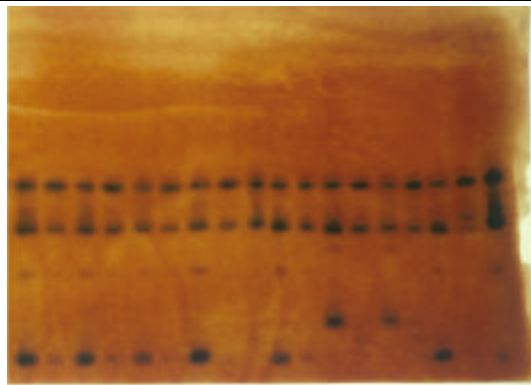
A
B
C^I
C^{II}



M Er M

Abb. 5-2: GOT-Zymogramm: Präparat identisch mit dem aus Abb. 5-1,
Trennung : Puffersystem A (LiOH/H₃BO₃), Kühlung +4°C

A
B
C^I
C^{II}



M Er M Kn M Er Kn

Abb. 5-3: GOT-Zymogramm. Population B06, Einzelbaumnachkommenschaft der Bäume Nr. 02 und 21
Trennung : Puffersystem B, Kühlung +2°C

A
B
C^I
C^{II}

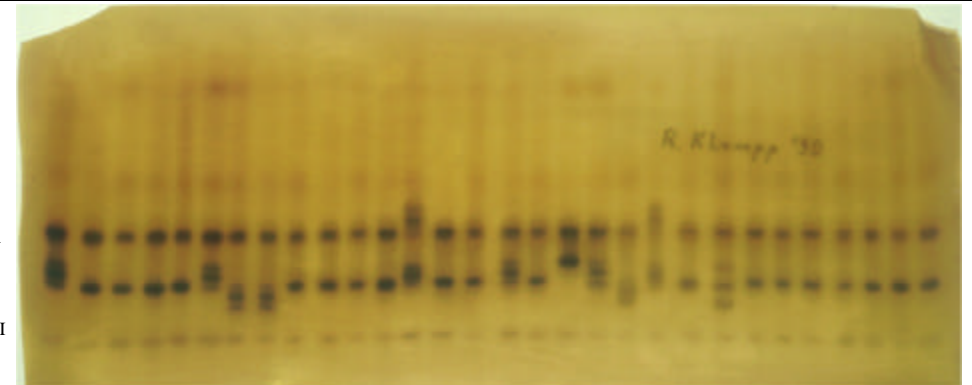


Abb. 5-4: GOT-Zymogramm. Knospengewebe der Provenienz K01
Trennung : Puffersystem A, Kühlung +2°C

A
B
C^I

abgeblühtem Saatgut (Makrogametophyt / Embryo - Paare) der Bäume Nr. 2 und Nr. 21 aus dem Bestand "Heidelberg I.25". Bei starker Wärmeentwicklung während der Elektrophorese bzw. bei einer Kühlung der Apparatur von +4°C und gleichzeitig hoher Zimmertemperatur von über 25°C kann eine Erhöhung der Wandergeschwindigkeit der jeweils "langsameren" Allozyme der Loci GOT-A und GOT-B, gerade bei der Analyse von Knospengewebe, auftreten. Dies wird durch die Wahl der Kühltemperatur von +2 °C vermieden.

Wie die Abbildung 5-1 beweist [ad 5.1.1 c)], stellt sich die Zone 4 zwar in schwächerer Intensität dar, als die übrigen Teilzonen des Genlocus GOT-C, aber sie ist in beiden Geweben sichtbar, wenn auch im Makrogametophytengewebe stärker gefärbt. Das verfahrensunabhängige Fehlen der Zonen 3 und 4 in den ersten drei Laufbahnpaaren (v.l.) ist eindeutig *stadienspezifisch*, denn es handelt sich hier um Saatgut in der Keimruhe. Solche Eigenschaften von GOT-C werden in Kap. 5.1.1.2. näher untersucht werden.

5.1.1.2. Untersuchungen zur stadienspezifischen Aktivität einzelner Teilzonen des Markergenlocus GOT-C

Bei den Vorexperimenten zur Klärung der optimalen physikochemischen Elektrophoresebedingungen wurde beobachtet, daß in GOT-Zymogrammen aus Embryo- und Makrogametophytengewebe ungekeimter Samen eine Aktivität der Zonen 3 und 4 regelmäßig fehlte. Außerdem schien die Aktivität (Farbintensität) der Zone 5 im Makrogametophyt mit Fortschreiten des Keimstadiums abzunehmen, diejenige des Embryos hingegen stieg offensichtlich gleichzeitig an. Diese Beobachtungen führten zu der **Hypothese** einer *stadienspezifischen, untereinander unabhängigen Aktivität der Teilzonen GOT-C^I, GOT-C^{II} und GOT-C^{III}*.

Zur systematischen Überprüfung der Hypothese wurde bei dem über Saatgut repräsentierten Provenienzen in zusätzlichen Protokollen zu den Hauptuntersuchungen der vorliegenden Arbeit die Länge der Radicula von analysierten Embryonen notiert sowie anschließend die GOT-Zymogramme mit einem Laser densitometrisch⁸⁰ vermessen. Dabei ging man von folgenden Voraussetzungen aus:

- a) Die Längenzunahme der Radicula ist ein meßbares Merkmal, welches die Entwicklung des Keimlings widerspiegelt.
- b) Die im Densitogramm feststellbaren Färbeintensitäten sind meßbare Merkmale für die umgesetzte Menge des Enzym-Substrates und somit Merkmale für die Aktivität des betreffenden Isoenzym.

Ausschließlich Gewebepaarungen, welche über eine homozygote Allelausstattung⁸¹ am Genlocus GOT-C verfügten, gelangten zur Auswertung. Der an dieser Stelle verwendete Datensatz umfaßt Messungen an insgesamt 129 Gewebepaaren (Embryo / Makrogametophyt) aus neun Elektrophoreseläufen. Gewertet wurde die Laserextinktion (Peakhöhe) abzüglich der Hintergrundfärbung des Geles. Durchschnittlich 12 Merkmalsklassen der Keimlingsentwicklung (Länge der Radicula in „cm“) fanden Berücksichtigung pro Stichprobe. Die Klassenbesetzung war unterschiedlich (vgl. Anhang A.II-3a-d). Die Mittelwerte der Laser-Extinktion wurden für die entsprechenden Radicula-Längen ermittelt, um der natürlichen Streuung der Keimlingsentwicklung Rechnung zu tragen. Die Abbildungen 5-5 und 5-6 zeigen Trends der

⁸⁰ Zur Methode vgl. Kap. 3.2.3.; Abbildung A.I-3 zeigt Beispiele von Densitogrammen.

⁸¹ Allel GOT-C4

Aktivität unterschiedlicher Teilzonen von GOT-C am Beispiel der Stichprobe S05/S03.⁸² Dargestellt sind die Mittelwerte der Extinktion der Laser-Lichtquelle über der jeweiligen Länge der Radicula. Im Makrogametophyten Gewebe nimmt die Akti

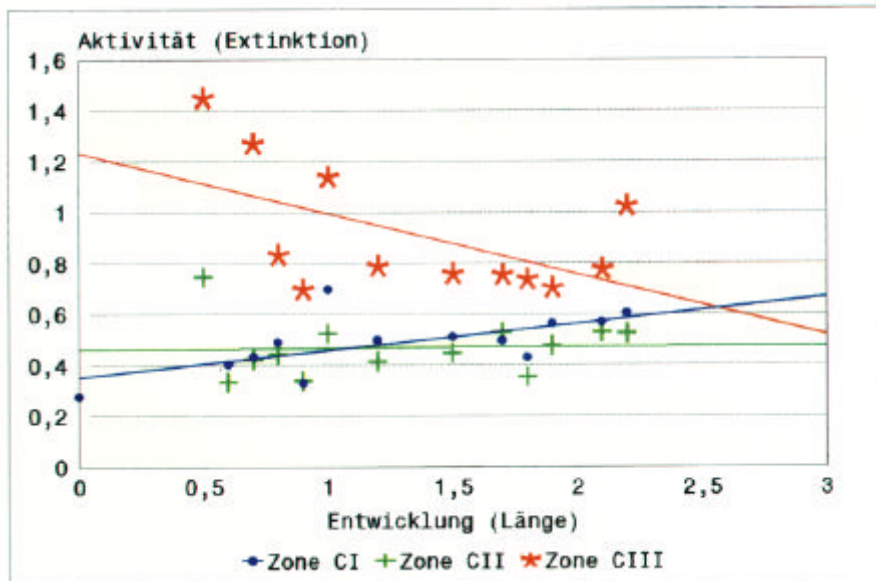


Abb. 5-5: Entwicklungsabhängigkeit der Aktivität einzelner Teilzonen von GOT-C im Makrogametophyten⁸³

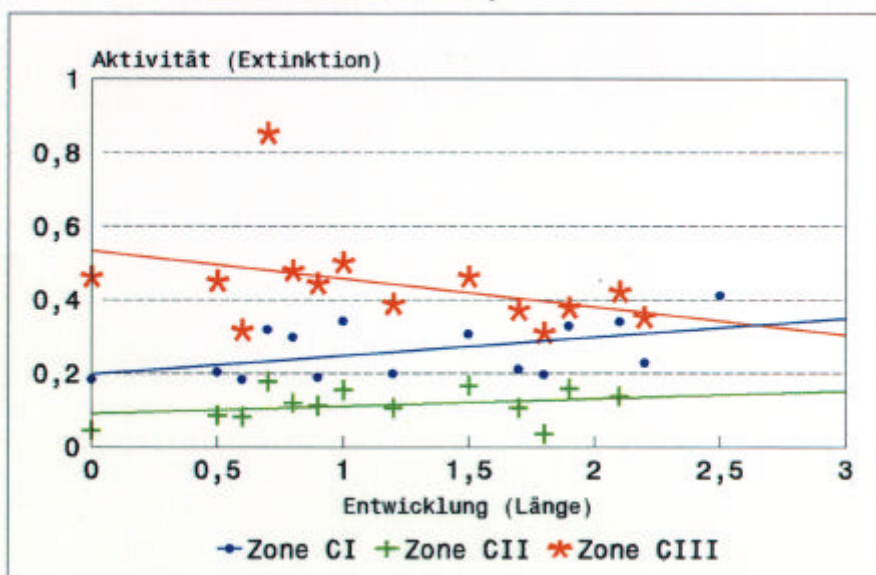


Abb. 5-6: Entwicklungsabhängigkeit der Aktivität einzelner Teilzonen von GOT-C im Embryo⁷⁸

⁸² Ökotyp: nördl. Inlandsdouglasie. Ergänzt durch 12 Gewebepaare aus S03.

⁸³ Die Angabe der Radicula-Länge erfolgt in "cm". Weitere Erläuterungen im Text. Beide Abbildungen wurden im Rahmen einer Posterpräsentation auf dem ISTA Kongress 1994 (Wageningen) vorgestellt.

Tab. 5-2: Rang-Korrelationskoeffizienten [r_s] zwischen Isozymaktivität am Genlocus GOT-C (mittlere Extinktions-Werte) und Länge der Radicula beim Makrogametophyten.*

Teilzone des Mendelgens	Provenienz		
	S04 (südl. Inland)	S05, S03 (nördl. Inland)	S08 (Küste)
GOT-C ^I	+0,6897 (0,01)	+0,6153 (0,025)	+0,7085 (0,05)
GOT-C ^{II}	-	+0,3653 (0,10)	-
GOT-C ^{III}	-0,3399 (-)	-0,5523 (0,05)	-0,2371 (-)

GOT-C^I zu. In beiden Geweben ist der Verlauf der Aktivität von C^{II} schwach positiv mit der Keimlingsentwicklung korreliert.

Rang-Korrelationskoeffizienten nach *SPEARMAN* charakterisieren die entwicklungsabhängige Aktivität der drei Teilzonen von GOT-C für mehrere Provenienzen. Der Zusammenhang zwischen Aktivitätszu-

Tab. 5-3: Rang-Korrelationskoeffizienten [r_s] zwischen Isozymaktivität am Genlocus GOT-C (mittlere Extinktions-Werte) und Länge der Radicula beim Embryo*

Teilzone des Mendelgens	Provenienz		
	S04 (südl. Inland)	S05, S03 (nördl. Inland)	S08 (Küste)
GOT-C ^I	-0,1108 (-)	+0,4854 (0,05)	+0,4891 (-)
GOT-C ^{II}	-	+0,2885 (-)	-
GOT-C ^{III}	-0,5190 (0,05)	-0,3895 (0,10)	-0,0698 (-)

Erläuterungen:

*) Signifikanzniveau (P) in Klammern (Werte aus SACHS 1996, Tab. 103)

vität von GOT-C^{III} mit zunehmendem Wachstum des Keimlings ab, während gleichzeitig diejenige von GOT-C^I deutlich steigt. Ganz ähnlich verläuft die Entwicklung im Embryo, wenn auch auf insgesamt niedrigerem Aktivitätsniveau und in leicht schwächerer Form: die GOT-C^{III}-Menge nimmt ab, diejenige von

nahme von GOT-C^I und Keimentwicklung bzw. Länge der Radicula ist am deutlichsten im Makrogametophyten-gewebe zu sehen (Tab. 5-2). Diese Ergebnisse sind statistisch signifikant für alle untersuchten Populationen. Die Abnahme der Isoenzymaktivität von GOT-C^{III} präsentiert sich im haploiden Gewebe dagegen weniger einheitlich; nur für die nördliche Inlands-douglasie liegt ein signifikanter Wert vor.

Die Untersuchung von Embryonen (Tab. 5-3) ergab für die südliche Inlandspopulation S04 ein abweichendes Ergebnis mit sehr schwach negativ korrelierter Aktivität in der Zone GOT-C^I und einer deutlichen, negativen Korrelation zwischen der GOT-C^{III}-Menge und der Länge der Radicula. Bei den übrigen Provenienzen wurden positive Korrelationen für GOT-C^I und schwach bis sehr schwach negative für GOT-C^{III} gefunden. Für einen Teil der Fälle sind auch diese Ergebnisse statistisch gesichert. An der Teilzone GOT-C^{II} konnte für den Makrogametophyten der nördlichen Inlandsprovenienzen ein statistisch gesicherter Wert ermittelt werden. Bei den übrigen Populationen war das vorhandene Datenmaterial zu gering.

Tab. 5-4:
Unabhängigkeit der Aktivität der Teilzonen
GOT-C^I und GOT-C^{III} untereinander*

Gewebe	Provenienz	
	S04	S08
Embryo	$<1 \times 10^{-7}$	2×10^{-5}
Makrogametophyt	$<1 \times 10^{-6}$	2×10^{-3}

Tab. 5-5:
Unabhängigkeit von GOT-C-Teilzonen der
Population S05 / S03 untereinander*

Gewebe	Teilzone		
		C ^I	C ^{II}
Embryo	C ^{III}	$<1 \times 10^{-9}$	$<1 \times 10^{-9}$
	C ^{II}	$<1 \times 10^{-9}$	-
Makrogametophyt	C ^{III}	$<1 \times 10^{-9}$	$<1 \times 10^{-9}$
	C ^{II}	5×10^{-4}	-

Erläuterungen: *) Signifikanzniveau (P) der Ablehnung von H₀ für den Wilcoxon-Test f. Paardifferenzen. (vgl. Kap. 3.2.2.)

Mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen wurde geprüft, ob die Einzelwerte der Laser-Extinktion zweier Teilzonen aus einer gemeinsamen Grundgesamtheit stammen. Diese Hypothese konnte ausnahmslos verworfen werden. Die Aktivität der einzelnen Teilzonen von GOT-C wird offensichtlich völlig unabhängig voneinander gesteuert. Wie die Tabellen 5-4 und 5-5 verdeutlichen, ist dieses Ergebnis auf hochsignifikantem Niveau gesichert.

5.1.1.3. Diskussion

Die von ADAMS und Kollegen (1990) beobachtete, gewebespezifische Ausprägung der GOT-Zymogramme konnte in den für die vorliegende Arbeit durchgeführten Experimenten als verfahrensbedingt geklärt werden. Bereits in einer früheren Arbeit hat GOTTLIEB auf die tatsächliche Gefahr verfahrensbedingter Ergebnisse bei GOT hingewiesen (ders. 1981, S.12). Somit findet sich diese Problematik bei der Arbeit mit unterschiedlichen Kulturpflanzen und ist keineswegs auf die Douglasie beschränkt.

Als gewebespezifisch ist lediglich die geringere Aktivität von GOT-C im Embryo- und Knospengewebe festzuhalten, welche durch die densitometrischen Messungen quantifiziert wurde. Diese Beobachtung

kann nicht auf die Konzentration des jeweiligen Gewebes im Extraktionspuffer zurückgeführt werden, denn zum einen wurde eine geringere Menge des Extraktionspuffers bei den fraglichen Gewebearten verwendet, um annähernd ähnliche Konzentrationen zu erreichen. Zum anderen wurde neben steigenden Aktivitäten in der Teilzone GOT-C^I gleichzeitig überwiegend abnehmende Aktivitätstendenzen in dem Teilbereich GOT-C^{III} festgestellt. Darüberhinaus weist das stabile Aktivitätsniveau von GOT-B, das in unterschiedlichen Gewebearten und verschiedenen Entwicklungsstufen des Keimlings beobachtet werden kann (KLUMPP et al. in Vorbereitung), ebenfalls auf eine gewebespezifische Aktivität von GOT-C. Im übrigen fällt auf, daß der kleine Datensatz aus der Population S04 (38 Gewebepaare) nur in der Kategorie der jeweils deutlichsten Änderung der Enzymaktivität (Makrogametophyt: C^I; Embryo C^{III}, vgl. Tab. A.II-3a) statistisch gesicherte Ergebnisse generiert. Der größte Datensatz, derjenige von S05/S03 (56 Gewebepaare), ermöglicht die bessere statistische Absicherung der Ergebnisse. Die Schwierigkeit, über verschiedene Elektrophoreseläufe hinweg eine Vergleichbarkeit der einzelnen Gel-Färbungen in ihrer Gesamtintensität sicherzustellen, setzt hier einer Ausweitung des Datensatzes Grenzen.

Die stadienspezifische Komponente in der Ausprägung von GOT-Zymogrammen war bislang nur für die Gemeine Kiefer und die Schwarzfichte bekannt. RUDIN & EKBERG (1978, S.4) berichteten über eine auffallend schwächere Färbung der Genloci B und C aus ungekeimtem Saatgut der erstgenannten Baumart. BOYLE & MORGENSTERN (1985) erwähnten eine mangelnde Aktivität des B-Locus bei Embryonen der Schwarzfichte⁸⁴. Für die Douglasie konnte dagegen in der vorliegenden Arbeit nur für den Markergenlocus GOT-C und dort nur für die Teilzonen GOT-C^I und C^{II} eine fehlende Aktivität bei unter Dormanz stehendem Saatgut festgestellt werden (Kap. 5.1.1.2.). CONKLE (1992) berichtet allgemein von einer schwächeren Aktivität der B-Zone bei Koniferen, welche mit zunehmendem Keimungsfortschritt zunimmt. Diesbezügliche Messungen wurden vom Verfasser an der Douglasie durchgeführt, sie müssen aus Platzgründen an anderer Stelle publiziert werden.

Bei Pflanzen der Gattungen *Panicum*, *Lolium*, *Pisum* und *Phaseolus* sind entwicklungspezifische Aktivitäten des Aminotransferasesystems mittels analytisch-chemischer Methoden studiert worden. Eine Übersicht hierzu gaben WIGHTMAN und FOREST (1978, S. 1456 ff.).

Obwohl sich bei einer Reihe von Koniferen der dritte Markergenlocus als Mehrfachbandenmuster schon im haploiden Gewebe präsentiert, gab es bislang wenige Ansätze, diese Besonderheit zu klären. Bei *Pinus silvestris* (1978), bei *Pinus rigida* (GURIES & LEDIG 1978), bei *Picea abies* (LUNDKVIST 1979, RUDIN & EKBERG 1978, POULSEN et al. 1983), bei *Picea glauca* (KING & DANKIK 1983) sowie bei *Abies alba* (KONNERT 1992) werden beispielsweise zwei Banden im haploiden Gewebe beschrieben, die stets gleichsinnig variierten. Ein dreigliedriges Muster für Makrogametophytengewebe wurde außer bei der Douglasie auch bei *Pinus taeda* (ADAMS & JOLY 1980), bei *Calocedrus decurrens* (HARRY 1986) und bei *Sequoiadendron giganteum* (FINS & LIBBY 1982) gefunden. Auch bei krautigen Pflanzen wird über dieses Phänomen berichtet (zur Übersicht vgl. WENDEL & WEEDEN 1990).

Während GURIES & LEDIG (1978) als Erklärung noch die Alternativen ein kontrollierender Genlocus bzw. zwei eng benachbarte Genloci in den Raum stellten, ging LUNDKVIST (1979) bei der Fichte von zwei getrennten Genloci aus und bemühte evolutionäre Mechanismen, um die Übereinstimmung zu anderen Forschungsergebnissen herzustellen. POULSEN und Kollegen stellten wenige Jahre später (dieselben, 1983) für die Fichte die Regulation durch zwei Loci bzw. die Existenz von intergenischen Hybridbanden zum Markergenlocus GOT-B zur Diskussion. Einzig HARRY zählte neben einer Steuerung durch ein und denselben Markergenlocus auch die Steuerung durch eng benachbart liegende, durch

⁸⁴ Bei *Picea mariana* sind nur zwei Genloci für GOT bekannt (vgl. Kap. 2.3.1.).

Genverdopplung entstandene Loci auf und spekulierte darüberhinaus, ob diese 3-fach Bänderung von GOT-C bei der Flußzeder nicht das Ergebnis einer posttranslationalen oder posttranscriptionalen Modifikation sein könnte (ders. 1986, S. 263). Neben einer posttranslationalen Modifikation wird von anderen Autoren allerdings auch eine Modifikation *in vitro* in Betracht gezogen (vgl. WENDEL & WEEDEN 1990, S. 38).

Die Tatsache, daß die Variation aller drei GOT-C-Zonen bei der Douglasie gleichsinnig verläuft und bislang von keinem Autoren eine Abweichung hiervon registriert wurde, legt die Erklärung nahe, alle drei Zonen werden von ein und demselben **Mendelgen** (= GOT-C) gesteuert. Für diese Annahme sprechen auch die Segregationsanalysen von ADAMS und Kollegen (1990). Da die bekannten Variationen dieses Merkmals durch die jeweils schnellsten (GOT-C^I) bzw. langsamsten Banden (GOT-C^{III}) alleine hinreichend und unverwechselbar charakterisiert sind, genügt es nur eine der beiden Zonen für bestimmte Experimente zu beobachten. Außerdem ist dadurch auch die Analyse ungekeimten Saatgutes ohne weiteres möglich.⁸⁵

Die untereinander unabhängige und sich mit dem Entwicklungszustand des Keimlings ändernde Aktivität der einzelnen Teilzonen von GOT-C spricht gegen eine *in vitro* Modifikation und weist auf die Beteiligung von mindestens zwei weiteren, selbständigen Steuereinheiten in der (genetischen) Regulation hin:

Am wahrscheinlichsten erscheint das Modell einer Steuerung des Proteinaufbaues durch ein **Strukturgen**, welches den Bau der "langsamsten"⁸⁶ Allozyme, das sind diejenigen der Zone **GOT-C^{III}**, steuert. Aus dieser Ursprungsform werden dann **posttranslational** durch Proteolyse (Abspaltungen) zwei weitere Formen, die Allozyme der Zonen C^I und C^{II} erzeugt, welche für Spezialaufgaben, vielleicht für den Transport durch Membranen, benötigt werden. Mit diesem Modell erklärt sich sowohl die gleichgerichtete Variation aller drei Teilzonen von GOT-C als auch die Variationsbreite der Wandergeschwindigkeiten untereinander (vgl. ADAMS et al. 1990), da sich bei gleicher Schnittstelle in der Primärstruktur aus verschiedenen Proteinformen durchaus unterschiedliche Quotienten⁸⁷ aus Ladung und Durchmesser der Folgeprodukte ergeben können.

Ob eine derartige, posttranslationale Modifikation über zusätzliche Strukturgene oder über eine Produktkette gesteuert werden, vermag die Allgemeine Genetik heute noch nicht zu sagen (STRICKBERGER 1988, S. 611 ff.). Im vorliegenden Fall sind beide Lösungen zunächst gleichermaßen mit den Ergebnissen vereinbar. Nachgewiesen wurde die posttranslationale "Zurechtstutzung" von Proteinen beispielsweise bei Ribulosebiphosphat-Carboxylase und den Hauptproteinen aus dem Chlorophyll - a,b - Komplex II (zur Übersicht vgl. RICHTER 1988, S. 535). Für einige andere Enzymsysteme ist im Unterschied zu den vorstehenden Überlegungen die Anlagerung von kleinen Molekülen (z.B. Phosphorelierung) nachgewiesen (zur Übersicht vgl. WEEDEN & WENDEL 1990, S. 60). Eine solche Ursache posttranslational erzeugter Mobilitätsänderung bleibt auf grund der damit verbundenen Vergrößerung des Moleküles deshalb außer Betracht, weil der langsamste Isoenzymphänotyp im Ruhestadium von Saatgut alleine nachweisbar ist und somit eine Verkleinerung der Modifikationsprodukte wahrscheinlicher ist.

Nicht haltbar ist die Hypothese, drei eng gekoppelte Genloci würden die parallel variierenden 3-fach Muster erzeugen. Im Laufe der Phylogenese der Douglasie hätten sich zumindest einige wenige verschiedenartige Gene an den Teilzonen des Mendel-Genlocus GOT-C entwickeln müssen, deren gekop-

⁸⁵ Die Wahl eines geeigneten Trennpuffersystemes ist zu beachten (vgl. Kap. 5.1.1.1.).

⁸⁶ (weil größten und mit geringerer Ladung)

⁸⁷ Die Wandergeschwindigkeit eines beliebigen Körpers im elektrischen Feld ist proportional zu dem Quotienten aus seiner elektr. Ladung q und seinem Durchmesser d .

pertes Auftreten Rückschlüsse auf eine genetische Kontrolle der genannten Art zugelassen hätten. Eine untereinander abgestimmte Reihenfolge der physikochemischen Eigenschaften aller drei Teilzonen könnte jedoch für die Viabilität entscheidend sein und daher eine Selektionskraft bilden, welche das Entstehen verschiedenartiger Gene an gekoppelten Loci unterdrückt. In dem oben genannten Zusammenhang ist dieser Einwand nicht überzeugend, wenn die am Mendelgen GOT-C beobachteten, heterozygoten Merkmalsträger berücksichtigt werden, welche dann über heterodimere Proteine verfügen.

Die dritte, von HARRY (1986) in Erwägung gezogene Möglichkeit, die der posttranscriptionalen Modifikation, ist wenig plausibel. Unter einem solchen Vorgang versteht man bekanntlich die Reifung der Messenger-RNA, durch welche deren Funktionsfähigkeit erst hergestellt wird (RICHTER 1988, S. 502). Auch hier sind Modifikationen bekannt, die von einer "Bauanleitung" zu mehreren, unterschiedlichen Formen von Proteinen führen. Allerdings weiß man bisher nur von unterschiedlichen Spleiß-Wegen in unterschiedlichen Organen und nicht, wie im Falle von GOT-C bei Douglasie, in unterschiedlichen Organellen ein und desselben Organs. Außerdem führen posttranscriptionale Modifikationen nicht selten zu zwar verwandten, aber doch funktionsverschiedenen Polypeptiden, wie das Beispiel der Peptidhormone⁸⁸ Calcitonin und CGRP zeigt (vgl. SUZUKI et al. 1991, S. 297).

5.1.1.4. Zusammenfassung

Das Enzymsystem GOT wird bei der Douglasie von drei Genloci gesteuert. Gewebespezifische Ausprägungen der Zymogramme für Makrogametophyt- Embryo- und Apicalmeristemgewebe sind im engeren Sinn nicht zu beobachten. Unter suboptimalen Laborbedingungen können verfahrensbedingt Änderungen in den Zymogrammen auftreten, die vor allem den Genlocus GOT-B und das Knospengewebe betreffen. Der Genlocus GOT-C stellt einen Mendel-Genlocus dar, dessen Produkte (C^{III}) offensichtlich posttranslational zu zwei kleineren Formvarianten (C^{II} , C^I) dieses Isoenzym abgeändert werden. Die Aktivitäten der drei unterschiedlichen Isoenzyme von GOT-C sind untereinander unabhängig und zeigen im Makrogametophyten- sowie im Embryogewebe einen entwicklungspezifischen Verlauf. Embryo- und Knospengewebe weisen schwächere Aktivitäten von GOT-C auf als Makrogametophytengewebe.

⁸⁸ Aus der gleichen "Bauvorlage" (Primärtranscript) entstehen bei Säugern in der Schilddrüse *Calcitonin* und im Hypothalamus *CGRP* (SUZUKI et al 1991, S. 297).

5.1.2. Die Zymogramme des Enzymsystemes IDH

Das Enzymsystem IDH wird bei der Douglasie von einem Marker-Genlocus gesteuert. Ganz gleich welche Trennpuffersysteme eingesetzt werden oder wie lange unterschiedliche Färbepuffer einwirken, stets findet sich nur ein Variationsband von Elektromorphen in den IDH-Zymogrammen (vgl. Kap. 2.3.2.).

Tab. 5-6.: Die Isoenzyme des Systems IDH

Enzym-Genlocus	Nr.	Alloenzyme				Prüfung	
		Positionen					
		[rf] ¹	[rm] ²	[rm] ³	[rm] ⁴		
	1	2	3	4	5	6	7
IDH	1	27	-	-	155	(1)	
	2	23	-	-	-	(1)	
	3	20	122	133	123	(1),(2)	
	4	17	-	120	116	(1)	
	5*	15*	100	100	100	(1),(2)	
	6	-	90	75	92	(2)	
	7	10	-	-	82	(1)	
	8	5	65	50	65	(1),(2)	
	null	..	-	-	..	(1)	

Erläuterungen:

1. Morph.-Citr.-Puffersyst., Angaben aus (1)
2. Tris-Citro.-Puffersyst., Angaben aus (2)
3. Morph.-Citr.-Puffersyst.(D), vgl. Tab. 3-6
4. Tris-Citro.-Puffersyst. (C), vgl. Tab. 3-6
- * Häufigstes Allozym (Allel)

fett gedruckte Zahlen verweisen auf direkte Vergleiche

Literatur:

- (1) ADAMS et al. 1990
- (2) EL-KASSABY et al. 1982

Während die bisherigen Veröffentlichungen vier (EL-KASSABY et al. 1982), sechs (NEALE et al. 1984) bzw. acht Allele (ADAMS et al. 1990) beschreiben, muß nach den hier vorliegenden Ergebnissen von neun unterschiedlichen Allelen am Genlocus IDH ausgegangen werden (Tab. 5-6). Vergleiche von IDH-Zymogrammen, aufgetrennt unter Verwendung eines Morpholin-Citrat- sowie eines Tris-Citro-Puffersystemes, ermöglichten eine Zuordnung der einzelnen rm-Werte sowie Rückschlüsse auf andere Arbeiten, wie in den Spalten 3 bis 6 der Tabelle 5-6 angeführt. Analysiert wurde Material der Populationen S26 und S27. Die Abbildungen 5-7 und 5-8 zeigen, daß das Trennpuffersystem "Morpholin-Citrat" über den Nachteil kurzer Wanderstrecken verfügt, verbunden mit geringen Trenn-Abständen zwischen den Banden. In diesem Beispiel betrug die Wanderstrecke von IDH-5 nur 1,5 cm im Vergleich zu 3,1 cm im Tris-Citro-Puffersystem.

Gewebespezifische Unterschiede konnten in dem hier untersuchten Material ebensowenig beobachtet werden, wie bei anderen Autoren (vgl. ADAMS et al. 1990, S.164). Das äußerst seltene Allel IDH-1 trat im eigenen Knospenmaterial nicht auf und wurde nur im Saatgut gefunden (Provenienz S27, British Columbia). Die Autoren LI & ADAMS (1989) fassen für ihre Berechnungen die Häufigkeiten von IDH-2

und IDH-3 zu einem Wert zusammen, offensichtlich weil die Trennschärfe ihres Puffersystemes zu gering ist⁸⁹. Aussagen über geographische Variation oder Häufigkeiten des Alleles IDH-2 sind in jener Arbeit (ibid. 1989) deshalb nicht möglich.

Die Abbildung 5-9 zeigt das Analyse-Ergebnis von Knospengewebe der Provenienz B03 mit den Allelen Nr. 3, 5, 6, 7 und 8. Die Existenz der "langsamen" Allele Nr. 6 bis 8 ist hier deutlich dokumentiert.

5.1.3. Die Zymogramme des Enzymsystemes LAP

Färbt man die Gele mittels L-Leucin- β -Naphthylamid zur Darstellung von LAP an (ADAMS et al. 1990), so erhält man ein Zymogramm, in welchem auf den ersten Blick zwei Zonen färben. Die oberste Zone scheint vielfach aus doppelten Banden zu bestehen, wobei im Embryo oder Knospengewebe nicht selten eine schwächere Farbintensität bei der schnelleren Banden vorliegt. Die Abbildungen 5-10 und 5-11 zeigen diesen Sachverhalt. Dargestellt sind Zymogramme von Knospengewebe zweier Bäume aus badi-schen Beständen (B05, B07) sowie Makrogametophyt / Embryo-Paarungen aus der Saatgutprobe S02 (Colorado).

Tab. 5-7.: Die Isoenzyme des Systems LAP

Enzym-Genlocus	Nr.	Alloenzyme		Prüfung	Hinweise:		
		Position [rf] ¹	Position [rm] ²		[rm] ³	„Zusatzbanden“ [rf]	
1	2	3	4	5	6	7	8
Makrogametophytenzone		68, 64?	107?	106			
LAP-A (LAP1) ⁴	1	66	104	103	(1)		
	2*	64*	100	100	(1)	64/68	(1)
	3	61	96	97	(1)	61/64	(1)
	4	60	94	93	(1)	60/64	(1)
	n	(1)		
LAP-B (LAP2) ⁴	1	59	105	104	(1)		
	2	58	102	102	-		
	3*	56*	100	100	(1)		
	4	55	96	97	(1)		
	5	54	94	95	(1)		
n	(1)			

Erläuterungen:

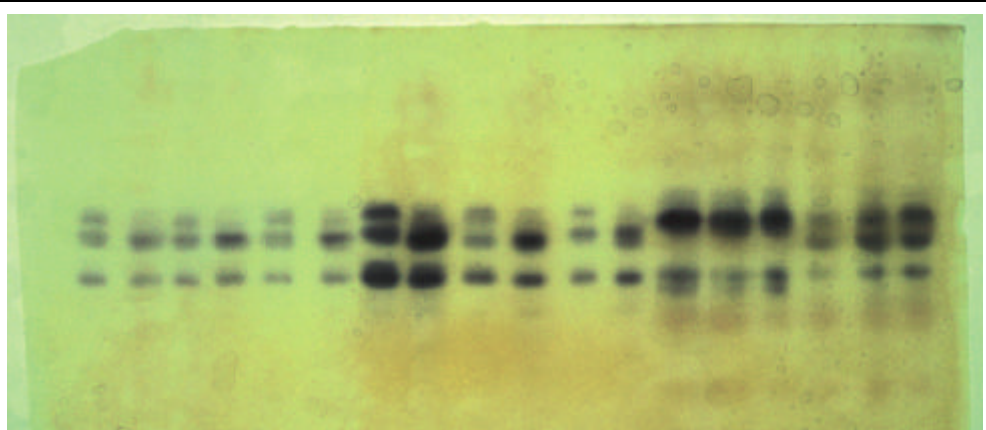
1. LiOH/H₃BO₃-Puffersyst., Angaben aus (1)
2. LiOH/H₃BO₃-Puffersyst. (A), vgl. Tab. 3-6
3. NaOH/H₃BO₃-Puffersyst. (B), vgl. Tab. 3-6
4. Übliche Bez. i.d. amerikanischen Literatur
- * Häufigstes Allozym (Allel)

fett gedruckte Zahlen verweisen auf direkte Vergleiche

Literatur:

- (1) ADAMS et al. 1990

⁸⁹ LI, persönliche Mitt. 1989: 1 mm.

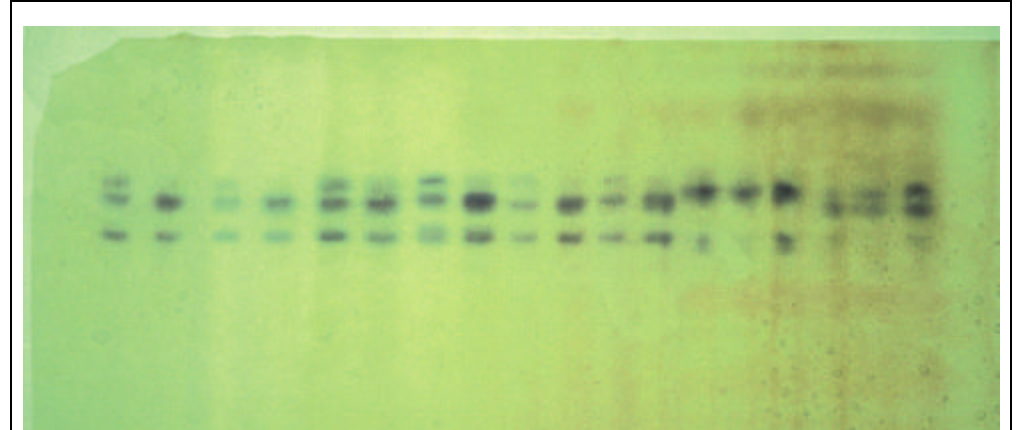


Er M Er M

Kn: Baum A

Kn: Baum B

Abb. 5-10: LAP-Zymogramm (Population S02) aus Makrogametophyten- (M), Embryogewebe (Er) und Knospengewebe
Trennung : Puffersystem A (pH 8,1 - 8,3).

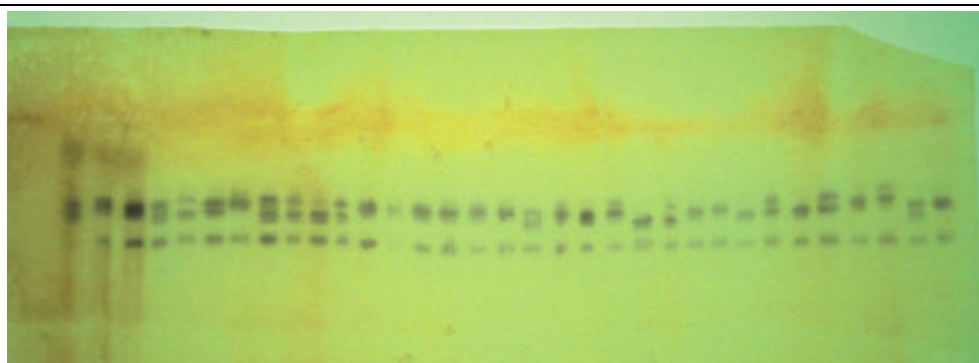


Er M Er M

Kn: Baum A

Kn: Baum B

Abb. 5-11: LAP-Zymogramm (Population S02);
Präparat identisch mit Abb. 5-10.
Trennung : Puffersystem B (pH 8,6 - 8,8).



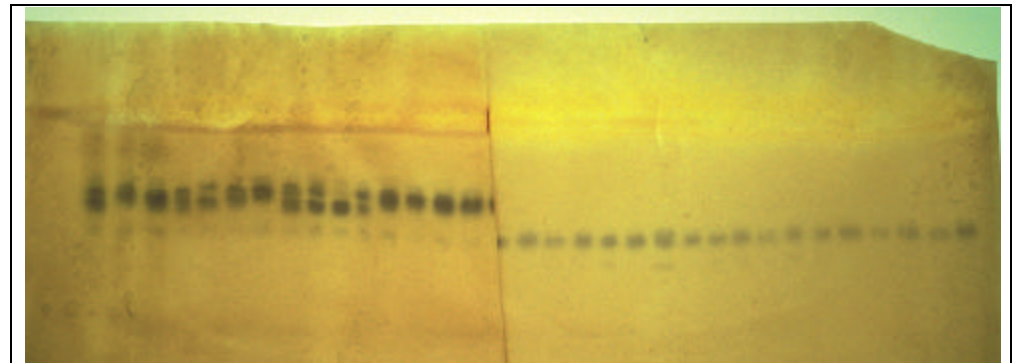
Kn24 Kn19 Kn06

Er M24

Er M06

Er M19...

Abb. 5-12: LAP-Zymogramm (Einzelbaumbeerntung Bestand B06 aus Ma
krogametophyten- (M), Embryo- (Er) und Knospengewebe (Kn).
Trennung : Puffersystem B.



Kn24 Kn19 Kn06

Er M24

Er M06

Er M19

Abb. 5-13: AMP-Zymogramm, Präparat identisch mit Abb. 5-12. Linke Hälfte
gefärbt mit Substrat Phenylalanin, rechte Hälfte mit Lysin.
Trennung : Puffersystem B.

Beide Abbildungen enthalten identische Präparate, aufgetrennt mittels Trennpuffersystem A („Ashton & Bradon“: Abb. 5-10) bzw. B („Poulik“: Abb. 5-11). Bei der Auftrennung mit dem Puffersystem „Ashton & Bradon“ ist der Farbunterschied im Makrogametophyten- und Knospengewebe zwischen den Banden der Zone LAP-A und der unregelmäßig auftretenden anodalen Zone besonders deutlich. Nicht so bei der Auftrennung mittels Puffersystem „Poulik“ (Abb. 5-11). Da die Banden der zusätzlichen anodalen Zone in mehreren Varianten beobachtet wurden und ihre Lage teilweise mit der von Allozymen der Zone LAP-A zusammenfällt, ist die Interpretation dieser Zonen teilweise nicht unproblematisch. Adams und Kollegen haben insgesamt drei doppelgebänderte Varianten am Genlocus LAP-A unterschieden (Tab. 5-7, Sp 7, 8) und auf Grund möglicher Verwechslungen bei der Interpretation diploiden Gewebes alle sechs Varianten zu drei Gruppen zusammengefaßt (ADAMS et al. 1990). Die Überprüfung der Mendelsegregation ergab jedoch in einem Fall eine signifikante Abweichung (ADAMS et al. 1990), ganz so, wie dies für LAP bei anderen Baumarten⁹⁰ (z.B. MÜLLER 1976) bekannt ist. Die oft zu beobachtende, schwächere Farbintensität der anodalen „Zusatzbanden“ wurde im Falle der vorliegenden Arbeiten als Indiz für die Aktivität anderer Genloci gewertet. Diese Hypothese wird in Kapitel 5.1.3.1. näher untersucht werden.

Wie bereits in Kapitel 5.1.1.1. für das Enzymsystem GOT ausgeführt, so zeigte auch hier das Trennsystem A Vorteile bei der Darstellung von Knospengewebe. Die Enzymsysteme LAP und GOT konnten daher im jeweils gleichen Trennsystem bearbeitet werden: Saatgutproben in Trennsystem B und Knospenproben in Trennsystem A. Die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Zymogramme wurde in Vorversuchen sowie bei der Analyse von Einzelbaumbeerntungen des Bestandes B06 überprüft. Tabelle 5-7 listet die Angaben der Arbeitsgruppe um T. Adams aus Corvallis sowie die korrespondierenden *r_m*-Werte aus der vorliegenden Untersuchung auf. Die Allozyme der beiden Genloci LAP-A und LAP-B liegen in beiden Trennsystemen dicht beieinander und sind z.T. nur durch eine Wanderstrecke von 1mm getrennt, was eine Vermessung der Zymogramme erheblich erschwert.

5.1.3.1. Untersuchungen zur Substratspezifität der Gruppe der Amino-peptidase-Genmarker.

Bereits im Überblick⁹¹ über Bau und Funktion des Enzymsystemes Leucin-Amino-peptidase war von Interpretationsproblemen bei den entsprechenden Zymogrammen die Rede. Diese ziehen sich wie ein roter Faden durch die Literatur und werden bei sorgfältigen Arbeiten an unterschiedlichen Pflanzenarten festgestellt. Frühe Publikationen aus dem Bereich der Forstgenetik berichten über unterschiedliche Aspekte derartiger Probleme, etwa über das Auftreten von „Null“-Allelen (*Pinus rigida*: GURIES & LEDIG 1978), über mißlungene Versuche die Segregation von „Null“-Allelen nachzuweisen (*Pinus taeda*: ADAMS & JOLY 1980) oder schlicht von unüblich breiten Banden der Allozyme aus der „schnellen“ Zone (*Pinus taeda*: ADAMS & JOLY 1980). Zu diesem Zeitpunkt galten Peptidasen in der allgemeinen Phytochemie bereits als wenig substratspezifisch (GOTTLIEB 1981), weshalb bei Wirtschaftspflanzen vorzugsweise von Amino-peptidasen (abgekürzt AMP) anstelle der Bezeichnung LAP gesprochen wurde. Hierunter werden Enzymgenmarker zusammengefaßt, welche mittels der β -Naphthylamid-Derivate der Aminosäuren Alanin, Arginin und Leucin nachgewiesen werden können (GOODMAN & STUBER 1983). In der Forstgenetik setzt sich dieses Erkenntnis erst langsam durch. Bei den Baumarten Weißtanne und Weißkiefer berichten erste Arbeiten über die unterschiedliche genetische Kodierung der Enzymsysteme

⁹⁰ siehe auch Kap. 2.3.3., S. 24.

⁹¹ vgl. Kap. 2.3.3., S. 24

von Leucin- bzw. Alanin-Aminopeptidase sowie deren Position im Zymogramm (KONNERT 1995, HERTEL 1997).

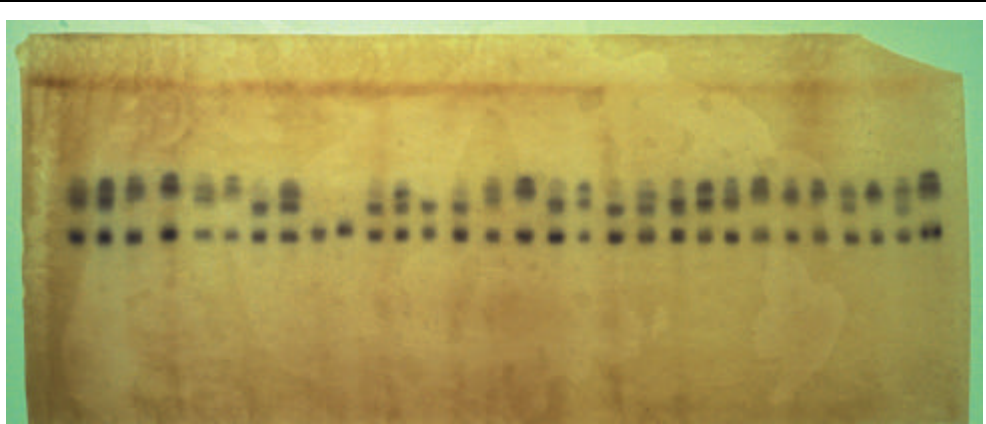
Ausgehend von den Voruntersuchungen zur Darstellung von LAP, bei welchen eine schwachfärbende, der Anode am nächsten liegende Zone von allen Gewebearten im Makrogametophyten am häufigsten beobachtet werden konnte, wird die Hypothese aufgestellt, es handele sich hierbei um die Allozyme eines Genlocus, welche im Makrogametophyten in einer derart hohen Konzentration vorliegen, daß die Aktivität mit dem Substrat Leucin zu einer vergleichbaren Färbeintensität führt, wie bei der Aktivität von LAP-Allozymen mit Leucin. Die Hypothese stützt sich weiter auf die Annahme, daß die Isozyme des vermuteten „Makrogametophyten-Markergenes“ ihre Hauptaktivität bei einer anderen Aminosäure entfalten. Im vorliegenden Unterkapitel werden daher im Anhalt an die Arbeiten von OTT & SCANDALIOS (ibid. 1976) bei *Zea mays* verschiedene Aminosäuresubstrate auf die relative Aktivität unterschiedlicher Isozyme der Aminopeptidase-Gruppe bei *Pseudotsuga menziesii* getestet.

5.1.3.2. Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an Proben von Handelssaatgut (S24, S25) sowie an Einzelbaumbeerntungen des Bestandes B06 (Heidelberg I, 25) durchgeführt. Die Auftrennung erfolgte mit dem Trennpuffersystem B („Poulik“, vgl. Tab. 3-6). Getestet wurden insgesamt sieben Exopeptidasen sowie eine Endopeptidase (Tab. 5-8). Das jeweilige Substrat wurde zu dem üblicherweise für die LAP-Färbung verwendeten Tris-Maleat-Puffer (pH 5,0) zusammen mit „Fast Black K“ (Sigma F-7253) als Färbesalz gegeben. Lediglich bei der Färbung für Isoleucin (pH 5,4) und Valin (pH 5,7) wurde der pH-Wert der Färbelösung durch Zugabe von 1M NaOH-Lösung angehoben. Der Schnitt für die Färbung mit Leucin erfolgte stets an der untersten Stelle im Gelblock, die nächste Schicht darüber, vereinzelt auch die übernächste Schicht, wurden auf verschiedenen Aminopeptidasen angefärbt. Die Zymogramme wurden protokolliert und dokumentiert (vgl. Kap. 3.2.3.).

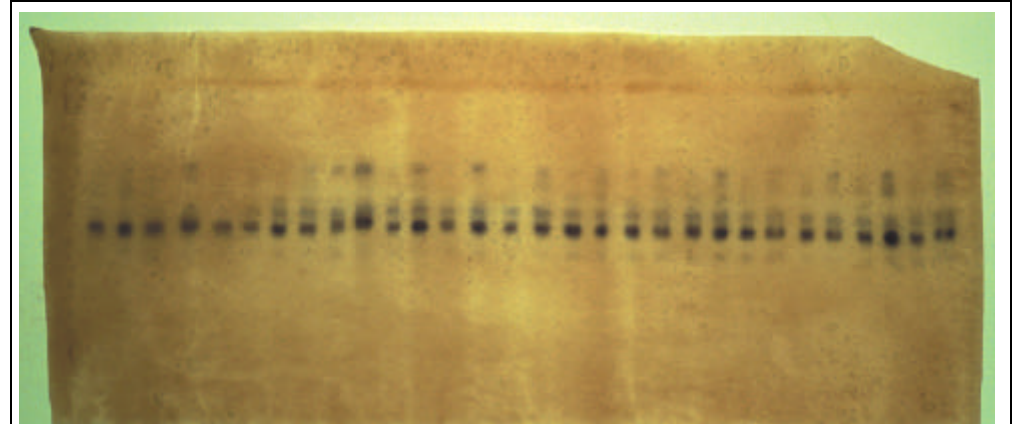
Tab. 5-8: Verwendete Aminosäure-Substrate zum Nachweis von Aminopeptidasen

Aminosäure	Substrat	Hersteller
für Exopeptidasen		
Alanin	L-Alanin- β -Naphthylamid	Serva 11532
Arginin	L-Arginin- β -Naphthylamid HCl	Serva 13966
Isoleucin	L-Isoleucin- β -Naphthylamid	Sigma I-4879
Lysin	L-Lysin- β -Naphthylamid CO ₃ -Salz	Sigma L-6259
Methionin	DL-Methionin- β -Naphthylamid HCl	Sigma M-0626
Phenylalanin	L-Phenylalanin- β -Naphthylamid	Sigma P-3762
Valin	L-Valin- β -Naphthylamid	Sigma V-6001
für Endopeptidase (BANA)	α -N-Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid	Sigma B-4750



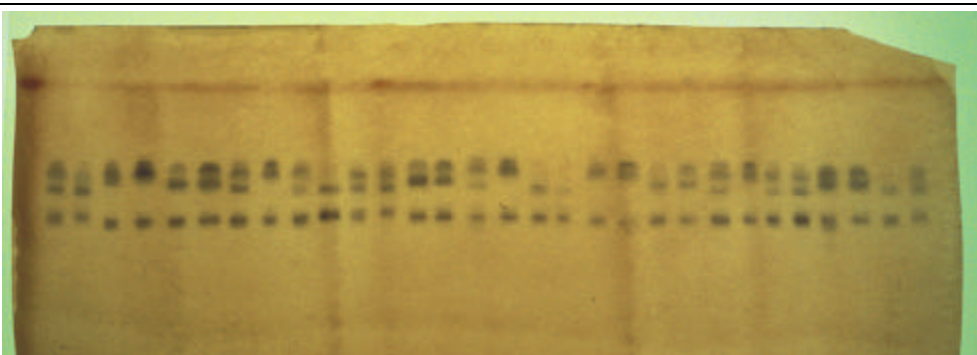
Er M Er M

**Abb. 5-14: LAP-Zymogramm (Population S24) aus Makrogametophyten- (M), und Embryogewebe (Er).
Trennung : Puffersystem B (pH 8,6 - 8,8). Lauf vom 10.04.91.**



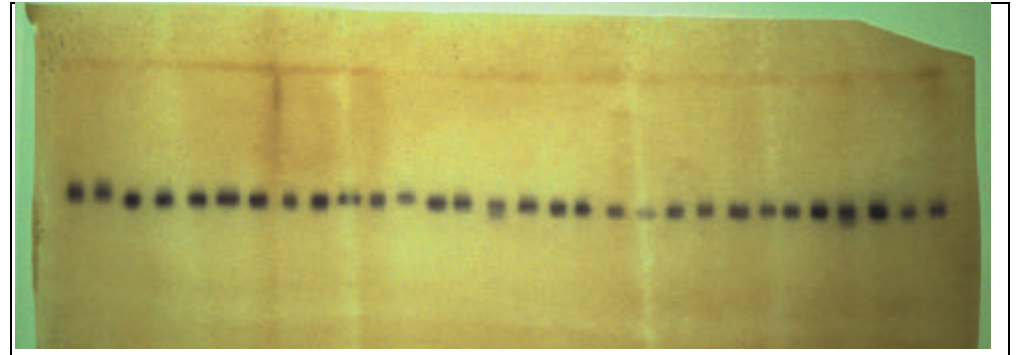
Er M Er M

**Abb. 5-15: Alanin-AMP-Zymogramm (Population S24);
Präparat identisch mit Abb. 5-14.
Trennung : Puffersystem B**



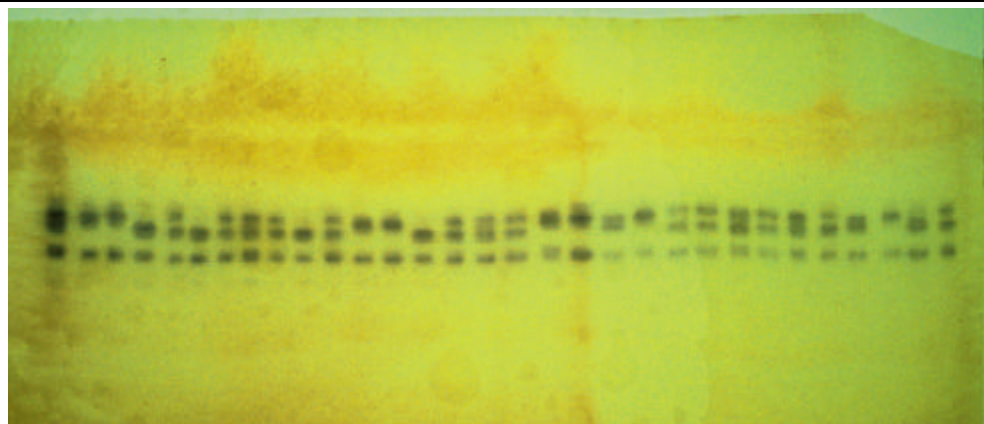
Er M Er M

**Abb. 5-16: LAP-Zymogramm (Population S24) aus Makrogametophyten- (M), und Embryogewebe (Er).
Trennung : Puffersystem B, (pH 8,6 - 8,8). Lauf vom 13.04.91.**



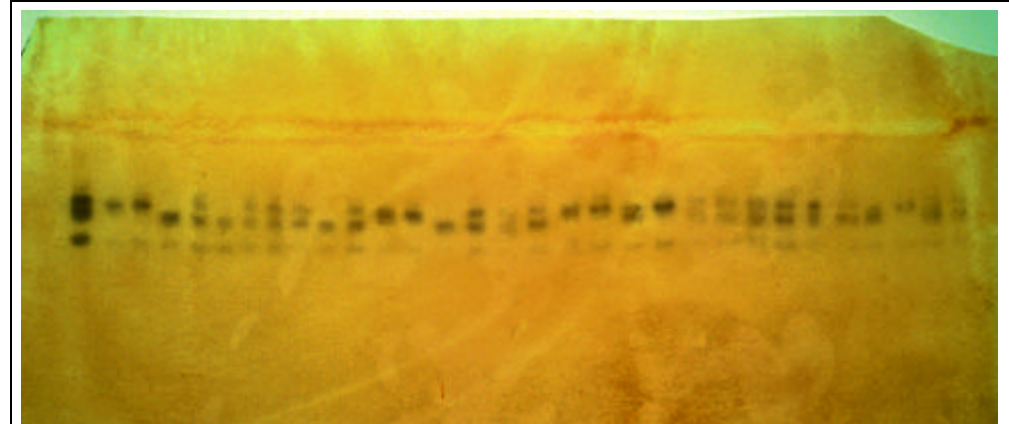
Er M Er M

**Abb. 5-17: Arginin-AMP-Zymogramm (Population S24);
Präparat identisch mit Abb. 5-16.
Trennung : Puffersystem B**



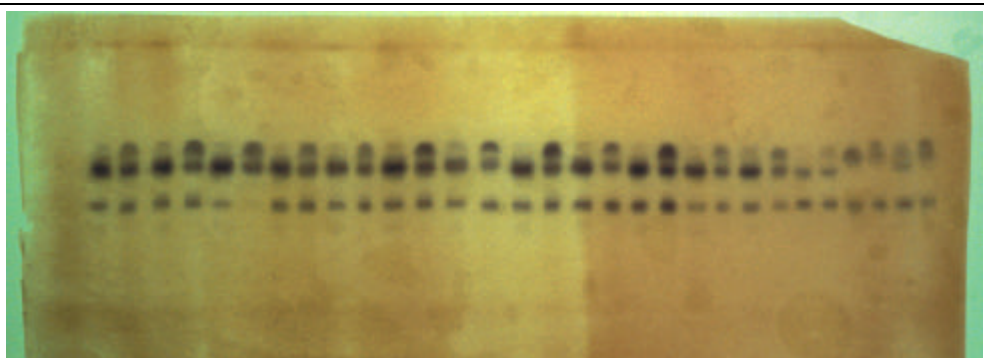
↓
Kn24 Er M Er M

Abb. 5-18: LAP-Zymogramm (Population B06, Nr.24) aus Makrogametophyten- (M), Embryo- (Er) und Knospengewebe (Kn).
Trennung : Puffersystem B (pH 8,6 - 8,8). Lauf vom 10.05.91.



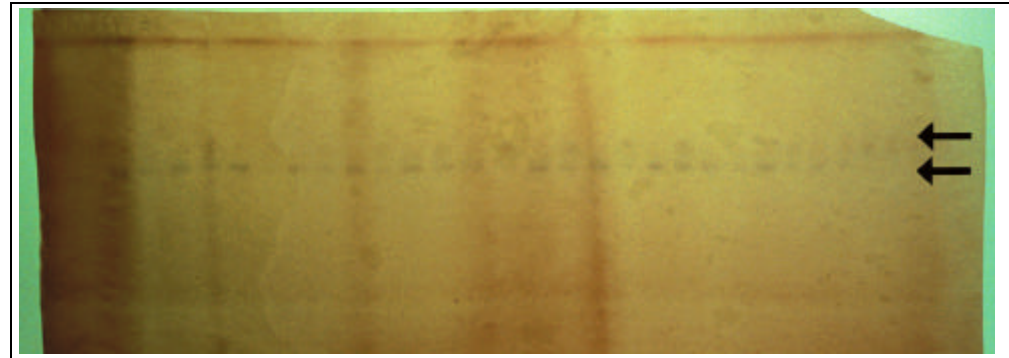
↓
Kn24 Er M Er M

Abb. 5-19: Alanin-AMP-Zymogramm (Population B06, Nr.24).
Präparat identisch mit Abb. 5-18.
Trennung : Puffersystem B



Er M Er M

Abb. 5-20: LAP-Zymogramm (Population S25) aus Makrogametophyten- (M), und Embryogewebe (Er).
Trennung : Puffersystem B, (pH 8,6 - 8,8). Lauf vom 14.04.91.



Er M Er M

Abb. 5-21: Isoleucin-AMP-Zymogramm (Population S25);
Präparat identisch mit Abb. 5-18.
Trennung : Puffersystem B

5.1.3.3. Ergebnisse

Die metrische Auswertung der Densitogramme erwies sich als zu aufwendig, da bei den einzelnen Aminosäuresubstraten teilweise sehr lange Inkubationszeiten (z.B. Valin: 5 Stunden) zu einer erheblich stärkeren Hintergrundfärbung führten als bei den zum Vergleich verfügbaren Leucin-Zymogrammen. Densitogramme wurden daher nur in Einzelfällen zur Abstützung der okularen Einschätzung der Färbungsintensität ausgewertet. Tabelle 5-9 gibt einen Überblick über die Ergebnisse, die durch die Abbildungen 5-12 bis 5-21 illustriert werden. Zu den Zymogrammen unterschiedlicher Substratfärbungen findet sich jeweils links davon eine Abbildung des entsprechenden Zymogrammes aus der Färbung mittels Leucin.

Insgesamt fünf Aktivitätszonen für Aminopeptidasen können bei der Douglasie unterschieden werden. Die schnellste Zone, welche unregelmäßig stark im Makrogametophyten oder Knospengewebe unter Anwendung von Leucin beobachtet wird, kann regelmäßig und deutlich färbend unter Anwendung von Alanin gefunden werden (Abb. 5-15). Da bei Alanin die unmittelbar darunterliegende Zone nicht färbt, können Varianten hier besser beobachtet werden. Bei Methionin und Phenylalanin färbt die oberste Zone schwach im Makrogametophyten, fallweise im Embryo. Die zweite Zone entspricht dem als Genlocus LAP-2 verifizierten Bereich. Isoleucin färbt ausschließlich diesen Bereich bei der Douglasie (Abb. 5-21). Neben Leucin kann hier unter Gabe von Methionin oder Phenylalanin eine starke Färbung erzielt werden, nicht jedoch in der vierten Zone (Abb. 5-13, 5-19). Bei Methionin fällt die Vergleichsweise kräftige Färbung des Knospengewebes in beiden Zonen, zwei und vier, auf (Abb. 5-19, links außen). Bei der Verwendung von Alanin als Substrat tritt eine dritte Zone auf, welche knapp über der vierten zu finden ist. Die vierte Zone, bisher als LAP-2 in der Literatur beschrieben (ADAMS et al. 1990), färbt ausschließlich, wenn man auf Arginin-Aminopeptidasen färbt (Abb. 5-17). Ebenfalls eine regelmäßig starke Färbung wird mit Alanin als Substrat erzielt. Gibt man Lysin als Substrat, so wird zwar die vierte Zone deutlich gefärbt, es erscheint jedoch dahinter eine schwach färbende fünfte Zone (Abb. 5-13, rechts). Letztere findet sich regelmäßiger bei der Färbung mittels Alanin (Abb. 5-19). Valin als Substratgabe führte zu äußerst schwachen Färbungen im Bereich der zweiten, und nur fallweise im Bereich der vierten Zone.

Der Nachweis der Endopeptidase bei Douglasie wurde im Vergleich zu unterschiedlichen Gewebetypen bei *Zea mays* (Sorte *Golda*: Blattspitze, Coleptil, Makrogametophyt) durchgeführt. Das Substrat BANA führte zu Farbreaktionen bei einer Position von $rf = 55$ bei der Douglasie, während beim Mais im gleichen Gel eine Endopeptidaseaktivität bei Position $rf = 63$ zu verzeichnen war, d.h. die entsprechenden Isoenzyme waren schneller als die jeweiligen Allozyme der Aminopaptidase Markergenloci. Die Abbildungen A.I-4a und b) im Anhang geben entsprechende Densitogramme wieder. Für die Exopeptidasen wurden die Werte der relativen Möbilität zum Frontmarker (rf), Bromphenol Blau, auf der Basis des jeweils häufigsten Allozyms ermittelt und in Tabelle 5-9 aufgelistet. Die in den Zonen AMP-A und AMP-C stets wiedergefundene Variation der Bandenmuster (z. B. Abb. 5-13, 5-15, 5-17) erlaubte eine zweifelsfreie Identifikation der zuvor als LAP-1 bzw. LAP-2 beschriebenen Genorte (ADAMS et al. 1990).

5.1.3.4. Diskussion und Schlußfolgerungen

Die angewandten histochemischen Färbemethoden deuten sowohl auf substrat- als auch auf gewebespezifische Aktivitäten von Isoenzymen mehrerer Markergene für Aminopeptidasen bei *Pseudotsuga menziesii*, welche unter den gegebenen physikochemischen Bedingungen teilweise überlappende Positionen

Tab. 5-9: Geschätzte relative Färbungsintensität unterschiedlicher Aminopeptidasen im Vergleich zu Leucinaminopatidasen bei Douglasie

Aktivitäts-Zone	Position [rf]	Relative Färbungsintensität										Bisherige Bezeichnung	
		Arginin	Alanin	Lysin	Leucin (Kn, Er)	Leucin (M)	Isoleucin	Methionin (Kn)	Methionin (M, Er)	Phenylalanin	Valin		
AMP-En	74		++		+	(+++)				+-	+-		
AMP-A	69				++++	++++	+	++++	+++	+++	+-	LAP-1	
AMP-B	62		++										
AMP-C	59	++++	++++	++	+++	+++		++++	+-	+-	(+-)	LAP-2	
AMP-D	49		+	+-									
	Substrat (Gewebe)	Arginin	Alanin	Lysin	Leucin (Kn, Er)	Leucin (M)	Isoleucin	Methionin (Kn)	Methionin (M, Er)	Phenylalanin	Valin		

Erläuterungen:

Es bedeuten: leere Felder - keine Färbung; „+-“, - schwache Färbung, + bis ++++ - deutliche bis kräftige Färbung. Angaben in Klammern bedeuten unregelmäßige Färbung. Weitere Erläuterungen im Text.

im Zymogramm einnehmen. Über eine gewebespezifische Aminopeptidaseaktivität wird auch im Makrogametophyten von *Zea mays* berichtet (OTT & SCANDALIOS 1976). Die Gegenwart von Aminopeptidasen im Speichergewebe von Saatgut ist zwar mehrfach festgestellt worden, erste Modellvorstellungen über die Einbindung von Aminopeptidasen im Aminosäurenstoffwechsel des Saatgutes wurden aufgestellt (BEWLEY & BLACK 1994), ihre genaue Rolle beim Keimungsvorgang ist jedoch noch wenig geklärt (RICHTER 1988).

Eine im Vergleich zu *Mais* nur schwache Färbungsaktivität von Endopeptidasen wurde in den untersuchten Gewebetypen der Douglasie festgestellt. Offensichtlich liegen im untersuchten Douglasiengewebe grundlegend anders aufgebaute Endopeptidasen vor, was aus der geringen Substratumsatzrate und der deutlich geringeren Wandergeschwindigkeit folgt. Der Schluß auf eine geringere Gesamtaktivität dieses Enzymkomplexes im untersuchten Douglasiengewebe scheint verfrüht. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig. Im übrigen scheiden Endopeptidasen mit dieser Untersuchung als eigentliche Peptidase, welche die Aktivität von LAP in den Zymogrammen überlagern und so deren Interpretation stören, aus.

Die untersuchten Substrate der Exopeptidasen stammen aus der Gruppe der Aminosäuren mit hydrophoben Seitenketten bzw. aus der Gruppe der basischen Aminosäuren (Lysin, Arginin). Entsprechend ihrer Grundeigenschaften zeigt sich ein ähnliches Eignungspotential als Substrat für die Aminopeptidasen einzelner Markergenloci (Tab. 5-9). Wie schon für *Zea mays* von OTT & SCANDALIOS (1976) gezeigt wurde, bilden die basischen Aminosäuren Lysin und Arginin zusammen mit dem einfach gebauten Alanin eine Gruppe, welche besonders von „langsamen“ Aminopeptidasen als Substrat erkannt werden können. Im Gegensatz zu *Mais* (OTT & SCANDALIOS 1976), ist die in der vorliegenden Arbeit in der „Zone D“ gefundene Aminopeptidase jedoch nicht spezifisch für Endopermgewebe. Bei der Douglasie findet sich eine makrogametophytenspezifische Aminopeptidase in der schnellsten Zymogramm-Zone, welche deshalb mit AMP-En bezeichnet wurde. Dieses Enzym hat offensichtlich eine hohe Affinität für Alanin als Substrat; denn Alanin ermöglicht eine regelmäßige Darstellung (Abb. 5-15), während bei Leucin eine unregelmäßige Färbung zu beobachten ist, die dann allerdings kräftig ausfallen kann (Abb. 5-14). Sehr leicht kann bei einer Unkenntnis dieser Tatsache der Eindruck von Doppelbanden als Produkte des Genortes LAP-A aus haploidem Gewebe entstehen (Abb. 5-12: Paar 13 und 15 v.r.). In dem dort abgebildeten Zymogramm sind die Gewebepaare sechs bis fünfzehn, von rechts gelesen, alle aus Saatgut eines Baumes, nämlich Baum 24 in Bestand B06. Wie das Zymogramm der dazugehörigen Knospe (Abb. 5-14, links außen) zeigt, verfügt der Baum Nr. 24 über eine heterozygot kodierte Enzymausstattung am Genort LAP-A und segregiert im Makrogametophytengewebe normal (s. auch Abb. 5-18). Wertet man die vergleichsweise leicht schwächere Färbung der oberen Bande als Indiz für das Vorliegen eines „langsamen“ Allozymes des vermuteten Genortes AMP-En, welches hier über eine identische Wandergeschwindigkeit verfügt als das LAP-A Allozym Nr 2, so kann eine Quelle der Fehlinterpretationen weitgehend vermieden werden, welche von ADAMS und Kollegen anlässlich mißlungener Segregationsanalysen beschrieben worden waren (ADAMS et al. 1990). Wie bereits von OTT und SCANDALIOS für *Zea mays* empfohlen (ibid. 1978), kann auch bei der *Douglasie* die Herstellung von Arginin-, Leucin- und Alanin-Zymogrammen aus identischen Präparaten in besonderen Fällen zur Klärung der Allozym-Ausstattung beitragen. Aus praktischen und ökonomischen Gründen sollte zumindest die ergänzende Herstellung von Alanin-Zymogrammen zum Standardverfahren gehören, um eine bessere Interpretation von LAP-A zu ermöglichen. Der Genort LAP-B läßt sich bei der *Douglasie* mittels Leucin-Färbung ausreichend sicher bestimmen.

Für die Weißkiefer beschreibt HERTEL (1997) ebenfalls fünf Zonen für Aminopeptidasen wobei die Leucin-Färbung eine ausreichend klare Darstellung von LAP ermöglicht. Nicht so die Färbung mittels

Alanin, welche alle fünf AMP-Zonen erscheinen läßt, z.T. überlappend. KONNERT (1995) beschreibt vier Genloci für die Weißtanne und schlägt das Kürzel AP als Bezeichnung vor.

Die International Union of Biochemistry klassifiziert heute eine Cytosol-Aminopeptidase (EC 3.4.11.1.), früher als LAP bezeichnet und eine Microsomal-Aminopeptidase (EC 3.4.11.2.), unter welcher Alanin-Aminopeptidase (ehemals EC 3.4.11.12.) subsummiert (Anonymus 1984). Arginin-Aminopeptidase (EC 3.4.11.6.) wird beschrieben als aktiv bei L-Arginin bzw. L-Lysin (Anonymus 1984). Im vorliegenden Fall bleibt festzustellen, daß die Isoenzyme des vermuteten Genortes AMP-C (bisher LAP-2) sowohl mit dem Substrat Arginin bzw. Alanin eine kräftige Färbung bewirkt. Ferner erlaubt die kräftige Leucin-Färbung der Zone AMP-A den Schluß, hier handele es sich um die Allozyme des Genortes LAP, der bisher als LAP-1 bekannt ist. Hier sind dringend weitere biochemische Untersuchungen notwendig, um die subzelluläre Lokalisation der fünf beobachteten Aminopeptidasen bei der Douglasie zu klären und eventuell eine genauere Namensgebung durchzuführen. Bis dahin wird vorgeschlagen, OTT & SCANDALIOS 1978 folgend, die Bezeichnung Aminopeptidasen mit dem Kürzel AMP unter Hinweis auf alle drei EC-Nummern zu verwenden. Die vorgeschlagenen Benennung der beobachteten Zonen sollte unter dem Hinweis vermuteter Genorte erfolgen, da bislang genetische Analysen nur für die Zonen AMP-A und AMP-C vorliegen (ADAMS et al. 1990).

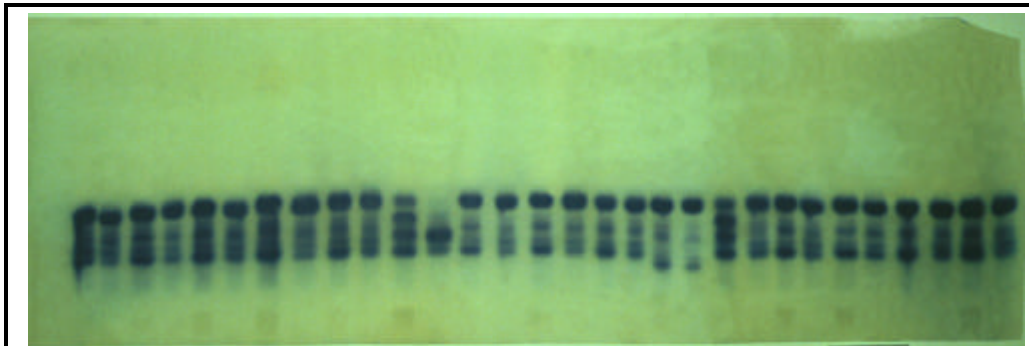
5.1.4. Die Zymogramme des Enzymsystemes 6-PGDH.

Die überwiegende Mehrheit der Analysen zu vorliegender Arbeit wurden mit dem Trenn-Puffersystem „C“ durchgeführt (vgl. Tab. 3-6). Dabei konnte bei dem Enzymsystem 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase eine stark färbende Zone gefunden werden (Abb. 5-22), deren heterozygote Individuen dreifach gebänderte Muster⁹² aufwiesen, wie sie bei anderen Autoren beschrieben sind (EL-KASSABY et al. 1982, ADAMS et al. 1990). Sofern diese Zone „A“ aus schnell wandernden Allozymen bestand, wurde dahinter eine schwächer färbende Zone sichtbar, welche über dünne Banden verfügte. In dieser „B“ Zone fanden sich jeweils zwei paarweise angeordnete Banden, welche selten variierten (Abb. 5-22). Die Zone „B“ wurde in der vorliegenden Arbeit nicht ausgewertet.

Wie bereits ADAMS und Kollegen berichten (ibid. 1990), sind die Zymogramme der Gewebetypen Makrogametophyt, Embryo und Knospenmeristem problemlos vergleichbar, da die unterschiedlichen Allozyme mit einer jeweils identischen Relation der Wandergeschwindigkeit in allen drei Geweben auftreten (s. a. Abb. 5-23).

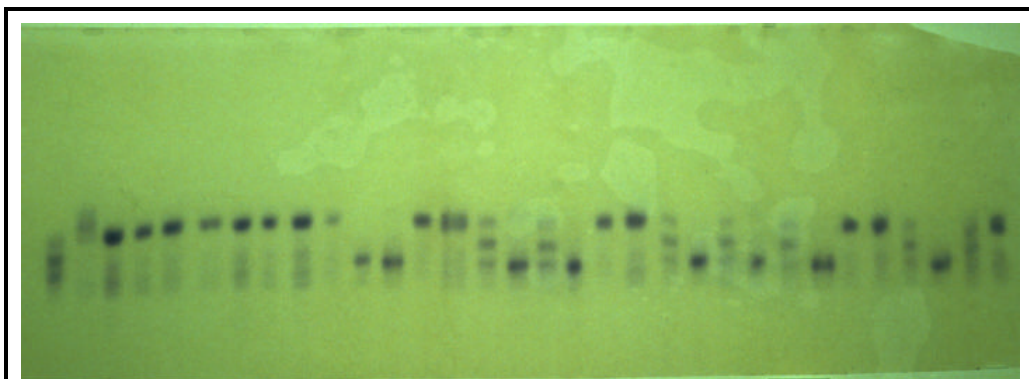
Die Arbeitsgruppen um W.T. Adams bzw. um Y. El-Kassaby arbeiten bei der Darstellung von 6-PGDH mit unterschiedlichen physikochemischen Bedingungen. Erstgenannte Gruppe verwendet ein Morpholin-Citrat Puffersystem (ADAMS et al. 1990), die zweitgenannte Gruppe benutzt ein Tris-Citrat Puffersystem (EL-KASSABY et al. 1982). Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Tris-Citrat Puffersystem unterscheidet sich hinsichtlich des gewählten pH-Bereiches sowie der molaren Konzentration von der bei EL-KASSABY und Kollegen genannten Rezeptur (ibid. 1982) und gestattet eine weite Auftrennung der Allozyme. Die Vergleichbarkeit der Zymogramme wurde daher in gesonderten Experimenten überprüft.

⁹² Hinweis auf funktionell dimere Struktur, vgl. Kap. 2.3.2.



Er M Er M...

Abb. 5-22: 6-PGDH-Zymogramm (Provenienz S25, Lauf 09.8.90) aus Makrogametophyten (M) und Embryogewebe (Er);
Trennung : Puffersystem C (Tris-Citrat).



Kn02 Er M21 Kn21 Er M02..

Abb. 5-23: 6-PGDH-Zymogramm (Population B06, Lauf 29.4.91) aus Makrogametophyten- (M), Embryo- (Er) und Knospengewebe;
Trennung : Puffersystem C (Tris-Citrat).

Tab. 5-10: Die Isoenzyme des Systems 6-PGDH

Enzym-Genlocus	Nr.	Alloenzyme Positionen				Prüfung
		[rm] ¹	[rf] ²	[rm] ³	[rm] ⁴	
1	2	3	4	5	6	7
6-PGDH-A	1	-	-	130	123	-
	2	-	42	113	116	(2)
	3	107	-	-	107	(1)
	4*	100	37	100	100	(1), (2)
	5	85	33	-	86	(1), (2)
	6	-	27	68	74	(2)

Erläuterungen:

1. Tris-Citro.-Puffersyst., Angaben aus (1)
2. Morph.-Citr.-Puffersyst., Angaben aus (2)
3. Morph.-Citr.-Puffersyst.(D), vgl. Tab. 3-5
4. Tris-Citro.-Puffersyst. (C), vgl. Tab. 3-5

* Häufigstes Allozym (Allel)

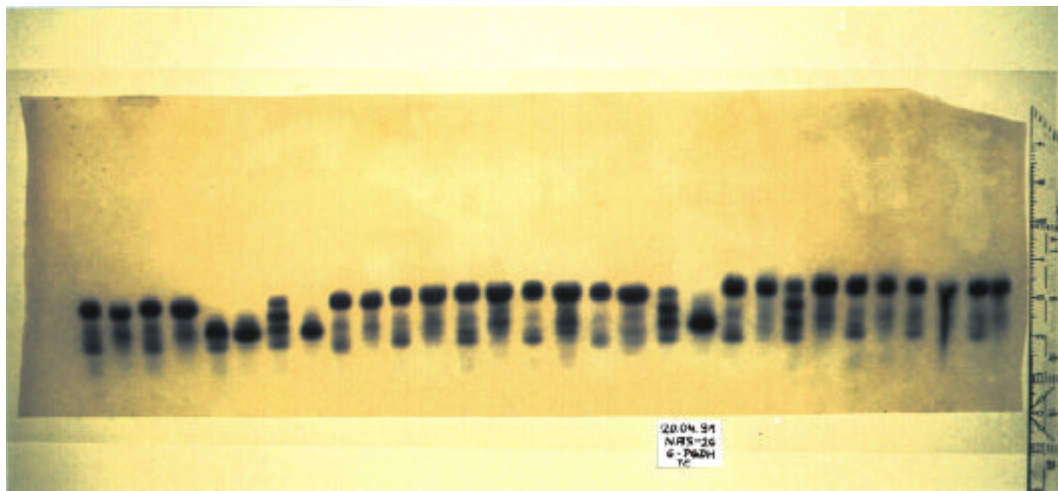
fett gedruckte Zahlen verweisen auf direkte Vergleiche

Literatur:

- (1) EL-KASSABY et al. 1982
- (2) ADAMS et al. 1990

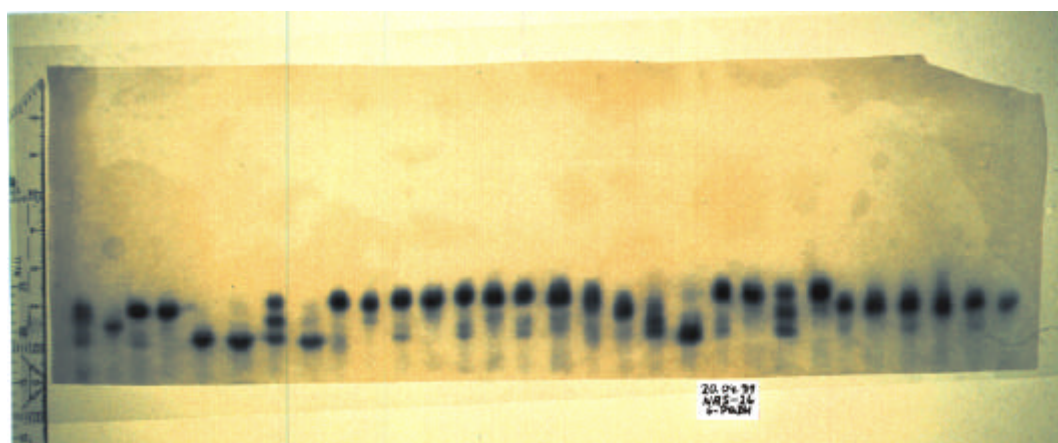
Die Abbildungen 5-24 und 5-25 zeigen ein Beispiel aus der Serie der Vergleichsanalysen. Untersucht werden insgesamt 15 Samenkörner aus ein und derselben Präparation, jeweils aufgetragen in der Reihenfolge: Embryo / Makrogametophyt (v.l.n.r.). Die ersten 12 Gewebepaarungen stammen aus der Probe S26 und die letzten drei aus S27. Das Ergebnis ist verblüffend: während die Auftrennung mittels des Tris-Citrat-Pufersystemes (TC) zwei Allozyme nachweist, finden sich in dem mittels Morpholin-Citrat (MC) hergestellten Zymogramm deren drei!! Die drei Gewebepaarungen aus S27, einer Küstenpopulation, repräsentieren das Allel 6-PGDH-A4 (rm= 100). Ihre Position bleibt bei der Auftrennung mittels Morpholin-Citrat unverändert, während fast alle der vermuteten 6-PGDH-A4 Allele aus der TC-Auftrennung nun als 6-PGDH-A2 erscheinen. Die Paare 1, 4, 9 und 10 zeigen nun Allelkombinationen unter Beteiligung von 6-PGDH-A2, wovon bei zweien ein mischerbiger Embryo in der TC-Auftrennung nicht erkennbar war. Die Zahl der heterozygoten Embryonen erhöht sich dadurch übrigens um 40% (!) in diesem Zymogramm.

Die weiteren Analysen ergaben, daß von dieser methodenspezifischen Ausprägung der Zymogramme hauptsächlich die „schnellen“ Elektromorphen 6-PGDH-A1, A2 sowie die häufigste Variante A4 betroffen sind. An dieser Stelle kann außerdem bereits darauf verwiesen werden, daß der Unterschied populationspezifisch ist und nur Inlandsprovenienzen betrifft, sowohl aus dem nördlichen als auch südlichen Teilareal. Weist eine TC-Auftrennung für Inlandsprovenienzen auf die Trägerschaft des Allels A4, so kann die MC-Auftrennung in einer tatsächlichen Trägerschaft des Alleles A2 resultieren und zwar reinerbig oder mischerbig mit A4! Weist eine TC-Auftrennung für Inlandsprovenienzen auf die Trägerschaft des Allels A2, so wird die MC-Auftrennung in einer tatsächlichen Trägerschaft des Alleles A1 resultieren und zwar in der nämlichen Besetzung des betreffenden Locus! Träger des Alleles A3 konnten in den vergleichenden Experimenten nicht berücksichtigt werden. Daraus folgt im wesentlichen, daß eine TC-Auftrennung die Gegenwart des Alleles A4 bei Inlandspopulationen überschätzt, diejenige des Alleles A2 unterschätzt. Der Anteil der Heterozygoten wird bei Inlandspopulationen ebenfalls durch eine TC-Auftrennung unterschätzt. Die Existenz der betroffenen Allele A2 und A4 wurde mittels



Er M ...

Abb. 5-24: 6-PGDH Zymogramm (Provenienz S26, Lauf 20.04.90) aus Makrogametophyten (M) und Embryogewebe (Er); rechts außen: drei Gewebepaare aus S27. Trennung: Puffersystem C (Tris-Citrat, pH 8,3).



Er M ...

Abb. 5-25: 6-PGDH Zymogramm (Provenienz S26, Lauf 20.04.90) aus Makrogametophyten (M) und Embryogewebe (Er); rechts außen: drei Gewebepaare aus S27. Trennung: Puffersystem D (Morpholin-Citrat, pH 6,1).

Mendelsegregation nachgewiesen (NEALE et al. 1984). Die „langsamen“ Varianten werden übrigens in beiden Trennsystemen in vergleichbarer Rangfolge abgebildet.

Die weiteren Analysen ergaben, daß von dieser methodenspezifischen Ausprägung der Zymogramme hauptsächlich die „schnellen“ Elektromorphen 6-PGDH-A1, A2 sowie die häufigste Variante A4 betroffen sind. An dieser Stelle kann außerdem bereits darauf verwiesen werden, daß der Unterschied populationspezifisch ist und nur Inlandsprovenienzen betrifft, sowohl aus dem nördlichen als auch südlichen Teilareal. Weist eine TC-Auftrennung für Inlandsprovenienzen auf die Trägerschaft des Allels A4, so kann die MC-Auftrennung in einer tatsächlichen Trägerschaft des Alleles A2 resultieren und zwar reinerbig oder mischerbig mit A4! Weist eine TC-Auftrennung für Inlandsprovenienzen auf die Trägerschaft des Allels A2, so wird die MC-Auftrennung in einer tatsächlichen Trägerschaft des Alleles A1 resultieren und zwar in der nämlichen Besetzung des betreffenden Locus! Träger des Alleles A3 konnten in den vergleichenden Experimenten nicht berücksichtigt werden. Daraus folgt im wesentlichen, daß eine TC-Auftrennung die Gegenwart des Alleles A4 bei Inlandspopulationen überschätzt, diejenige des Alleles A2 unterschätzt. Der Anteil der Heterozygoten wird bei Inlandspopulationen ebenfalls durch eine TC-Auftrennung unterschätzt. Die Existenz der betroffenen Allele A2 und A4 wurde mittels Mendelsegregation nachgewiesen (NEALE et al. 1984). Die „langsamen“ Varianten werden übrigens in beiden Trennsystemen in vergleichbarer Rangfolge abgebildet.

Die fett gedruckten *rm*-Werte aus Tabelle 5-10 gelten somit nur für Vergleiche an Küstenpopulationen. Insgesamt werden in der vorliegenden Arbeit sechs Allele unterschieden, wobei nur eines (6-PGDH-A1) bislang nicht bezüglich der genetischen Kontrolliertheit untersucht wurde. Durch Wiederholungen der Laboranalysen wurde ausgeschlossen, daß es sich um Artefakte handelt. In jüngeren Arbeiten unterscheidet LEINEMANN insgesamt acht Allele (ibid. 1996), bzw. sieben Allele (ibid. 1998).

Eine Erklärung für das Phänomen einer sowohl verfahrens- als auch populationspezifischen Ausprägung der Zymogramme von 6-PGDH findet sich im physikochemischen Hintergrund der angewandten Methode der Gelelektrophorese. Die elektrophoretisch aufgetrennten Proteingemische stellen amphotere Substanzen dar, die sowohl als Säure als auch als Base über eine große Zahl an frei endenden Amino- bzw. Carboxygruppen reagieren können. Ihre jeweilige Nettoladung wird vom umgebenden Puffer beeinflusst, genauer von dessen pH-Wert und Dissoziationsgrad (WILLAIMS & WILSON 1984). Das MC-Trennsystem (ADAMS et al. 1990) arbeitet bei einem schwach sauren pH-Wert von 6,1, das TC-Trennsystem bei einem neutralen pH-Wert (EL KASSABY et al. 1982) bzw. in der hier angewandten Rezeptur sogar im schwach basischen Bereich von pH= 8,1. Die Nettoladung der schnellen Allozyme A1 und A2 von 6-PGDH-A werden einerseits so verändert, daß die Produkte der Allele A4 und A2 im TC-System über eine identische Wandergeschwindigkeit verfügen. Die Produkte von A2 werden also in ihrer Wandergeschwindigkeit im TC-System ebenso gedrosselt, wie die von A1. Da dies nur bei Inlandsprovenienzen beobachtet wurde, kann andererseits das Vorliegen von unterschiedlichen Allelen für die Allozyme A1 und A2 im jeweiligen Genpool der beiden Douglasien-Formen nicht ausgeschlossen werden, obwohl sie im MC-Verfahren als identischen Produkte erscheinen.

Eine detaillierte Darstellung der Auswirkung dieses Ergebnisses auf die Einschätzung der geographischen Variation des Enzymgenmarkers 6-PGDH-A erfolgt in Kapitel 5.2. der vorliegenden Arbeit.

5.1.5. Die Zymogramme des Enzymsystemes SKDH

In der hier vorliegenden Untersuchung wurden zwei Zonen von SKDH-Aktivität in den Zymogrammen gefunden. Das verwendete Trenn-Puffersystem "C" gestattete den Nachweis von zwei Zonen in Knospen, Makrogametophyten und Embryogewebe, wenngleich die schneller wandernde Zone im Makrogametophyt etwas schwächer abgebildet wurde. Ebenfalls schwächer färbten die Zymogramme ruhenden Saatgutes (Abb. 5-26, linke Hälfte). Die schnell wandernde Zone färbt deutlich im Knospengewebe (Abb. 5-27), wo sie sich in bis zu vierfacher Bänderung präsentiert. In gleichmäßig kurz angekeimtem Saatgut erscheint die schnell wandernde Zone schwächer färbend, weshalb nur deren unterste drei Bänder sichtbar werden (Abb. 5-28). Die langsam wandernde Zone fällt durch stark färbende Banden auf. Die gleichzeitige Elektrophorese von Makrogametophyt, Embryo und Knospen des Mutterbaumes erlaubte die Aussage, daß alle Gewebetypen identische Bandenmuster besitzen (vgl. Abb. 5-26). Die genannte Abbildung verdeutlicht außerdem die Aktivität des Enzymes in unterschiedlichen Stadien der Keimung. Über vergleichbare Beobachtungen berichtet LEINEMANN (ders. 1998), der die schnell wandernde Zone als monomorph beschreibt. In der vorliegenden Arbeit bleibt diese Zone außerhalb weiterer Betrachtungen.

Zur Überprüfung der Hypothese, die Elektromorphen der zweiten Zone repräsentierten die Allele eines Genlocus, wurde Einzelbaumbeerntung des Bestandes Heidelberg I.25 (B06) analysiert⁹³. Die Tabelle 5-11 veranschaulicht die Herleitung der Prüfgröße X^2 unter der Annahme einer gleichmäßigen Aufspaltung der mischerbig vorliegenden Allelbesetzung am vermuteten Genort. Die ermittelte Prüfgröße ist erheblich kleiner als die entsprechende Verwerfungsgrenze (vgl. HATTMER et al. 1993, S. 440). Die biometrische Prüfung der beobachteten mitotischen Segregation⁹⁴ läßt daher, unter Berücksichtigung der kleinen Stichprobe, den Schluß zu, die Elektromorphen mit $r_m=127$ und $r_m=100$ sind die Allele eines Genlocus (Annahme der Nullhypothese; Tab.5-11). Der Genlocus wurde mit SKDH-B bezeichnet. Heterozygote Individuen zeigen Doppelbänder, woraus auf ein monomeres Enzym geschlossen werden kann.

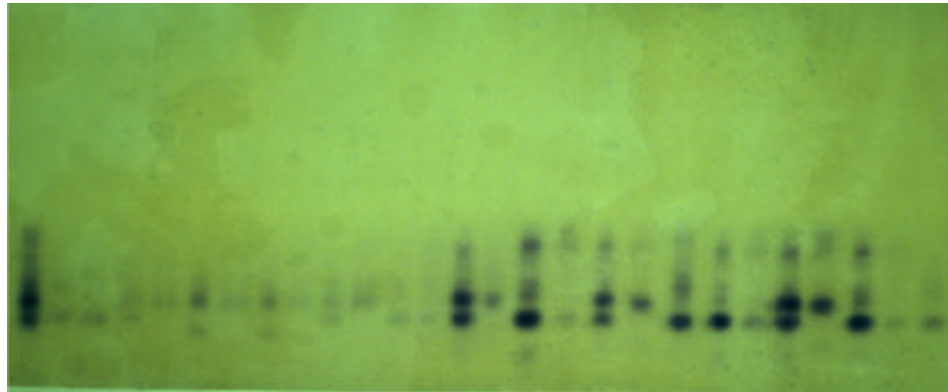
Tab. 5-11.: Beobachtete Segregation am Makrogametophyt eines Mutterbaumes des Bestandes "Heidelberg I.25" (B06)

Baum Nr.	Mutterbaum: Genotyp (Kn) [rm]	Makrogametophyt		Erwartungs- Zahl	X^2 (df)
		beobachtete Haplotypen "127" "100"	gesamt		
24	"127/100"	18 24	42	21	0.429 (1)

Erläuterungen im Text

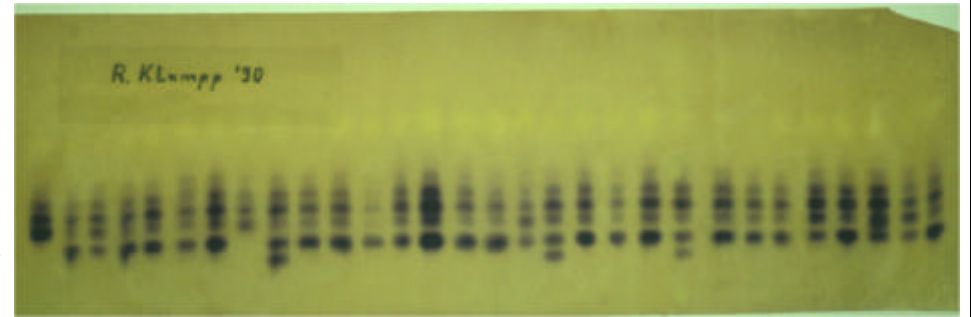
⁹³ vgl. Kap. 3.1. sowie Tab. 3-4.

⁹⁴ vgl. Kap. 2.1.2. und Kap. 3.2.2., S. 65



Kn24 Er M24 Kn02 Er M02..

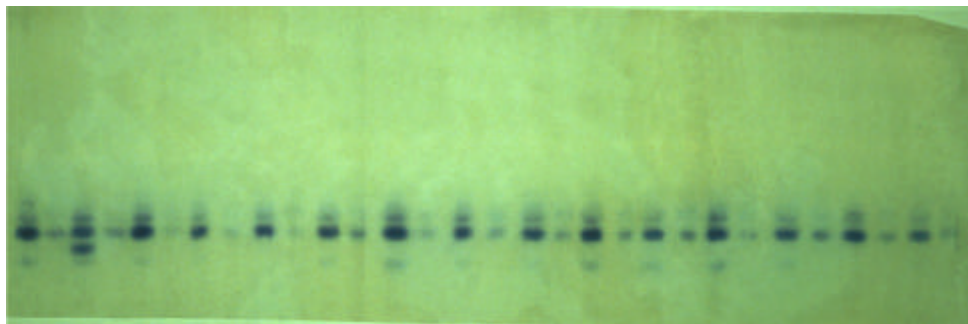
Abb. 5-26: SKDH-Zymogramm (Population B06, Lauf 09.5.91) aus Makrogametophyten- (M), Embryo- (Er) und Knospengewebe
Trennung : Puffersystem C (Tris-Citrat).



B

Allel Nr 1/1 1/1 3/5 1/3 3/5 3/5 1/3 1/3

Abb. 5-27: SKDH-Zymogramm (Population B01) aus Knospengewebe.
Trennung: Puffersystem C. (Angaben der Allele zu SKDH-B)



Er M Er M..

Abb. 5-28: SKDH-Zymogramm (Provenienz S25, Lauf 08.8.90) aus Makrogametophyten- (M) und Embryogewebe (Er).
Trennung : Puffersystem C (Tris-Citrat).

Insgesamt fünf verschiedene Elektromorphe sowie ein Null-Allel wurden bei den Analysen zu dieser Arbeit gefunden (Tab. 5-12). Durch Wiederholungen (bei Knospen) und Auftragen von Gewebeproben unterschiedlicher Provenienzen auf ein Gel wurde die Existenz und Reproduzierbarkeit der Elektromorphen bestätigt.

Vergleichbare Beobachtungen einer monomeren Quartärstruktur des Enzymes SKDH berichten NEALE (et al. 1984) sowie ADAMS (et al. 1990). Null-Allele wurden auch von HÖPPNER DE RIZO 1991 an einer Küstenpopulation beobachtet. Weder DAVIS (1981) noch NEALE (et al. 1984) noch ADAMS (et al. 1990) beschreiben jedoch Nullallele. Die Erklärung hierfür liegt zum einen in der geographischen Variation dieses Allels, welches bei Inlands-Douglasien höchst selten vorkommt (s.u.). Zum anderen analysierte NEALE (et al. 1984) die Nadeln von Nachkommen aus kontrollierten Kreuzungen einer Samenplantage. Diese Daten wurden später von ADAMS (et al. 1990) übernommen. Von Untersuchungen der Mendel-segregation an Makrogametophytengewebe für diesen Genort berichtet LEINEMANN (ders. 1998), wobei Angaben über die jeweilige Mobilität nicht mitgeteilt werden.

Tab. 5-12.: Die Isoenzyme des Systems SKDH

Enzym-Genlocus	Nr.	Alloenzyme				Prüfung	Hinweise	
		Position						
		[rf] ¹	[rf] ²	[rm](D) ³	[rm](C) ⁴			
	1	2	3	4	5	6	7	8
SKDH-B	1		32	30	140	127	(1)	(2)
	2			-	-	116		
	3*		26	23	100	100	(1)	(2)
	4		23	20	87	85	(1)	(2)
	5		-	-	-	77		
	null		-	-	-	..		(3)

Erläuterungen:

1. Histidin-Citr.-Puffersyst. (Nadelgewebe), Angaben aus (1)
 2. Morph.-Citr.-Puffersyst. (Knospen), Angaben aus (2)
 3. Morph.-Citr.-Puffersyst. (D), vgl. Tab. 3-6
 4. Tris-Citro.-Puffersyst. (C), vgl. Tab. 3-6
- * Häufigstes Allozym (Allel)

fett gedruckte Zahlen verweisen auf direkte Vergleiche

Literatur:

- (1) NEALE et al. 1984
- (2) ADAMS et al. 1990
- (3) HÖPPNER DE RIZO 1991

Nachdem NEALE und Kollegen (1984) berichtet hatten, daß das verwendete Histidin-Citrat-Trennpuffersystem keine Analyse von Gewebe aus Saatgut zulasse, veröffentlichten ADAMS und Kollegen (1990) den Hinweis, die gefundenen Elektromorphen bzw. Allele in Nadel und Knospengewebe seien identisch (ADAMS et al. 1990). Die Zusammenstellung der Tabelle 5-12 enthält die aus diesem Grunde sowie auf Grund eigener Untersuchungen (s.o.) zulässige Gegenüberstellung der Isoenzyme aus allen vier Gewebetypen bzw. aus drei physikochemischen Trennmethode.

5.2. Variation genetischer Parameter in den Sets des Untersuchungsmaterials

Die nachfolgenden Kapitel beleuchten die Frage der geographischen Variation der Isozymgenmarker bei der Douglasie. Die üblichen Basisdaten, die allelischen Strukturen der jeweiligen Datensätze also, finden sich im Anhang A.II zu dieser Arbeit (Tab. A.II-4a bis A.II-8). An dieser Stelle muß im Vorgriff auf die Ergebnisse in Kapitel 5.3 die Untergliederung des Datenmaterials erläutert werden. Im Anhalt an SCHENCK (ders. 1939) werden die verfügbaren Stichproben der Küstendouglasie entsprechend ihrer Herkunft in drei Klimasektionen gruppiert: Küste-Nord (KN), Küste-Mitte (KM) und Küste-Süd (KS). Dabei werden die Proben der Küstendouglasie aus dem Südteil von Vancouver Island und Washington auf Grund der ähnlichen Klimabedingungen im jeweiligen Habitat zu einem Bereich (Küste-Nord) zusammengefaßt (vgl. OTTO 1984, S. 65 ff.). Nördlich daran anschließend werden die Stichproben aus Vancouver Island sowie dem gegenüberliegenden Küstenstreifen in B.C. als eine weitere Gruppe (Campbell-Gruppe: Cb) aufgegefaßt. Ferner wird eine nördliche (IN) sowie eine südliche Inlandsdouglasie (IS) unterschieden. Die Populationen aus dem Gebiet der Blauen Berge in Oregon wird als Übergangsgruppe (Ü) zwischen Küsten- und Inlandsdouglasie betrachtet.

Im nachstehenden Kapitel 5.2. wird zunächst die Ausprägung der genetischen Variation innerhalb der beprobten Populationen anhand komprimierender Parameter untersucht, ehe im Kapitel 5.3. die geographische Variation allelischer Strukturen an den einzelnen Loci dargestellt wird. Der Fragenkomplex der Variation zwischen den Proben, der Unterschiedlichkeit der analysierten Populationen also, wird in Kapitel 5.4. behandelt werden.

5.2.1. Variation in den Proben aus Handels-Saatgut

Die Proben aus Handels-Saatgut lassen sich in sechs geographische Gruppen gliedern und zwar drei für die Küstendouglasie sowie zwei für die Inlandsdouglasie (Tab 5-13). Eine Gruppe aus dem Gebiet der Blauen Berge im östlichen Oregon, welche hier als Übergangsgruppe zwischen beiden Formen bezeichnet wird (s.o.), ist ebenfalls vertreten. Die Besetzung der Gruppen ist stark unterschiedlich; die südliche Küsten Douglasie ist mit nur einer Stichprobe vertreten. Die Gruppe "Küste-Nord" enthält zwei Stichproben aus dem südlichen Drittel von Vancouver Island, eine vom nördlichen Ausläufer der Coast Range (S16), eine aus der Pugetsenke (S20), zwei vom Westabhang der Kaskaden (S21, S24), sowie eine vom Osthang der Kaskaden (S17: Trout Lake) in Washington (vgl. Tab. 3-1) und bietet damit einen Querschnitt von den Standorten dieses Gebietes (Tab. 3-1, 5-13). Die Gruppe "Küste-Mitte" beinhaltet eine Probe von der Pazifik-Küste, eine vom Osthang der Coast Range, eine vom Westhang der Kaskaden sowie zwei vom Ostabhang der Kaskaden in Oregon. Die Proben repräsentieren auch hier alle wichtigen Standorte; eine höhere Anzahl wäre allerdings wünschenswert gewesen (Abb. 3-1). Die südliche Inlandsdouglasie ist mit Stichproben aus Arizona, New Mexiko und Colorado ausreichend vertreten, lediglich aus Utah und Wyoming waren keine Proben verfügbar. Die nördliche Inlandsdouglasie ist mit drei Stichproben deutlich unterrepräsentiert (Tab. 5-13), zumal gleich zwei Proben aus den kanadischen Rocky Mountains stammen. Die Übergangsgruppe ist mit nur drei Stichproben ebenfalls schwach vertreten, wobei eine vom nördlichen Ausläufer dieser Berggruppe am Snake River stammt (S03, Orofino).

Tabelle 5-13 gibt einen Überblick über die genetische Variation, wie sie sich nach Analyse des Handels-Saatgutes darstellt. Die Küstendouglasie weist in dem gewählten Set an Genmarkern den höchsten Pro-

zentsatz an polymorphen Loci auf, wobei diese Werte innerhalb der Küstendouglasie von Nord nach Süd zunehmen zu scheinen. Die nördliche Inlandsdouglasie verfügt über leicht höhere Werte wie die Übergangsgruppe aus dem östlichen Oregon und die südliche Inlandsdouglasie verfügt am gewählten Genmarker-Set über nur halb so viele polymorphe Genloci, als die Küstendouglasie. Auf den ersten Blick überraschend sind die Ergebnisse bezüglich der durchschnittlichen Anzahl der Allele pro Genort: Die zentrale Küstendouglasie verfügt über den größten Wert (3,45), bei gleichzeitig kleinster Streuung (!), die nördliche Gruppe weist einen leicht kleineren Wert (3,29) auf und die Stichprobe aus Kalifornien läßt ein erneutes Ansteigen in südlicher Richtung erwarten. Die südliche Inlandsdouglasie zeigt auch hier den kleinsten Wert mit durchschnittlich 1,97 Allelen pro Locus, während die nördliche Inlandsdouglasie für dieses Kriterium mit leicht höheren Durchschnittswerten aufwarten kann (2,92), als die Übergangsgruppe (2,63). Dieser Trend spiegelt sich auch in der Genpool-Diversität v wieder, allerdings ergeben sich innerhalb der Küstendouglasie insofern Änderungen, als daß die mittlere Gruppe über die höchsten Werte verfügt (1,362) und so mit anderen Worten über die durchschnittlich höchste Zahl effektiver Allele verfügt! Ein Umstand der weiter unten gesondert zu diskutieren sein wird! Die durchschnittliche, aktuelle Heterozygotie H_a ist für die Küstendouglasie mit 21,2 % doppelt so hoch wie für die südliche Inlandsdouglasie mit 9,7%. Auch hier nehmen die nördliche Inlandsdouglasie sowie die Übergangsgruppe aus den Blauen Bergen eine Zwischenstellung mit Werten von 15,2 bzw. 14,9 % ein. Interessanterweise verfügt die südliche Küstendouglasie offensichtlich über einen der höchsten der beobachteten, durchschnittlichen Heterozygotiegrade von 23,9 %. Im Vergleich hierzu sind die Daten der Populationsdifferenzierung δ_T interessant, da sie die Differenzierung innerhalb der Population beschreiben. Wiederum weisen die Populationen der mittleren Küstendouglasie die größten Werte auf (0,268); die Intrapopulationsdifferenzierung scheint nach Norden und Süden abzunehmen. Innerhalb der Inlandsdouglasien ist die Gruppe der südlichen Inlandsdouglasie am geringsten differenziert (0,107), die nördliche Inlandsdouglasie nimmt eine Zwischenstellung ein. Die Populationen aus dem Gebiet der Blauen Berge zeigen bezüglich der Intrapopulationsdifferenzierung hohe Werte bei gleichzeitig geringer Streuung, was überraschend deutlich an die Organisation der genetischen Variation bei der Küstendouglasie erinnert (Tab. 5-13).

Die in den vorliegenden Datensätzen vertretenen Populationen aus den östlichen Kaskadenabhängigen zeigen keine außergewöhnlichen Abweichungen innerhalb der jeweiligen Gruppe. Bei der nördlichen Küstendouglasie zeigt die Population S17 (Trout Lake) zwar geringe genetische Variation bei unterdurchschnittlicher genischer Diversität und Intrapopulationsdifferenzierung sowie eine überdurchschnittliche, mittlere Anzahl von Allelen pro Genort. Keiner der Werte stellt jedoch innerhalb dieser Gruppe einen Extremwert dar. In der Gruppe der mittleren Küstendouglasie zeigen die Vertreter vom Kaskadenostabhängigen in einem Fall eine unterdurchschnittliche, mittlere Anzahl an Allelen je Genort (S13: 3,0), sowie in einem andern Fall einen extrem geringen aktuellen Heterozygotiegrad (S12: 0,189). Die Werte der genischen Diversität verweisen jedoch auf eine relativ ausgeglichene Allelverteilung sowie eine vergleichsweise geringe Zahl sehr seltener Allele bei gleichzeitig ausgeprägter Intrapopulationsdifferenzierung (Tab. 5-13).

Zusammenfassend lassen sich die drei Hauptformen der Douglasie wie folgt charakterisieren :

Die **Küstendouglasie** verfügt mit Abstand sowohl über die größte mittlere Anzahl von Allelen je Genort ($A/L = 3,35$) als auch die größte Zahl effektiver Allele (Genpool Diversität $v = 1,33$). Die Individuen verfügen durchschnittlich über einen ausgeprägten Heterozygotiegrad ($H_a = 0,212$). Das hohe Niveau der

Tab. 5-13: Ausprägung genetischer Variationsparameter in Saatgutproben aus dem natürlichen Areal von *Pseudotsuga menziesii*

Population [Nr.]	P ₉₅	A/L	v	H _a	δ _T
16	87,5	3,75	1,363	0,231	0,269
17	87,5	3,38	1,272	0,186	0,216
20	87,5	3,0	1,334	0,219	0,253
21	75,0	3,0	1,274	0,189	0,217
22	62,5	3,0	1,268	0,192	0,214
24	75,0	3,25	1,299	0,183	0,233
27	75,0	3,62	1,331	0,192	0,251
Küste-Nord	78,57 (9,45)	3,29 (0,31)	1,306 (0,037)	0,199 (0,018)	0,236 (0,022)
08	87,5	3,75	1,402	0,256	0,290
09	87,5	3,75	1,328	0,242	0,250
12	87,5	3,25	1,398	0,189	0,288
13	75,0	3,0	1,386	0,244	0,281
14	87,5	3,5	1,297	0,200	0,231
Küste-Mitte	85 (5,6)	3,45 (0,3)	1,362 (0,047)	0,226 (0,030)	0,268 (0,026)
01	87,5	3,25	1,342	0,239	0,258
Küste-Süd	87,5	3,25	1,342	0,239	0,258
Küsten-Dgl.	81,7 (8,3)	3,35 (0,3)	1,330 (0,047)	0,212 (0,027)	0,250 (0,027)
02	62,5	2,13	1,217	0,159	0,180
04	50,0	1,88	1,178	0,128	0,153
15	25,0	1,75	1,125	0,103	0,112
18	25,0	2,0	1,083	0,064	0,078
19	50,0	2,0	1,148	0,128	0,130
23	25,0	2,13	1,089	0,078	0,082
25	12,5	1,5	1,025	0,025	0,024
26	37,5	2,38	1,105	0,092	0,096
Inland-Süd	35,9 (17,0)	1,97 (0,27)	1,121 (0,060)	0,097 (0,042)	0,107 (0,049)
05	50,0	2,63	1,144	0,106	0,127
10	62,5	2,5	1,210	0,144	0,175
11	75,0	3,63	1,339	0,206	0,256
Inland Nord	62,5 (12,5)	2,92 (0,62)	1,231 (0,099)	0,152 (0,050)	0,186 (0,065)
03	62,5	2,89	1,248	0,133	0,201
06	50,0	2,38	1,219	0,133	0,182
07	62,5	2,63	1,287	0,181	0,225
Übergangs-Gebiet	58,3 (7,2)	2,63 (0,26)	1,251 (0,034)	0,149 (0,028)	0,203 (0,022)
Inland N+Ü	60,4 (9,4)	2,46 (0,45)	1,241 (0,067)	0,151 (0,036)	0,194 (0,044)

Erläuterungen: Mittelwerte (Standardabweichung) jeweils rechte Spalte, z.T. fett gedruckt.
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Tab. 5-14: Ausprägung genetischer Variationsparameter in Stichproben eines Provenienzversuches von *Pseudotsuga menziesii*

Population [Nr.]	P ₉₅	A/L	v	H _a	δ _T
02	62,5	2,25	1,319	0,229	0,246
03	62,5	2,5	1,278	0,217	0,221
04	50,0	2,38	1,296	0,221	0,232
Campbell - Gruppe	58,333 (7,217)	2,377 (0,125)	1,298 (0,021)	0,222 (0,006)	0,233 (0,013)
01	62,5	2,88	1,351	0,196	0,264
05	62,5	2,63	1,308	0,242	0,240
07	87,5	2,88	1,392	0,247	0,286
08	87,5	2,75	1,327	0,217	0,251
10	62,5	2,88	1,261	0,164	0,210
11	75,0	3,0	1,282	0,194	0,223
Küste-Nord	72,917 (12,290)	2,837 (0,128)	1,320 (0,047)	0,210 (0,032)	0,246 (0,028)
06	50,0	2,13	1,275	0,167	0,219
09	62,5	2,25	1,242	0,171	0,198
Inland-Nord	56,3 (8,839)	2,19 (0,085)	1,259 (0,023)	0,169 (0,003)	0,209 (0,015)

Erläuterungen: Mittelwerte (Standardabweichung) jeweils rechte Spalte, fett gedruckt.
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Intrapopulationsdifferenzierung signalisiert insgesamt eine breite Verteilung unterschiedlicher genetischer Information. Die Populationen aus dem zentralen Küstengebiet verfügen über größere Werte bezüglich der mittleren Anzahl von Allelen je Genort verglichen mit denen der nördlichen sowie der südlichen Küstendouglasie. Die Letztgenannten sind überdies auf eine deutlich geringere Zahl effektiver Allele sowie auf eine vergleichsweise geringere Intrapopulationsdifferenzierung gestützt.

Die **Südliche Inlandsdouglasie** fällt durch eine auf niedrigem Niveau stabilisierte (Streuung!) genetische Vielfalt auf, welche außerdem ungünstig organisiert ist: ein extrem geringer mittlerer Heterozygotiegrad sowie die geringe Zahl effektiver Allele weisen auf eine weitgehende Fixierung der einzelnen Genloci. Dies trifft besonders die Populationen aus Arizona and New Mexiko, wie die jeweiligen Polymorphiegrade zeigen.

Die wenigen Stichproben der **Nördliche Inlandsdouglasie** liefern auffallend streuende Werte. Die mittlere Anzahl von Allelen je Genort sowie die Genpool-Diversität sind auf mittlerem Niveau anzusiedeln, desgleichen gilt für den mittleren Heterozygotiegrad sowie für das Ausmaß der Differenzierung innerhalb der Populationen.

Die **Übergangsgruppe** aus den Blauen Bergen in Oregon verfügt über eine ausgeprägte genetische Vielfalt, welche sogar im Streubereich entsprechender Werte der zentralen Küstenpopulationen liegt. Die Zahl der effektiven Allele sowie der mittlere Heterozygotiegrad entsprechen weitgehend dem Niveau der Nördlichen Küstendouglasie. Auffallend ist hier die hohe Intrapopulationsdifferenzierung, deren obere Streugrenze allerdings mit der der Nördlichen Küstendouglasie zusammenfällt. Insgesamt streuen die Werte dieser Gruppe recht wenig.

Die Abbildung 5-29 veranschaulicht in Form eines Balkendiagrammes das Potential der jeweiligen Population, in der Nachfolgegeneration genetische Variation auszubilden. Die Durchschnittswerte für Populationsgruppen werden in kräftigen Farben dargestellt: grün für die Küstendouglasie, grau für die nördliche Inlandsdouglasie und blau für die südliche Inlandsdouglasie. Auch hier fallen die Stichproben aus dem Bereich des mittleren Küstenabschnittes durch hohe Werte auf, wobei die Populationen aus dem Willamette-Tal (S09, S14) durch niedrige Werte für eine hohe Steuerung innerhalb dieser Gruppe verantwortlich sind. Insgesamt verfügt die Küstendouglasie mit $v_{gam} = 14,69$ über das fünffache Potential der südlichen Inlandsdouglasie ($v_{gam} = 2,98$). Die hyp. gametische Multilocusdiversität der nördlichen Inlandsdouglasie sowie die der Douglasie aus dem Übergangsbereich kann mit etwa der Hälfte des Potentials der Küstendouglasie angegeben werden (Tab. A.II-9).

5.2.2. Variation in den Proben aus Provenienzversuchen

In drei Gruppen zerfallen die Proben aus den Versuchsanbauten in Baden-Württemberg (vgl. Tab. 3-2, Abb. 3-1). Die Küsten-Douglasie ist sowohl durch die vorläufig als "Campbell-Gruppe" bezeichneten Populationen vertreten als auch durch sechs Populationen der Gruppe "Küste-Nord". Innerhalb der Campbell-Gruppe finden sich zwei Stichproben aus dem Nordteil der Insel Vancouver und eine von der gegenüberliegenden Festlandküste. Proben von der Pazifikküste (K01, K07), von der Südspitze der Insel Vancouver (K05) sowie vom Westabfall der Kaskaden (K08, K10, K11) erlauben Aussagen über die wichtigsten Standorte innerhalb des nördlichen Küstenbereiches, wobei Proben vom Ostabhang der Kaskaden ebenso fehlen wie die der Pudget-Senke. Die nördliche Inlandsdouglasie ist mit nur zwei Stichproben aus den Rocky Mountains in British Columbia schwach vertreten (vgl. Tab. 3-2).

Tabelle 5-14 gibt einen Überblick über die genetische Variation, wie sie sich nach Analyse der Knospobenen aus baden-württembergischen Versuchsanbauten darstellen. Die Gruppe der Populationen aus dem nördlichen Küstengebiet bieten im Alter von bis zu 4 bzw. 7 (K01) und 17 (K05) Jahren ein durchaus vergleichbares Bild wie die Stichproben aus Handelssaatgut. Mit Ausnahme der genetischen Vielfalt liegen alle Werte im Streubereich der Saatgutwerte aus dem entsprechenden natürlichen Habitatbereich und deutlich über dem Wert der zentralen Küstendouglasie (A/L) bzw. deutlich unter diesem (v , H_a , δ_T). Alle in Tab. 5-14 angeführten Parameter der nördlichen Küstendouglasie liegen deutlich über den Werten der anderen Douglasien-Gruppen (Tab. 5-13), sieht man einmal von der einzigen Stichprobe aus dem Bereich der südlichen Küstendouglasie ab.

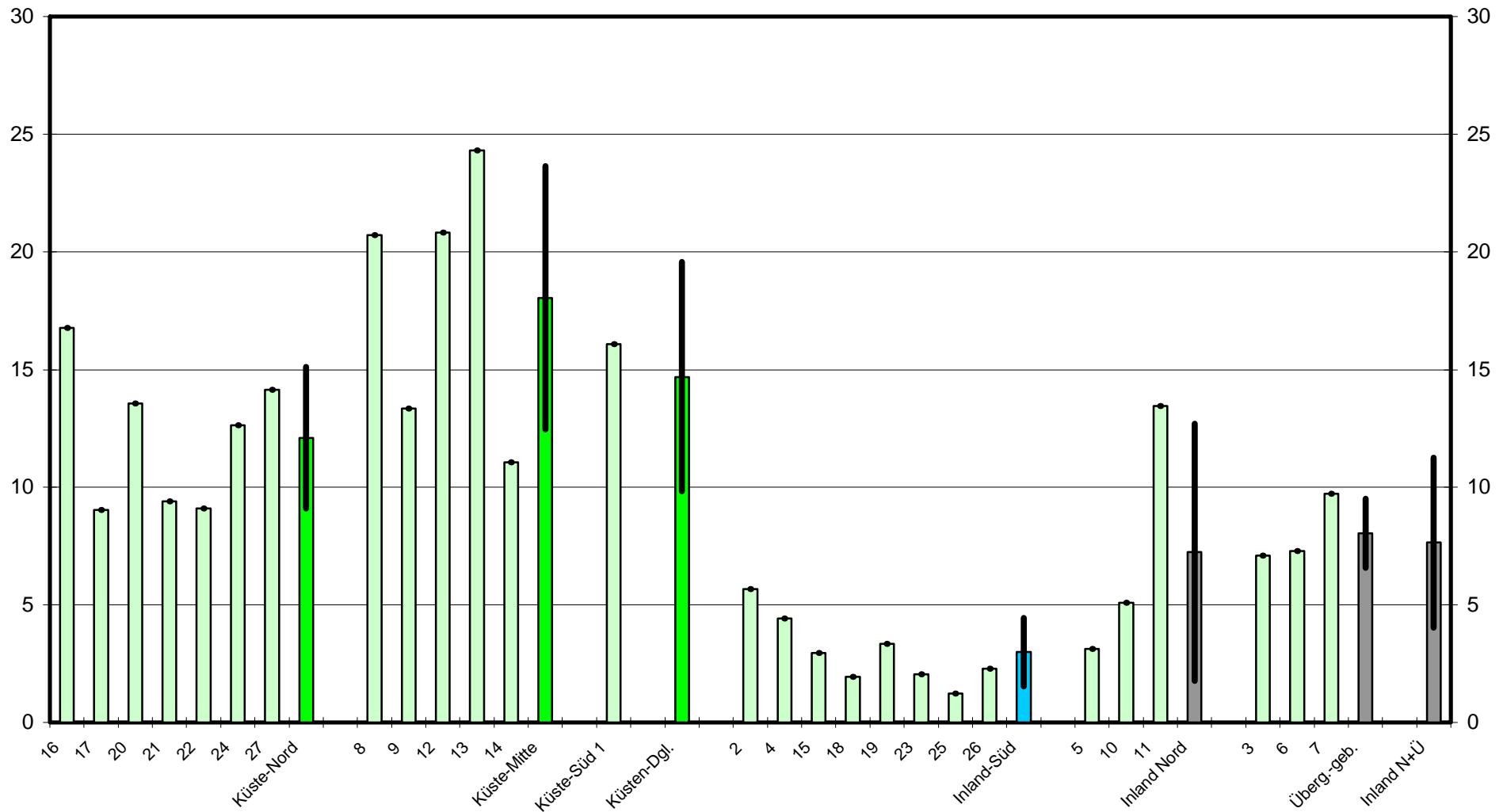


Abb. 5-29: Ausprägung der hyp. gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saatgutproben aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie

Erläuterungen: Mittelwerte für einzelne Regionen in kräftigen Farben; weitere Erläuterungen im Text.

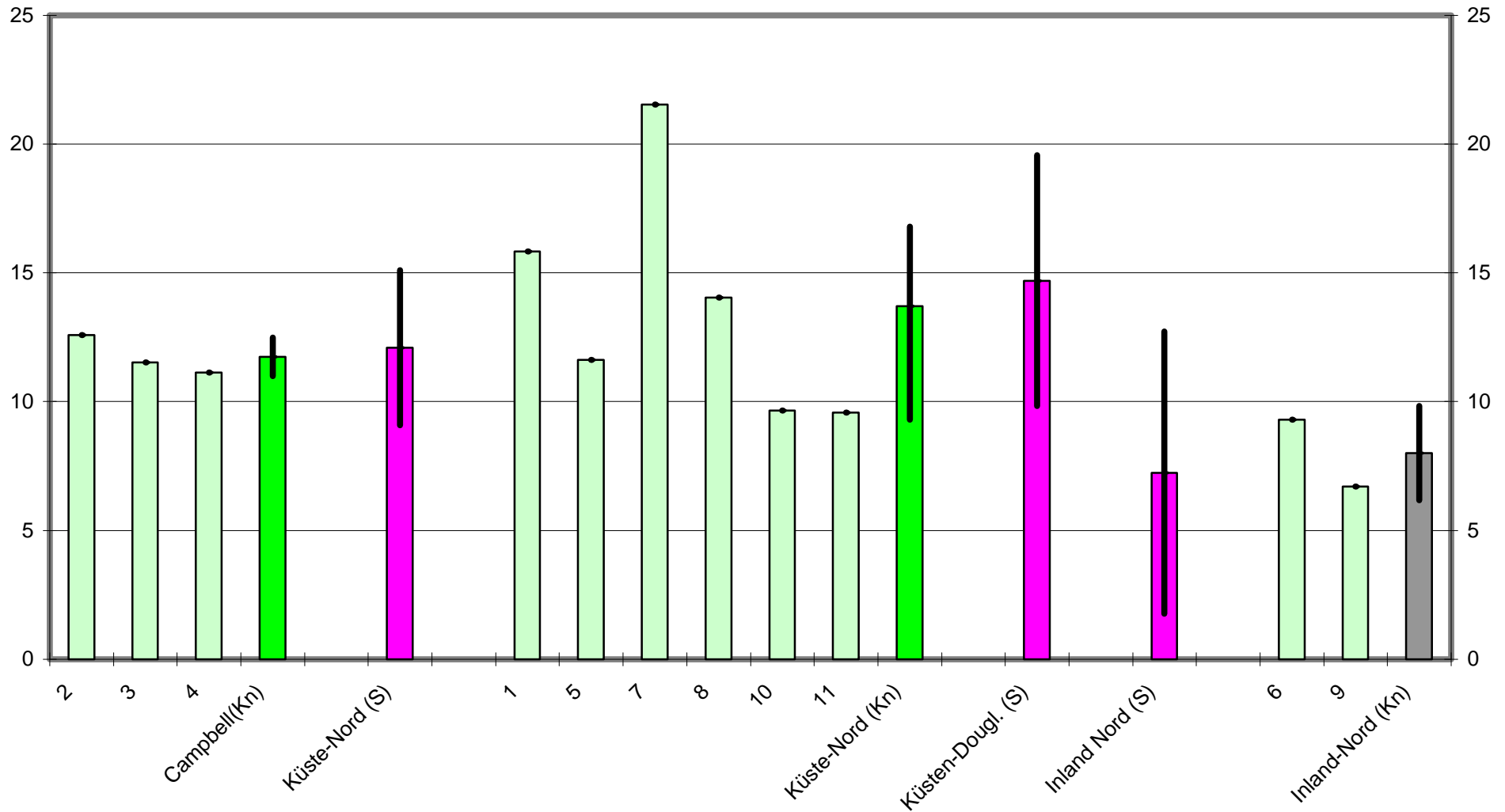


Abb.5-30: Ausprägung der hyp. gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saatgutproben und in einem Provenienzversuch aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie

Erläuterungen: Mittelwerte für einzelne Regionen in kräftigen Farben; weitere Erläuterungen im Text.

Die Stichproben aus dem Bereich der Campbell-Gruppe verfügen über einen deutlich geringeren Polymorphiegrad (58,3 %) sowie über eine zunächst überraschend geringe mittlere Anzahl von Allelen je Genort ($A/L = 2,37$) im Vergleich zur nördlichen Küstendouglasie. Das hohe Niveau der genischen Diversität ($v \cong 1,3$) sowie das des mittleren Heterozygotiegrades ($H_a = 0,222$) und das der Intrapopulationsdifferenzierung ($\delta_T = 0,233$) weisen die Campbell-Gruppe eindeutig als Küstendouglasie aus und unterscheiden sie gleichzeitig von den übrigen, in der vorliegenden Studie berücksichtigten Gruppierungen. Die Werte der beiden Stichproben der Inlandsdouglasie aus dem nördlichen Arealteil entsprechen den Werten aus den Saatgutproben weitgehend. Wie auch im Falle der nördlichen Küstendouglasie, so müssen auch hier die leicht höheren Werte der Heterozygotie bzw. der Intrapopulationsdifferenzierung im Vergleich zu den Saatgutdaten besonders vermerkt werden, zumal die Streuung extrem klein ist.

Das Balkendiagramm der Abb. 5-30 ermöglicht den Vergleich zwischen Werten aus den baden-württembergischen Versuchsanbauten und den jeweiligen Durchschnittswerten aus Saatgutproben (violette Balken). Die Werte für die hypothetisch gametische Multilocusdiversität bewegen sich insgesamt auf vergleichbarem Niveau bei z.T. erheblich geringerer Streuung um den Mittelwert. Die Stichprobe der Provenienz Humptulips (K07) fällt durch ein Potential zur Variation bei der Gametenbildung auf, das erheblich über dem Durchschnitt der nördlichen Küstendouglasie liegt. Ferner ergibt der direkte Vergleich von Stichproben der gleichen Provenienz (Darrington: K08 und S24) eine überraschend ähnliche Ausprägung dieses Parameters, wobei der Wert der bis zu 4 jährigen Pflanzen (K08) erwartungsgemäß leicht höher liegt (s.a. Tab. A.II-9). Ebenfalls verblüffend ist, daß der Durchschnittswert der Saatgutproben S22 und S27 von der Südspitze der Insel Vancouver ($v_{gam} = 11,628$) nahezu identisch ist mit dem Einzelwert der Probe aus den Versuchsanbauten (K05: 11,611). Dies gilt weiter für die benachbarten Stichproben S21 ($v_{gam} = 9,392$) und K11 ($v_{gam} = 9,563$) aus vergleichbaren Höhenlage um 500m ü.N.N. vom Westabfall der Kaskaden⁹⁵! Für die Campbell-Gruppe kann festgehalten werden, daß deren Potential, unterschiedliche Gameten auszubilden, im unteren Streubereich dieses Parameters für die Küstendouglasie anzusiedeln ist (Abb. 5-30).

5.2.3. Variation in den Proben aus badischen Altbeständen

Die genetische Variation der badischen Altbestände zeigt durchweg hohe Werte für die hier berechneten Parameter. Sowohl die Werte der Vielfalt als auch die Werte der genischen Diversität und die der Intrapopulationsdifferenzierung bewegen sich auf dem Niveau der Küstendouglasie (Tab. 5-15). Innerhalb der Vielfaltsmaße fällt der niedrige durchschnittliche Polymorphiegrad auf (78,6), welcher mit einer relativ hohen mittleren Anzahl an Allele je Genort (3,11) sowie mit einer hohen genischen Diversität (1,345) gekoppelt ist. Die aktuelle Heterozygotie erreicht hohe Einzelwerte für die hier untersuchten Altbestände (Tab. 5-15), so daß der entsprechende Mittelwert deutlich über dem Durchschnittswert für die Küstendouglasie liegt, welcher für Saatgutproben ermittelt wurde (Tab. 5-13). Die hypothetisch gametische Multilocusdiversität erreicht konsequenterweise ebenfalls hohe Werte im Vergleich zu Saatgutanalysen.

Zwei Bestände fallen in dem ansonsten überraschend einheitlichen Bild der badischen Altbestände auf: Der Bestand aus Kandern (B02) verfügt über eine außergewöhnlich hohe Zahl effektiver Allele ($v = 1,434$) verbunden mit einem außergewöhnlich hohen Heterozygotiegrad sowie mit einer hohen Intrapopulationsdifferenzierung (Tab. 5-15). Seine Art und Weise der genetischen Organisation erinnert an

⁹⁵ s.a. Tab. A.II-8

Tab. 5-15: Variation genetischer Parameter in Altdouglasienbeständen aus Baden-Württemberg.

Population [Nr.]	P ₉₅	A/L	v	H _a	δ _T	V _{gam}
B01	75	2,88	1,341	0,263	0,258	15,381
B02	75	3,0	1,434	0,292	0,308	27,065
B03	75	3,75	1,315	0,189	0,242	11,921
B04	87,5	2,88	1,338	0,238	0,257	12,892
B05	87,5	3,13	1,331	0,229	0,253	15,517
B07	75	3,0	1,349	0,242	0,263	17,074
Südwest- Schwarzwald	79,2 (6,5)	3,11 (0,33)	1,351 (0,042)	0,242 (0,034)	0,264 (0,023)	16,642 (5,441)
B06	75	2,75	1,310	0,233	0,241	13,911
Baden- Württemberg	78,6 (6,1)	3,06 (0,33)	1,345 (0,041)	0,241 (0,032)	0,260 (0,023)	16,252 (5,073)

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Populationen aus dem zentralen und eventuell aus dem südlichen Küstenbereich. Der Bestand aus Heidelberg hingegen (B06) verfügt über die geringsten Werte der Vielfaltsmaße innerhalb der badischen Altbestände und wird deshalb in der Tabelle 5-15 gesondert aufgeführt, obwohl er hinsichtlich Heterozygotiegrad, Intrapopulationsdifferenzierung oder hinsichtlich der hypothetisch gametischen Multilocusdiversität hohe Werte erreicht.

5.2.3.1. Exkurs I: Analyse von Teilpopulationen des Bestandes "B03"

Der Bestand B03 weist die höchste mittlere Anzahl von Allelen je Genort sowie die niedrigste hyp. gam. Multilocusdiversität auf (Tab. 5-15). In der Gesamtausprägung der Variationsparameter kommt er den Populationen aus dem zentralen Küstengebiet am nächsten. Es handelt sich gleichzeitig um den jüngsten der badischen Altbestände (Tab. 3-3), welche in der vorliegenden Studie analysiert werden. Im folgenden sollen die Auswirkungen waldbaulicher Maßnahmen im Laufe des Bestandeslebens näher untersucht werden. Als Beispiel dient ein später Durchforstungseingriff, welcher vom örtlichen Revierleiter, Herrn Böhler, zusammen mit dem Verfasser im Februar 1989 vorgenommen wurde. Ziel der Durchforstung war es, erste Vorbereitungen für eine natürliche Verjüngung zu treffen. Hierzu wurden "angeschobene" oder säbelwüchsige Individuen sowie solche mit schütterer Krone entnommen und enge Gruppierungen aufgelöst, um im Kronenraum eine leichte Auflockerung (Kronenpflege !) zu erreichen.

Der Bestand B03 stockt am Oberhang unmittelbar in der Nähe eines Bergrückens (vgl. Abb. A.I-2a - 2c) auf flachgründigem, skelettreichem lehmigen Sand aus Gneis im Wuchsgebiet 3/10 (westlicher Südschwarzwald). Zonalwaldgesellschaft ist der montane Buchen-Tannenwald mit Fichte (ALDINGER et al. 1998). Laut Operat für den Gemeindewald Münstertal aus dem Jahre 1907, wurde ein lichtgestellter Vorbestand aus Tanne und Buche mit eingesprengten Fichten, Eichen und Ahorn schrittweise entfernt. Da die Naturverjüngung auf diesem schwierigen Standort ausgeblieben war, wurde in den Jahren zwischen 1907 und 1917 hauptsächlich Tannen, daneben Fichten, aber auch Ahorn, Lärchen und Eschen in Kultur gebracht. In fünf Jahren wurde auch Douglasie angebaut, einmal zur Nachbesserung verwendet. In den Jahren 1908 und 1915 erfolgen die umfangreichsten Anbauten mit jeweils 400 Stück. Der älteste Saatgutbezug für die örtliche Baumschule datiert aus dem Jahre 1905: die Firma P. Schott (Knittelsheim, Rheinland-Pfalz) lieferte 0,5 kg "Douglastannen". Im Jahre 1912 ist erneut eine Saatgutlieferung von 0,5 kg "*Pseudotsuga douglasii*, grün" (!) belegt, Lieferant ist diesmal die Firma C. Appel (Darmstadt). Damit kann die Verwendung 3 - 5 jähriger Pflanzen aus zwei unterschiedlichen Saatgutlieferungen angenommen werden⁹⁶. Heute bietet sich das Bild eines Tannen-Fichten-Buchen-Baumholzes mit zwei Douglasien-Horsten und zwei Douglasien-Gruppen im Norden sowie einzelnen Douglasien im Süden. Bei der eingangs erwähnten Durchforstung im Jahre 1989 wurden 32 Stämme entnommen, zwischen 65 und 75 Douglasien verblieben im Bestand, davon 55 in den Horsten und Gruppen. Somit wurden für die vorliegende Untersuchung etwa 46% der verfügbaren Bestandesglieder, 59% des ausscheidenden Bestandes bzw. etwa 40% des verbleibenden Bestandes beprobt (vgl. Tab 5-16).

Wie die Tabelle 5-16 zeigt, erfolgt im Zuge dieser späten Durchforstung eine "Verbesserung" der genetischen Organisation des Bestandes. Der ausscheidende Bestand zeigt geringe Vielfaltsmaße sowie einen geringen mittleren Heterozygotiegrad. Auch ist er vergleichsweise gering differenziert ($\delta_T = 0,179$) und sein Beitrag zur genetischen Variation bei einer hypothetischen Gametenbildung muß als unterdurch-

⁹⁶ In der obigen Schilderung ist ausschließlich der getrennt verbuchte Sach- und Geldaufwand für die zuständige Rotte "Krummlinden" berücksichtigt. Obwohl die Gemeinde Münstertal über drei Arbeiterrotten in dieser Zeit verfügte, kann von einer weitgehend separaten Verwendung der Mittel ausgegangen werden, wie der zeitliche Abstand der jeweils umfangreicheren Douglasien-Pflanzungen beweist (Quellen: Q1, Q2).

schnittlich angesehen werden ($v_{gam} = 5,23$). Im verbleibenden Bestand ist die resultierende Zahl der effektiven Allele ebenso weitgehend unverändert, wie die Intrapopulationsdifferenzierung. Die mittlere Zahl der Allele je Genort nimmt leicht ab, da insgesamt vier seltene Allele vollständig aus der Population entnommen werden. Betroffen sind hier die Genorte GOT-B, 6-PGDH-A und SKDH-B (vgl. Tab. A.II-7). Der Polymorphiegrad sowie der mittlere Heterozygotiegrad steigen jedoch deutlich an und das Niveau der hypothetisch gametischen Multilocusdiversität signalisiert ein erheblich vergrößertes Potential variantenreicher Gametenbildung.

Tab. 5-16: Ausprägung genetischer Variationsparameter in Bestandeskollektiven im Zuge einer späten Durchforstung (Bsp. B03)

Population	Proben- größe	P ₉₅	A/L	v	H _a	δ _T	v _{gam}
ABST	49	75	3,75	1,315	0,189	0,242	11,921
DF	19	62,5	2,13	1,210	0,151	0,179	5,230
VBST	30	87,5	3,25	1,312	0,212	0,242	13,826

Erläuterungen: ABST - Ausgangsbestand
 DF - Durchforstungsergebnis
 VBST - verbleibender Bestand
 Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

5.2.3.2. Exkurs II: Analyse von Demen des Bestandes "B06"

Der Bestand "B06" bildet eine Teilfläche in der Abteilung I.25 "mittlerer Schweizer Hang" des Stadtwaldes von Heidelberg. Fichte und Douglasie dominieren mit jeweils 35%, die Waldkiefer hält zusammen mit der Weymouthskiefer und Lärche weitere 25%, während die Eßkastanie zusammen mit einigen Eichen und Buchen 5% dieses einzel- bis horstweise gemischten Bestandes ausmachen (Q4, Q5). Es handelt sich um den ältesten der hier untersuchten Bestände, welcher aus einem durchgewachsenen Niederwald am Nordhang des Neckartales entstanden ist. 60 jährige Stockausschläge aus Buche mit Eiche und wenig Hainbuche sowie einige Birken und Forlen unter dem lockeren Schirm einiger weniger, 100 jähriger Eichen, Buchen und Kastanien bildeten den für das Neckartal damals typischen Vorbestand (vgl. OESCHGER 1975, S.18), der zwischen 1891 und 1910 in einen Hochwald umgebaut wurde (Q6, Q7, Q8). Das Forsteinrichtungswerk von 1954 vermerkt zu einem Douglasienhorst im Norden der Abteilung, es handele sich um "wüchsige, sehr lange, zu geringem Teil geastete, z.T. blaue Douglasien" (Q9). Dieser Douglasienhorst sowie zwei weitere Trupps wurden schwerpunktmäßig für die vorliegende Untersuchung beprobt. Eine Sprengmast im Jahre 1990 bot die Gelegenheit von sechs der ursprünglich beprobten Bestandesglieder Zapfen zu ernten⁹⁷. Zwei dem Baum mit der Probe-Nummer 19 benachbarte Glieder wurden ebenfalls beerntet (vgl. Tab. 5-17: Nr. 19a, 19b). Im vorliegenden Kapitel wird exemplarisch untersucht, wieweit eine solche Sprengmast den Ausgangsbestand repräsentiert.

⁹⁷ vgl. Kap. 3.1.1.

Tab. 5-17: Metrische Merkmale zur Sprengmast des Jahres 1990 im Douglasienbestand der Abteilung I.25 des Stadtwaldes Heidelberg (B06)

Merkmal	Probeebäume								Gesamt
	2	6	19	19a	19b	20	21	24	
Zapfenlänge [cm] ∩	6,18 (0,45)	5,75 (0,87)	3,9 (0,65)	5,0	4,13 (0,46)	6,05 (1,03)	4,82 (0,62)	6,63 (0,91)	5,39 (1,21)
Hohlkorn [%] ∩	44	84	60	100	71	n.a.	44	67	62
Anteil bei Isozym-Analyse	22 (27%)	3 (4%)	1 (1%)	0	1 (1%)	n.a.	11 (14%)	43 (53%)	80 (100%)

Erläuterungen: n.a. - nicht analysiert.

Zunächst bleibt festzustellen, daß die Zapfengröße von durchschnittlich 5,4 cm auf eine nördliche Inlandspopulation hindeutet⁹⁸. Unter den hier untersuchten Bäumen fallen die Individuen mit der Nummer 6, 19, 19a, 19b und 21 durch die kleinsten Zapfen auf. Die absoluten Längen schwanken zwischen 3,5 cm (Baum Nr. 19) und 6,4 cm (Baum Nr. 6). Bei den übrigen Probeebäumen finden sich Werte zwischen 4,3 (Baum Nr. 2) und 8,0 cm (Baum Nr. 24).

Der Anteil der jeweiligen Einzelbaumnachkommenschaft an der mittels Isozymanalyse untersuchten Gesamtmenge der Samen schwankt zwischen 1% und 53%. Zwei Bäume, nämlich Nr. 02 und Nr. 24, tragen zu 80% zu der hier analysierten Nachkommenschaft bei (Tab. 5-17). Diese beiden Einzelbaumbearbeitungen verfügen über ein unterdurchschnittliches bzw. nahezu durchschnittliches Hohlkornprozent. Der Baum mit der Nummer 19a hatte nur Hohlkörner im Zapfen und schied daher für weitere Untersuchungen aus. Das Ergebnis der Isozymanalyse, an Makrogametophyt und Embryo ausgeführt, ist in der Tabelle A.II-8 im Anhang sowie in den Tabelle 5-18 und 5-19 dargelegt.

Die Sprengmast, im wesentlichen über Samen von drei Bäumen repräsentiert, zeigt leicht geringere Vielfaltswerte als der Ausgangsbestand (Tab. 5-18). Tatsächlich fehlen insgesamt vier seltene Allele der Loci GOT-C, AMP-A, AMP-C und SKDH-B in der Nachkommenschaft, während zwei seltene Allele am Genort 6-PGDH-A neu beobachtet werden (Tab. A.II-8). Während die Werte der allelischen Diversität sowie der Intrapopulationsdifferenzierung nahezu unverändert bleiben, sinken der mittlere Heterozygotiegrad sowie die hypothetisch gametische Multilocusdiversität ab (Tab. 5-18). Dieser zu-

⁹⁸ vgl. Kap. 2.5.1. bzw. Tab. 2-3.

Tab. 5-18: Ausprägung genetischer Variationsparameter eines Ausgangsbestandes (Bsp. B06) im Vergleich mit einer Nachkommenschaft aus Sprengmast

Population	Proben- größe [Bäume]	größe [Samen]	P ₉₅	A/L	v	H _a	δ _T	v _{gam}
ABST	30	-	75	2,75	1,310	0,233	0,241	13,911
Saatgut '90	6	80	62,5	2,5	1,321	0,206	0,245	12,909

Erläuterungen: ABST - Ausgangsbestand
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

zunächst harmlose Befund, gewinnt bei der Betrachtung der allelischen Strukturen des Pollenpools bzw. der weiblichen Eltern an Dramatik. Der Genpool der weiblichen Eltern verfügt erwartungsgemäß über eine niedrige mittlere Anzahl von Allelen je Genort ($A/L = 2,0$) und damit über nur 70% der Gesamtzahl der Allele des Ausgangsbestandes. Der Pollenpool steuert 10% der Allele aus dem Ausgangsbestand zusätzlich neben den bereits erwähnten, in der Stichprobe der Altbäume nicht erfaßten seltene Allele am Genort 6-PGDH-A, zum Genpool der Embryonen bei, so daß letzterer auf zumindest 91% der Vielfalt des Ausgangsbestandes kommt. Die Unterschiede beziehen sich jedoch nicht nur auf die seltenen Allele, sondern auch auf die teilweise erheblich unterschiedlichen allelischen Strukturen beider Eltern. Eine signifikante Abweichung von Zufallspaarung konnte an den Genloci GOT-B, AMP-A und SKDH-B festgestellt werden. Allerdings gilt diese Aussage mit Einschränkung, da der hier verwendete Wahrscheinlichkeitstest für die seltenen Allele empfindlich ist (Tab. A.II-8). Die resultierenden allelischen Strukturen der Nachkommenschaft zeigen am Genort IDH statistisch signifikante Unterschiede zum Altbestand. Weitere Unterschiede finden sich an den Genloci GOT-B, AMP-A, und SKDH-B, wobei die z.T. hochsignifikanten Unterschiede auf Grund der Empfindlichkeit des gewählten X^2 -Testes gegenüber seltenen Allelen nur mit Einschränkung gelten (Tab. A.II-8). Eine erneute statistische Prüfung nach

Tab. 5-19: Hardy-Weinberg-Heterozygotie und Fixierungsindex für einen Ausgangsbestand (Bsp. B06) und dessen Nachkommenschaft aus Sprengmast

Genort:	GOT-A	GOT-B	GOT-C	IDH	AMP-A	AMP-C	6PGDH-A	SKDH-B
DEM:								
ABST	-	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW
Saatgut '90	-	+0,339 n.s.	HW	HW	+0,224 *	HW	HW	+0,329 n.s.

Erläuterungen: HW - genotypische Struktur entsprechend Hardy-Weinberg Struktur
F > 0 → Homozygoten Überschuß
Testverfahren: G-Test; Signifikanzniveau: n.s. - nicht signifikant; * - 0.050

Zusammenfassen der sehr seltenen Allele dieser Genorte führt zu dem Ergebnis, daß an den minorpolymorphen Genloci GOT-B und SKDH-B keine Inhomogenitäten nachweisbar sind. Bei dem majorpolymorphen Genort AMP-A hingegen, wo die langsamen Allele 4 und 3 gepoolt wurden, ist eine signifikante Abweichung sehr wohl nachweisbar.

Vergleicht man die genotypischen Strukturen beider Datensätze, des Altbestandes sowie der Nachkommenschaft aus Sprengmast, bezüglich ihrer Übereinstimmung mit dem Modell der Hardy-Weinberg Struktur, so fällt auf, daß für die Stichprobe des Altbestandes eine Übereinstimmung mit diesem Modell angenommen werden kann (Tab. 5-19). Dies trifft nicht zu für die Nachkommenschaft des Jahres 1990, die an den Genorten GOT-B, AMP-A und SKDH-B über positive Fixierungsindizes verfügt, welche einen Homozygotenüberschuß quantifizieren, der auf Selbstungen schließen läßt. Für AMP-A ist dieser Wert auf statistisch signifikantem Niveau gesichert (Tab. 5-19). Berechnet man den mittleren Fixierungsindex über sieben polymorphe Loci für diese Nachkommenschaft, so ergibt sich jedoch ein überraschend niedriger Wert von $F = 0,151$. Hieraus läßt sich nach MUONA & HARJU (1989)⁹⁹ ein Fremdbefruchtungsanteil von 74 % berechnen!

5.2.4. Prüfung des untersuchten Vergleichsmaterials auf Inzuchtbelastung

Um die Verwendung suboptimalen Vergleichsmaterials auszuschließen, wurde überprüft, wieweit die beobachteten Heterozygotiegrade in den jeweiligen Datensets an einzelnen Genloci dem Modell eines erwarteten Heterozygotiegrades unter Hardy-Weinberg-Struktur entsprechen. Dabei wurde der in der Praxis immer noch übliche Fall einer Beerntung weniger Mutterbäume anlässlich von Sprengmasten unterstellt, welcher zu Inzuchtbelastungen in den Nachkommenschaften und damit zu einem Homozygotenüberschuss führt. In den Tabellen 5-20 und 5-21 sind die Ergebnisse des G-Testes dargestellt, wobei nur für signifikante Abweichungen vom Modell Fixierungsindizes errechnet wurden. Leere Felder in den Tabellen bezeichnen nicht signifikante Abweichungen von der Modellstruktur, während die Abkürzung HW eine Übereinstimmung der gefundenen genotypischen Struktur mit der theoretischen Hardy-Weinberg-Struktur dokumentiert. Der monomorphe Genort GOT-A wird hier nicht behandelt.

Unter den 27 Stichproben aus Handelssaatgut findet sich immerhin ein Prozentsatz von 60, welcher überwiegend eine Hardy-Weinberg-Struktur in den genotypischen Strukturen der analysierten sieben Genorte aufweist. In sechs Stichproben hiervon zeigen sogar 71% der Genorte ein Hardy-Weinberg-Struktur. Abweichungen von der Modellstruktur finden sich hauptsächlich an den Genorten der Amino-peptidase, der Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase sowie in wenigen Fällen am Genlocus SKDH-B. Sie sind zum überwiegenden Teil nicht statistisch signifikant. Insgesamt sieben Populationen, entsprechend 26%, verfügen über zumindest einen Genort mit offensichtlich statistisch signifikanter Abweichung von Hardy-Weinberg-Heterozygotie. Drei Populationen hiervon, S03, S12 und S27, besitzen derart signifikante Abweichungen gar an zwei bzw. drei Genloci. Alle sieben Populationen verfügen neben den Genorten mit signifikanter Abweichung gleichzeitig über zwischen zwei und vier Genloci, an welchen sich eine Hardy-Weinberg-Struktur in der genotypischen Struktur findet.

Eine nähere Betrachtung der gefundenen allelischen Strukturen (Anhang: A.II-4a, 4b) sowie der theoretisch erwarteten Hardy-Weinberg-Struktur zeigt, daß bei der hier verwendeten Stichproben-

⁹⁹ Formel: $t = (1-F)/(1+F)$ (MUONA & HARJU 1989)

Tab. 5-20: Hardy-Weinberg Struktur und Fixierungsindex für Vergleichspopulationen aus Handelssaatgut

Genorte	P o p u l a t i o n													
	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10	S11	S12	S13	S14
GOT-B	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	m	H.W.		H.W.			+ 0,410 (*)		H.W.
GOT-C	H.W.	H.W.		H.W.	m	m		H.W.	H.W.	m		+ 0,741 (***)		
IDH	H.W.			m	m	m		H.W.	H.W.			H.W.	H.W.	H.W.
AMP-A	H.W.		+ 0,406 (*)	m		+ 0,317 (**)		H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	+ 0,285 (*)
AMP-C			+ 0,879 (***)	m			H.W.	H.W.	H.W.		+ 0,631 (**)	+ 0,784 (**)		
6PGDHA	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.		H.W.	H.W.	H.W.
SKDH-B	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.

Genorte	P o p u l a t i o n												
	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27
GOT-B		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.				H.W.			H.W.	
GOT-C	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	m		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.
IDH	m	H.W.	H.W.	m	m	H.W.	H.W.	H.W.	m	H.W.			H.W.
AMP-A	m		H.W.				H.W.	H.W.		+ 0,256 (**)	m		+ 0,327 (**)
AMP-C	m	H.W.		m	m	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.		m		H.W.
6PGDHA	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.		H.W.	H.W.
SKDH-B					H.W.	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	m	H.W.	+ 0,516 (*)

Tab. 5-21: Hardy-Weinberg Struktur und Fixierungsindex für Vergleichspopulationen aus baden-württembergischen Versuchsanbauten

Genorte	P o p u l a t i o n										
	K01	K02	K03	K04	K05	K06	K07	K08	K09	K10	K11
GOT-B	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	m	H.W.	H.W.	m	H.W.	H.W.
GOT-C		m			m		H.W.		H.W.	H.W.	
IDH	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	m	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.
AMP-A	+ 0,392 (***)			H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	+ 0,284 (*)	
AMP-C	+ 0,802 (***)	H.W.			H.W.	+ 0,653 (**)		+ 0,476 (*)			H.W.
6PGDHA		H.W.	H.W.			H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.
SKDH-B	H.W.	H.W.	H.W.		H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.	H.W.

Erläuterungen: **H.W.** – genotypische Struktur entsprechend Hardy-Weinberg Struktur
F > 0 → Homozygotenüberschuß
Testverfahren: G-Test; Signifikanzniveau: * - 0,050, ** - 0,010, *** - 0,001
leere Felder: Abweichung von HW – Heterozygotie nicht signifikant.
m: Locus monomorph, Test nicht möglich.

größe von 45 Samen an Genorten mit mehr als drei Allelen der Fall auftreten kann, daß die sehr seltenen Varianten nicht in ausreichend unterschiedlichen, sondern nur in einigen wenigen Kombinationen in der Stichprobe vertreten sind. Bestimmte, zumeist mischerbige Allelkombinationen werden dann auch in Häufigkeiten unter 5 erwartet, was als Indiz dafür gewertet werden muß, daß hier die Grenzen für die Anwendbarkeit des G-Testes bereits überschritten sind. Hierfür spricht auch, daß zumeist diejenigen der selteneren Allelkombinationen überhaupt beobachtet werden, welche einen relativ hohen Erwartungswert besitzen (z.B. S12: GOT-C).

Ein besonderer Fall stellt das Auftreten eines Nullalleles am Genlocus AMP-A dar. Es kann bekanntlich nur dann nachgewiesen werden, wenn es im Makrogametophytengewebe auftritt oder homozygot im diploiden Gewebe (HATTEMER et al. 1993). Auf Grund dieser rezessiven Eigenschaft bleibt der Beitrag eines Pollenelters auch bei der hier gewählten Methode des Vergleiches von Makrogametophyt und dem dazugehörigem Embryogewebe stets unentdeckt. Tatsächlich sind in vier der fünf signifikanten Fälle¹⁰⁰ einer Abweichung von der Hardy-Weinberg-Heterozygotie an diesem Genlocus (Tab. 5-20) Allelkombinationen mit "Null" nicht unerheblich beteiligt.

Vor dem Hintergrund der oben angeführten Überlegungen bleibt lediglich der Verdacht einer Inzuchtbelastung für die Populationen S03 und S11 bestehen, da sie über wenige Loci mit dem Modell entsprechenden Strukturen verfügen. Zusätzlich finden sich bei diesen am Genort AMP-C zwar nahezu alle möglichen reinerbigen Varianten, die häufiger zu erwartenden mischerbigen Allelkombinationen bleiben jedoch weitgehend unbesetzt.

Die baden-württembergischen Versuchsanbauten verfügen mehrheitlich über genotypische Strukturen die dem Modell der Hardy-Weinberg-Struktur entsprechen (Tab. 5-21). Durchschnittlich vier Loci entsprechen diesem Modell in jeder Vergleichspopulation, wobei die Population K06 über die geringste Zahl bzw. die Population K07 über die größte Zahl modellentsprechender Loci verfügt. Signifikante Homozygotenüberschüsse finden sich in den Populationen K06, K08 und K10 an den Loci AMP-A oder AMP-C. Einzig die Population K01 zeigt derartige Homozygotenüberschüsse gleich an zwei Genorten AMP-A und AMP-C (Tab. 5-21). Unter Berücksichtigung der obigen Ausführungen zur Bewertung von Testergebnis und Vergleich der beobachteten mit den erwarteten Hardy-Weinberg-Strukturen, kann gefolgert werden, daß auch hier größere Stichproben für eine sichere Beurteilung nötig wären. In allen Fällen signifikanter Abweichung von der Hardy-Weinberg-Heterozygotie werden schließlich die vergleichsweise Häufigen der erwarteten Allelkombinationen besetzt, mit Ausnahme vom Genort AMP-C der Population K01. Da in allen fraglichen Stichproben Genorte mit Strukturen entsprechend der Hardy-Weinberg-Struktur überwiegen, wird keine von der Verwendung in der vorliegenden Untersuchung ausgeschlossen.

5.2.5. Diskussion

Paarungssysteme

Die Paarungssysteme der Koniferen waren in der Vergangenheit stets einer der Schwerpunkte in der forstgenetischen Forschung. Sowohl mit quantitativen Merkmalen (z.B. SORENSEN & CAMPBELL 1997) als auch mittels Isozymanalyse (ERICKSON & ADAMS 1989) konnte für die Douglasie gezeigt werden,

¹⁰⁰ Ausnahme: Population S14

daß der Paarungserfolg von einer optimalen Entfernung der Paarungspartner als auch von der Übereinstimmung der Blühtakte abhängt. Generell werden hohe Fremdbefruchtungsraten beobachtet (SHAW & ALLARD 1982b, YEH & MORGAN 1987), neben Selbstungen wurden in den Urwaldbeständen der Douglasie auch in geringem Ausmaß Inzuchtbelastungen aus Verwandtschaftspaarungen beobachtet (NEALE & ADAMS 1985). Die in dem oben angeführten Fallbeispiel der Sprengmast aus dem Bestand Heidelberg I.25 beobachteten überdurchschnittlichen Hohlkornanteile des Trupps um den Baum 19 können als individuell auftretende Neigung zur verstärkten Selbstbefruchtung interpretiert werden, wie dies zuvor bereits von anderen Autoren für einzelne Douglasien berichtet wurde (SORENSEN 1971, SHAW & ALLARD 1982b), oder durch Dichtstand bei unterschiedlichem Blühtakt. Für die Bäume 21, 24 und 02 lassen sich die geringen Hohlkornanteile mit einer teilweise einseitigen Randlage am Übergang zu Laubholzgruppen bzw. am Wegrand erklären, die einen besseren Pollenaustausch ermöglicht als eine Position inmitten des geschlossenen Bestandes. Schließlich belegen auch jüngere, raumbezogene Studien mittels Computersimulation die Bedeutung der Bestandesstruktur für die effektive Populationsgröße (DEGEN et. al. 1996). Bei Baum Nr. 6 kann nicht ausgeschlossen werden, daß der hohe Hohlkornanteil auf abweichende Blühphänologie zurückzuführen ist, da dieser auch in anderer Hinsicht über abweichende Merkmale verfügt, beispielsweise über ausgesprochen graublaue Nadeln im Vergleich zu den übrigen meist grau-grünen Bestandesgliedern. Da der größte Befruchtungserfolg bei einer Bestäubung innerhalb von drei Tagen nach der Reife der Eizelle eintritt (OWENS & SIMPSON 1982), können bereits kleine Unterschiede im Blühtakt erhebliche Auswirkungen auf das realisierte Paarungssystem zeigen. Da insgesamt nur wenige Bestandesglieder überhaupt fruktifizierten, muß der Hohlkornanteil als Schutzmechanismus gesehen werden, der als früh einsetzende Inzuchtdepression noch vor Ausreifen des Zapfens den Abortus letal inzuchtgeschädigter Embryonen herbeiführt, wie dies bereits für die Waldkiefer nachgewiesen worden ist (KÄRKKÄINEN & SAVOLAINEN 1993).

Folgt man den Ausführungen von WOODS & HEAMAN (1989), so würde man aus der geringen Zahl voller Körner pro Zapfen, die hier zwischen 0 (Baum 19a) und 7 (Baum 24) schwankt (vgl. Tab. 3-4), grundsätzlich auf hochgradige Inzucht mit Fixierungsindices über 0,5 schließen. Der vorgefundene, überraschend niedrige Fixierungsindex von 0,151 zeigt, daß trotz Sprengmast mit räumlich und phänologisch überwiegend isoliertem Abblühen der Individuen, die Population über eine zwar geringe aber funktionsfähige Nachkommenschaft aus einer solchen "Notproduktion" verfügt, wenn nicht Schadorganismen diese weiter dezimieren. Besonders den Randbäumen kommt dabei ein weiterer Schutzmechanismus der Douglasie zugute, wodurch fremder Pollen besser keimt und damit Eigenpollenbefruchtung ausschalten kann, sofern diese nicht länger als 6 bzw. 24 Stunden zurückliegt (WEBBER 1987). Die so "bereinigte" (LANDE 1996) Fremdbefruchtungsrate von 74% entspricht dem, was STAUFFER & ADAMS (1993) für Schweizer Douglasien-Bestände schildern und liegt unter den Werten amerikanischer Studien (NEALE & ADAMS 1985, YEH & MORGAN 1987) sowie beispielsweise unter denen für die Waldkiefer in Skandinavien (MUONA & HARJU 1989). Allerdings erscheint der Schluß auf generell hohe Selbstungsraten in europäischen Beständen (STAUFFER & ADAMS 1993, S. 258) insofern verfrüht, als auch bei den Untersuchungen in der Schweiz offensichtlich nur Saatgut aus Sprengmasten bereitstand. Außerdem ergaben die Untersuchungen französischer Kollegen unterschiedliche Ergebnisse bis hin zu optimalen Fremdbefruchtungen in Samenplantagen (PRAT & ARNAL 1994, PRAT & CAQUELART 1995, PRAT & BURCZYK 1998). Hier sollten daher Halb- oder Vollmastereignisse abgewartet werden, die schließlich auch im Heimatgebiet der Douglasie nur fünf bzw. sechs mal in 34 Jahren beobachtet wurden (EREMKO et al. 1989). Zur vollständigen Beurteilung des realisierten Paarungssystems sind, wie die vorliegende Arbeit zeigt, folglich mehr Informationen notwendig als nur pure Daten molekularer oder biochemischer Marker.

Ferner scheint der majorpolymorphe Genort AMP-A geeignet, in ausreichend großen Stichproben Spuren realisierter Selbstung nachzuweisen. Auch in anderen Arbeiten zeigte diese Genort signifikante Homozygotenüberschüsse (LEINEMANN 1998, S. 68).

Heterozygotie, Heterozygotenvorteil und ontogenetische Dynamik

Von vielen Seiten beleuchtet, gehört die Heterozygotie zu den zentralen Parametern in der Genetik. Erst das zwischenzeitlich zahlreich vorhandene Datenmaterial an Isoenzymgenmarkern lieferte in Verbindung mit der Entwicklung der Computertechnik den Hinweis, daß Bäume nicht nur extrem langlebige Wesen sind, sondern auch über extreme Heterozygotiegrade als Individuen bzw. mittlere Heterozygotiegrade in den Populationen verfügen (z. B. HAMRICK & GODT 1989, zur Übersicht vgl. LEDIG 1986). Die Dynamik der ontogenetischen Entwicklung, die hinter diesem Ergebnis steht, die seit Jahrmillionen die Evolution trägt und heute kurzfristige "Antworten" von Baumpopulationen auf anthropogene Einflüsse ermöglicht, beginnt man erst langsam zu verstehen. Bedenkt man die Langlebigkeit dieser Organismen, so wird die schwierige Wahl geeigneter Forschungsansätze deutlich. Man muß nur an die zahlreichen Provenienzversuche denken (z. Übersicht vgl. MORGENSTERN 1996), an die geringe Zahl über lange Zeit auswertbarer Flächen und die vereinzelt Beobachtung vom sogenannten "Umsetzen" in der Rangfolge der Prüfglieder (z.B. WHITE & CHING 1985), um die Dimension des Problems zu erfassen.

Das Theorem, Mischerbigkeit würde zu Homöostasie führen, hat seinen Ursprung im Darwinismus (z. Übersicht vgl. LEDIG et al. 1983). Es geht davon aus, daß die Ausstattung eines Genortes mit zwei unterschiedlichen Allelen, beispielsweise unterschiedlichen Enzymvarianten, dem Lebewesen ein breiteres Reaktionsvermögen auf Umwelteinflüsse verschafft. Mehr noch, die Erfolge in der landwirtschaftlichen Hybridzüchtung haben zu der Verallgemeinerung geführt, Mischerbige seien generell im Vorteil (Heterosis). Ökologen und Genetiker haben früh versucht, mittels biochemischer Marker diese Vorgänge allgemein sowie die Rolle von Paarungssystem und Selektion zu verstehen (vgl. ALLARD et al. 1975, SAMOLLOU & SOULÉ 1983). Trotz teilweise widersprüchlicher Ergebnisse kann heute davon ausgegangen werden, daß bei Waldbäumen Heterozygotie u. a. mit Resistenz gegenüber Luftverschmutzung oder Fitneß bei Stress in Verbindung gebracht werden kann (z. Übersicht vgl. MITTON 1995). Außerdem wurde für eine Reihe von Baumarten eine Dynamik in der ontogenetischen Entwicklung nachgewiesen, indem der mittlere Heterozygotiegrad mit fortschreitendem Lebensabschnitt der Populationen zunimmt sowie ein Homozygotenüberschuß im Jugendstadium sich in einen Heterozygotenüberschuß in reifen Populationen umwandelt (FARRIS & MITTON 1984, YAZDANI et al. 1985, PLESSAS & STRAUSS 1986, MUONA et al. 1987b, KONNERT 1991c). Auch für die Douglasie wurde das bereits nachgewiesen (SHAW & ALLARD 1982a). Die Komplexität vieler Ökosystemtypen erfordert allerdings auch bei dieser Fragestellung sorgfältige, holistische Analyseansätze (vgl. SOULÉ 1979). Es kann also davon ausgegangen werden, daß junge Stadien, wie Saatgut oder Sämlinge, über niedrige mittlere Heterozygotiegrade verfügen, welche in den nachfolgenden Lebensabschnitten Schritt für Schritt ansteigen werden. Vergleicht man die entsprechenden Werte der Tabellen 5-13 und 5-14, so stellt man tatsächlich eine Zunahme fest und zwar für beide der vergleichbaren Gruppen, Küste-Nord und Inland-Nord. Dieser Befund gilt weiter für den Diversitäts- sowie für den Differenzierungsparameter, so daß auf eine allgemeine Verbesserung in der genetischen Organisation geschlossen werden kann. Dieser Konzentrationsprozeß geht mit z.T. deutlichen Verlusten der allelischen Vielfalt einher, welche etwas über denen liegen, die bei vergleichbaren Untersuchungen an der Waldkiefer beobachtet wurden (MUONA et al. 1988). Ob dies auf unterschiedliche Selektionsprozesse zurückzuführen ist, wird in Kapitel 5.3 nochmals beleuch-

tet werden. An dieser Stelle bleibt zu bemerken, daß Nullallele im Knospengewebe nur im Falle von Reinerbigkeit nachzuweisen sind (s.o.), was u.a. zu der beobachteten, leichten Schiefe der Daten beiträgt. Nullallele treten an insgesamt fünf Genorten auf, davon an AMP-A und SKDH-B nahezu regelmäßig. Bei einer durchschnittlichen Anzahl von 26,3 Allelen für das gewählte Genmarker-Set, beispielsweise im Bereich der nördlichen Küstendouglasie, bedeutet dies eine rein technische Verminderung um 2 Allele und damit eine Verringerung des Wertes der mittleren Anzahl von Allelen je Genort um 7,6%.

Auch die vorgenommene Kronenpflege des Bestandes B03 (Münstertal X.1) ist unter dem ontogenetischen Aspekt zu betrachten; der Eingriff hat die natürliche Dynamik offensichtlich unterstützt. Allerdings zeigen verschiedene Untersuchungen, daß diese Schlußfolgerung keinesfalls für alle waldbauliche Maßnahmen bzw. für alle forstlich relevanten Baumarten verallgemeinert werden darf (KONNERT & SPIECKER 1996). Vielmehr sind sorgfältige Untersuchungen notwendig, um den Einfluß waldbaulichen Handelns auf die genetische Nachhaltigkeit künftig besser abschätzen zu können. Interessanterweise hat auch HOSIUS bei der Untersuchung von Durchforstungsvarianten bei der Fichte signifikante Änderungen in den allelischen Strukturen der Fichte nach einer Niederdurchforstung an Genorten der Enzymsysteme GOT und AMP und 6-PGDH gefunden (HOSIUS 1993). Die Niederdurchforstung ist vom waldbaulichen Endergebnis¹⁰¹ der negativen Auslese zu entnehmender Glieder aus betrachtet durchaus mit der hier vorgenommenen Kronenpflege vergleichbar. Ferner scheint eine kritische Auseinandersetzung mit amerikanischen Arbeiten auf diesem Gebiet (z. B. ADAMS et al. 1998) dringend geboten. Die Untersuchungen von NEALE (1985), wiewohl von den waldbaulichen Voraussetzungen nicht vergleichbar, demonstrieren ebenfalls die Tendenz, daß selbst unter den ausgewählten Überhältern (Leave Trees) aus Urwaldbeständen der mittlere Heterozygotiegrad zunimmt, allerdings bei gleichzeitiger Zunahme der mittleren Anzahl von Allelen je Genort. Auch hier sind zusätzliche Arbeiten notwendig, um zu klären, wie weit an diesem Punkt Unterschiede in der ontogenetischen Dynamik der Douglasie auf beiden Kontinenten herrscht.

Vor dem Hintergrund der obigen Ausführungen verwundern die durchwegs hohen Werte genetischer Variationsparameter in den badischen Altbeständen nicht mehr. Sie müssen zu einem erheblichen Teil als lebensabschnittsbedingt erklärt werden. In wieweit Mischungen verschiedener Ökotypen bei der Bestandesbegründung eine Rolle gespielt haben (LEINEMANN 1998), die zu derart hohen Werten ebenfalls beitragen könnten, ist heute nur begrenzt recherchierbar. Dieser Gedanke wird weiter unten nochmals aufgegriffen.

Im Vergleich mit der heimischen Weißtanne verfügt die Küstendouglasie über höhere Werte bezüglich Heterozygotie, allelischer Diversität und Vielfalt. Bezüglich der hypothetisch gametischen Multilocusdiversität jedoch bleiben selbst die Altbestände aus Baden-Württemberg hinter dem Potential der Weißtanne zurück (HUSSENDÖRFER 1997, KONNERT 1992, KONNERT 1993, KONNERT 1994b). Hinsichtlich der Intrapopulationsdifferenzierung übertrifft die Küstendouglasie die Weißtanne ebenso, erreicht aber die Werte, wie sie für die Fichte in Mitteleuropa bekannt sind (BERGMANN 1991b), bei weitem nicht.

¹⁰¹ Achtung: Nicht zu verwechseln mit dem Grundprinzip der Kronenpflege, das eine positive Auslese der verbleibenden Glieder in den Vordergrund stellt. Grundsätzlich ist bei der Kronenpflege das anfallende Spektrum zu entnehmender Glieder (z.B. nach Kraft'schen Klassen) anders als bei der Niederdurchforstung.

Geographische Variation genetischer Parameter

Wie in Kapitel 2.5.3. ausführlich behandelt, sind die absoluten Werte der Variationsparameter kaum direkt vergleichbar, da sie von der Stichprobengröße und dem gewählten Set an Genmarkern beeinflusst sind und darüber hinaus selbstverständlich, in Abhängigkeit von der gewählten Spezies, auch die Art der Stichprobennahme widerspiegeln. Auf der Ebene eines Bestandes oder eines Teilareales bleiben daher widersprüchliche Ergebnisse solange ungeklärt, solange der arealweite Überblick über die Variation einer Art fehlt.

Als LI und ADAMS (1989) die erste arealweite Studie für die Douglasie vorlegten, wurde erstmals die Abstufung der genetischen Variation zwischen den drei Hauptformen der Douglasie beschrieben. Bezogen auf die Küstendouglasie, verfügt die nördlichen Inlandsdouglasie über etwa 91,5 der genetischen Diversität (Parameter H_e , NEI 1973), die südliche Inlandsdouglasie gar nur über 46,7 Prozent. Mit anderen Worten, die nördliche Inlandsdouglasie weist eine doppelt so hohe genetische Diversität auf, wie die südliche Inlandsdouglasie (Tab. 5-22). Wie die Ausführungen von GREGORIUS (1987) zeigen, entspricht das in der vorliegenden Studie verwendete Maß δ_T weitgehend dem Parameter von NEI. Der somit zulässige Vergleich (Tab. 5-22) beider Datensätze erbringt tatsächlich entsprechende Relationen für die Hauptformen der Douglasie. Dies gilt weiter für den Polymorphiegrad P_{95} , wo die nördliche Inlandsdouglasie über etwa 85% (LI & ADAMS 1989) und die südliche Inlandsdouglasie etwa über 49% (LI & ADAMS 1989) der Variation der Küstendouglasie verfügt. Auch für diesen Parameter wurden in der vorliegenden Studie vergleichbare Relationen gefunden (Tab. 5-22). Außerdem beschreiben die amerikanischen Autoren für den Parameter H_e eine geographische Variation innerhalb der Küsten-Douglasien dergestalt, daß die höchsten Werte im westlichen Oregon gefunden wurden, welche sich nur

Tab. 5-22: Vergleich von Wertrelationen genetischer Parameter zwischen den Hauptformen von *Pseudotsuga menziesii*.

Parameter	H_e	δ_T	P95	
	LI & ADAMS 1989	vorliegende Studie	LI & ADAMS 1989	vorliegende Studie
IN / K	91,5	74,4	84,9	76,5
IS / K	46,7	42,8	48,9	43,5
IS / IN	51,0	57,5	57,5	57,4

Erläuterungen: IN - nördliche Inlandsdouglasie, IS - südliche Inlandsdouglasie, K - Küstendouglasie.
Angaben in Prozent.
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

wenig für Washington bzw. Vancouver Island abschwächte. Stärkere Abnahmen der Werte wurden für die Küstenpopulationen in B.C. und in einer zusammengefaßten Gruppe kalifornischer Populationen registriert (LI & ADAMS 1989). Bis auf die Beobachtung für Kalifornien stimmen auch die geographi-

schen Trends beider Studien vollkommen überein, einzig der Schritt eigene Ökotypen innerhalb der Küstendouglasie abzugliedern, wurde von ihnen nicht gewagt. Wie weiter unten gezeigt wird¹⁰², ist die Zusammenfassung der Populationen von der Sierra Nevada mit den übrigen kalifornischen Stichproben nicht zulässig und erklärt weitgehend die in der amerikanischen Studie beobachteten Unterschiede.

LI & ADAMS (1989) konnten ferner klinale Trends für den Parameter H_e in der nördlichen Inlandsdouglasie nachweisen, nachdem sie die Populationen aus dem Gebiet der Blauen Berge in Oregon von der statistischen Analyse ausgeschlossen hatten. Bei der geringen Zahl der verfügbaren Stichproben, war ein solcher Nachweis in der vorliegenden Studie nicht möglich. Die Zwischenstellung zwischen nördlicher Inlandsdouglasie und Küstendouglasie der in der vorliegenden Studie als "Übergangsgruppe" bezeichneten Populationen (vgl. Tab. 5-13) konnte von den amerikanischen Autoren bezüglich H_e ebenfalls bestätigt werden, die in ihrer Studie dort die einzige Übergangszone beschreiben.

Vor dem Hintergrund der Gültigkeit der abgestuften genetischen Variation zwischen den drei Hauptformen der Douglasie, lassen sich die in Tabelle 2-4 aufgeführten Ergebnisse erneut bewerten. Sie liefern eine weitere Bestätigung für die geographische Variation der Parameter, wenn man beispielsweise die hohen Werte der Studien von SHAW & ALLARD (1982a, b), die auf Stichproben vom Grenzgebiet zwischen Washington und Oregon basieren, heranzieht. Auch die aus dem gleichen Labor wie die arealweite Studie stammenden Arbeiten, die auf Stichproben aus dem Gebiet der genetisch hochvariablen zentralen Küstendouglasie fußen (MERKLE & ADAMS 1987, MORAN & ADAMS 1989), zeigen erwartungsgemäß Werte aus dem oberen Bereich der Angaben für die Küstendouglasie nach LI und ADAMS (1989). Ferner liegen auch die Analyseergebnisse einer gemischten Beerntung aus der polnischen Anlage zum IUFRO-Provenienzversuch von 1968, die neben Küstenpopulationen auch einige vom nördlichen Inland enthält, im Bereich der Erwartungen (MEJNARTOWICZ & LEWANDOWSKI 1994).

In einer jüngeren Studie konnte LEINEMANN allerdings diese Abstufung zwischen Küstendouglasie und nördlicher Inlandsdouglasie nicht finden (LEINEMANN 1998, S. 56-58). Neben methodischen Unterschieden (vgl. LEINEMANN 1998, S. 95) muß unter Berücksichtigung der ontogenetischen Dynamik daraus gefolgert werden, daß nicht die geringe Stichprobengröße, sondern eher das fortgeschrittene Alter der von LEINEMANN beprobten Versuchsanlage Gahrenberg zur begrenzten Aussagefähigkeit führte. Nach einem dreistufigen Versuchskonzept waren Versuche mit Parzellenumfängen bis zu 25 Pflanzen nur für eine kurzfristige Beobachtung der jeweils ersten und umfangreichen Versuchsreihe vorgesehen (vgl. KLEINSCHMIT 1974). Die erste Stufe des Provenienzversuches von 1970, zu welcher die Anlage in Gahrenberg gehört, war nur für eine Beobachtungszeit von 20 Jahren ausgelegt und die Schlußfolgerungen aus diesem Experiment führten bereits 1973 zur Ausführung der zweiten Stufe (KLEINSCHMIT et al. 1974, S. 167). Die Beweggründe hierfür waren zunächst statistischer Natur (KLEINSCHMIT 1974). Da in der vorliegenden Studie die Abstufung in der genetischen Variation zwischen beiden Formen der Douglasie sehr wohl nachgewiesen werden konnte, bleibt nur die Schlußfolgerung, daß LEINEMANN (1998) den unfreiwilligen Beweis eines gravierenden Drift-Effektes erbracht hat, der am Ende eines Provenienzversuches auftritt, wenn die Versuchsglieder nurmehr 20 Individuen umfassen. Während alle in der vorliegenden Arbeit verwendeten Proben echte (Unter-)Stichproben aus einer größeren Grundgesamtheit darstellen, mit einer Ausnahme: von der Provenienz K09, mußten alle verbliebenen Individuen des Versuches Steinheim beprobt werden.

Die intraspezifische Abstufung der genetischen Variation der Douglasie ist übrigens kein Einzelfall. Auch für andere nordamerikanische Koniferen ist dies belegt; so etwa für *Pinus contorta* (WHEELER &

¹⁰² vgl. Kap. 5.3.

GURIES 1982), für *Pinus monticola* (STEINHOFF et al. 1983) und *Pinus jeffreyi* (FURNIER & ADAMS 1986). Interessanterweise findet sich bei *Pinus contorta*, welche in weiten Teilen über ein ähnliches Verbreitungsgebiet verfügt wie die Douglasie, auch eine ähnliche Grundstruktur der Variation: Der Parameter H_e zeigt den höchsten Wert entlang der Küste (ssp. *contorta*), nimmt zur Sierra Nevada leicht und zum Inlandsbereich hin (ssp. *latifolia*) stärker ab (WHEELER & GURIES 1982). Anders bei *Pinus monticola*, wo der höchste Wert der totalen genetischen Diversität H_T (NEI 1973) im Süden des Verbreitungsgebietes zu finden ist, nach Norden abnimmt und kleinste Werte im Bereich von Vancouver Island erreicht (STEINHOFF et al. 1983).

5.2.6. **Schlußfolgerungen**

Das hier verwendete Set an Genmarkern sowie die berechneten genetischen Variationsparameter sind offensichtlich geeignet, die Dynamik ontogenetischer Entwicklung von Waldbaumarten sichtbar zu machen. Ferner zeichnen sich für die Douglasie geographische Variationsmuster ab, die eine feinere Untergliederung in mehrere Ökotypen anstelle der bisherigen Grobgliederung von zwei bzw. drei Formen rechtfertigen. Die charakteristische Größenordnungen der hier gewählten Parameter für genetische Vielfalt, Heterozygotie, allelische Diversität oder Intrapopulationsdifferenzierung bleiben beim Anbau außerhalb des natürlichen Areals der Douglasie innerhalb von Schranken ontogenetischer Dynamik erhalten.

Bei der Beurteilung genetischer Variationsparameter sollten generell neben labormethodischen und stichprobentechnischen Hintergründen die komplexen ontogenetischen Vorgänge sowie die geographische Variation Berücksichtigung finden. Bei der Arbeit mit Provenienzversuchen darf die Gefahr von Drift nicht zu gering eingeschätzt werden.

Die baden-württembergischen Douglasien-Altbestände, die zur vorliegenden Studie herangezogen wurden, zeigen eine ausgeprägte genetische Variation, welche im oberen Bereich der erwarteten Werte für Heterozygotie, Diversität und Intrapopulationsdifferenzierung liegen. Die Vielfaltswerte sind der Modellvorstellung einer ontogenetischen Dynamik entsprechend geringer als etwa in Saatgutproben aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie. Für eine Naturverjüngung sollten daher längere Verjüngungszeiträume vorgesehen werden, um über mehrere Saatgutjahre eine möglichst variantenreiche Nachkommenschaft zu erzielen. Von einer natürlichen Verjüngung kleiner und isolierter Bestände wird auf Grund der Gefahr von Drift abgeraten. In den Schwerpunktsgebieten des Douglasienanbaues, etwa im Neckartal oder am Südwestabfall des Schwarzwaldes, ist diese Gefahr als gering einzustufen.

5.3. Abgrenzung von Teilarealen der Douglasie nach allelischen Struktur-Typen

Mit dem Material aus den eigenen Laboruntersuchungen konnte im vorherigen Kapitel gezeigt werden, daß die geographische Variation des gewählten Genmarkersets erheblich feinere intraspezifische Untergliederungen bei *Pseudotsuga menziesii* zuläßt, als bisher angenommen. Diese Eigenschaften können, innerhalb eines durch ontogenetische Dynamik vorgegebenen Rahmens, auch beim Anbau außerhalb des natürlichen Areals nachgewiesen werden. Ferner wurde die Übereinstimmung der beobachteten Variation mit der arealweiten Studie von LI & ADAMS (1989) festgestellt. Allelische Strukturen bilden die Grundmatrix, aus welcher die Evolution schöpft. Genotypische Strukturen hingegen sind die Objekte, an welchem die Werkzeuge "Selektion" und "Reproduktion" arbeiten. Die Bearbeitung der letztgenannten Problematik würde an dieser Stelle zu weit führen. Es erhebt sich vielmehr die Frage, welche allelischen Strukturtypen sind für diese Variation verantwortlich? Ihr soll im folgenden Kapitel nachgegangen werden.

5.3.1. Beobachtete Allelische Strukturen: Ergebnis und Diskussion

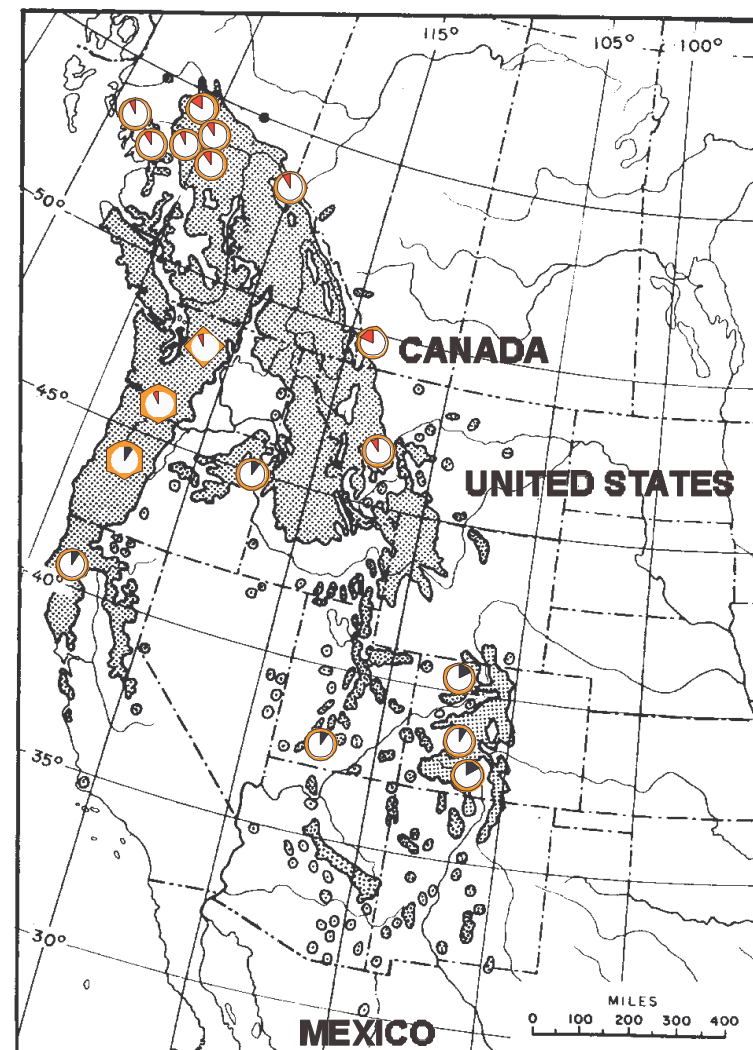
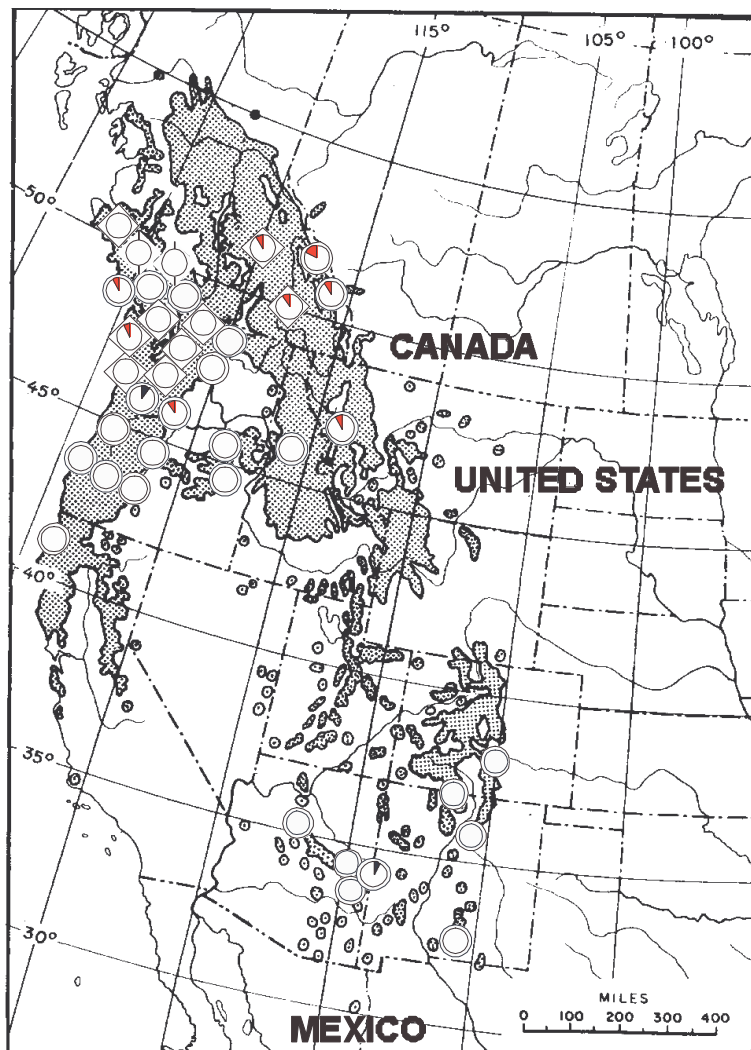
Nachfolgend werden Genlocus für Genlocus die allelischen Strukturen aus Handelssaatgut, aus baden-württembergischen Versuchsanbauten sowie aus der arealweiten Studie von LI & ADAMS (1989) untereinander verglichen. Aus dem Datenmaterial der amerikanischen Kollegen konnten insgesamt 10 verschiedene Gruppierungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit gebildet werden. In Erweiterung der Eingangsbemerkung zu Kapitel 5.2. werden nun die drei übrigen Gruppierungen vorgestellt: Die Douglasienvorkommen an der Küste des Queen-Charlotte-Sound in Kanada (QC) sowie von der Sierra Nevada (SR) werden als eigene Gruppen unterschieden. Als vorläufiger Sonderfall wird die Ostabdachung der Kaskaden-Nordausläufer (NA) geführt.

Liegen mehrere Stichproben aus einem Teilareal vor, so kann man die Gesamtheit der Stichproben als stratifizierte Stichprobe zusammenfassen und mit dem gebildeten Mittelwert eine für den jeweiligen Ökotyp charakteristische, mittlere allelische Struktur ermitteln. Eine solche mittlere allelische Struktur wird im folgenden Referenzstruktur eines Ökotyps genannt. Die Standardabweichung gibt Auskunft über die Streuung der Daten. Die Frage, ob die Unterschiede der Mittelwerte zwischen den jeweiligen Referenzstrukturen zufälliger Natur sind, wurde mit dem U-Test nach Mann-Whitney (Programm SPSS)¹⁰³ am Beispiel der jeweils häufigen Allele geprüft.

5.3.1.1. Allelische Strukturen an den Genloci des Enzymsystemes GOT

Wie die Tabelle A.II-4a im Anhang zeigt, ist der Genort **GOT-A** weitgehend auf das Allel A2 fixiert. Sehr seltene Allele treten offensichtlich arealspezifisch auf: das Allel A1 im Norden des Verbreitungsgebietes sowie das Allel A3 im Süden bzw. am Unterlauf des Columbia-Flusses (S16) bei etwa 46° n.B. Auffallend ist die Häufigkeit von A1 in der Probe S10 vom Kootenay-Tal in British Columbia

¹⁰³ vgl. Kap.3.2.2.



Quellen:  Höppner de Rizo 1991  Li & Adams 1989  Shaw and Allard 1982

Abb. 5-31: Arealpezifität seltener Allele am Genort GOT-A in den Proben:

- a) links: aus Handelssaatgut (Hintergrund: Kreise) sowie aus Versuchsanbauten (Hintergrund: Rauten)
- b) rechts: in Datensätzen aus unterschiedlichen Publikationen (s.o.)

(Abb. 5-31a). Nimmt man die Ergebnisse von LI & ADAMS (1989), so findet man ebenfalls das Allel A3 über den Süden des Verbreitungsgebietes gestreut und das Allel A1 über den Norden (Abb. 5-31b). Interessant ist zum einen das Auftreten des Alleles A3 in den Blauen Bergen von Oregon, aber zum anderen auch das in der Stichprobe S16 aus Handelssaatgut nördlich des Columbia. Dieser Fluß muß in seinem Unterlauf als Hindernis einer Ausbreitung betrachtet werden, genauso wie die Snake River Plains im Süden von Idaho. Nun kann eine große Häufigkeit eines Alleles in einer unbekanntem Stichprobe selbstverständlich durch das Beernten entsprechend weniger Mutterbäume bzw. durch die Realisierung bestimmter Paarungssysteme herbeigeführt werden. Nimmt man jedoch gleichzeitig eine lokale Konzentration von Stichproben war, die dieses sehr seltene Allel enthalten, so läßt sich daraus unweigerlich ein häufigeres Vorkommen des Alleles in dem jeweiligen Gebiet folgern. Eine derartige Konzentration von A1 findet sich offensichtlich im Norden des Verbreitungsgebietes am Queen Charlotte Sound und im Seengebiet des Interior Plateau, aber auch entlang des Rocky Mountain Grabens im Osten von B.C. Der Verbreitungsschwerpunkt für das Allel A3 liegt in den Rocky Mountains in Colorado (Abb. 5-31b).

Aus den Datensätzen allelischer Strukturen des Handelssaatgutes, der Versuchsanbauten, sowie aus den Daten der amerikanischen Kollegen wurden mittlere allelische Strukturen, die Referenzstrukturen, für die ausgeschiedenen Populationsgruppierungen (Ökotypen) gebildet. Wie die Tabelle 5-23 zeigt, stimmen die Referenzstrukturen aus den drei Datensätzen relativ miteinander überein. Stellenweise werden Unterschiede im Umfang der Stichproben deutlich, etwa im Bereich des Übergangsbereiches in Oregon oder im nördlichen Inland. Schließlich umfaßt die Gesamtheit der Proben aus Handelssaatgut etwa $\frac{1}{4}$ der Zahl, welche für die amerikanische Studie verwendet wurden. Bei den Versuchsanbauten sind es nur 10%. Am Genort GOT-A treten die beide seltenen Allele folglich mit Häufigkeiten von 0,2 bis 0,3 Prozent in den Küstenformen auf, in den Inlandsformen verfügen sie über durchschnittlich 1,4%. Einzig die Gruppe vom Queen Charlotte Sound fällt durch eine größere Häufigkeit des Alleles A1 auf (Tab. 5-23).

A1 wird selten in Stichproben der nördlichen Küstendouglasie bzw. in der Campbell-Gruppe gefunden. LI & ADAMS (1989) fanden es dort ebensowenig wie YEH & O'MALLEY (1980) in Proben der Küstendouglasie aus British Columbia, trotz großer Stichproben. HÖPPNER DE RIZO (1991) konnte es bei ihrer umfangreichen Untersuchung an der Provenienz Darrington in einer niedersächsischen Versuchsanlage finden. HOFFMANN (1994) findet das Allel A1 in einer mittleren Häufigkeit von 1,8% im nördlichen Areal der Douglasie. Aufschluß gibt hier die Studie von SHAW & ALLARD (1982b). Beide Wissenschaftler untersuchten mehr als jeweils 1000 Samen (100 Mutterbäume) von zwei Standorten. Sie fanden mit 1% Häufigkeit das Allel A3 am Standort Springfield in Oregon. Ein weiteres Allel, als Nullallel (?) bezeichnet, fand sich mit einer Häufigkeit von unter 1%. Damit sind sowohl die theoretischen Überlegungen von GREGORIUS (1980) als auch die hier vorgenommene Bildung von Referenzstrukturen bestätigt. LEINEMANN fand das Allel A1 hauptsächlich im Osten von British Columbia (LEINEMANN 1998), allerdings in ungewöhnlichen Häufigkeiten. In der Provenienz Skykomish (USA Saatgutzone 411) fand er außerdem das Allel A3 ungewöhnlich weit nördlich und in überraschend hoher Häufigkeit. Die vor dem Hintergrund des Literaturvergleiches ungewöhnlichen Werte liefern einen weiteren Beweis für den in Kap. 5.2.5. erhobenen Verdacht schwerer Drift-Effekte im systematisch durchforsteten Provenienzversuch Gahrenberg, aus welchem die Proben für besagte Arbeit gewonnen wurden.

Daraus kann geschlossen werden, daß am Genort GOT-A zwei arealspezifische Allele auftreten, wobei A1 für das nördliche Vorkommen der Art und A3 für das südliche Vorkommen der Art charakteristisch ist. Im Bereich der Küstendouglasie kommen beide Allele sehr selten vor. Aus dem unterschiedlichen

Tab. 5-23: Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes GOT

Ökotyp	Genorte												
	GOT-A			GOT-B				GOT-C				X [#]	
	1	2	3	1	2	3	4	2	3	4	5		
<u>IN</u>	a)	.059 (.050)	.941 (.050)		.063 (.036)	.030 (.034)	.878 (.048)	.030 (.034)	.004 (.006)		.996 (.006)		
	b)	.018 (.001)	.982 (.001)			1.0		.036 (.028)		.955 (.040)	.009 (.013)		
L+A '89		.014 (.035)	.986 (.035)			.037 (.080)	.945 (.085)	.017 (.028)	.018 (.038)		.979 (.041)	.003 (.010)	
<u>IS</u>	a)		.999 (.004)	.001 (.004)	.008 (.011)	.066 (.054)	.926 (.052)			.001 (.004)	.904 (.044)	.095 (.044)	
L+A '89			.986 (.037)	.014 (.037)		.026 (.042)	.972 (.042)	.002 (.007)	.002 (.007)		.927 (.015)	.071 (.124)	
<u>Ü</u>	a)		1,0			.022 (.030)	.944 (.056)	.033 (.058)	.007 (.006)		.993 (.006)		
L+A '89			.986 (.038)	.014 (.038)		.018 (.037)	.950 (.072)	.032 (.043)	.011 (.020)		.962 (.040)	.010 (.028)	.017 (.030)
<u>SR</u>													
L+A '89			1,0			1,0					1,0		
<u>KS</u>													
L+A '89			.998 (.007)	.002 (.007)		.066 (.042)	.923 (.035)	.011 (.013)	.031 (.022)		.963 (.023)	.005 (.015)	.002 (.007)
<u>KM</u>	a)		1,0		.029 (.026)	.080 (.049)	.849 (.060)	.042 (.015)	.058 (.023)	.004 (.010)	.911 (.042)	.024 (.023)	.002 (.005)
L+A '89			1,0			.093 (.032)	.847 (.059)	.060 (.046)	.061 (.039)		.913 (.046)	.026 (.025)	
<u>KN</u>	a)	.003 (.005)	.996 (.006)	.001 (.004)	.011 (.011)	.073 (.036)	.884 (.043)	.032 (.016)	.051 (.035)		.938 (.042)	.011 (.013)	
	b)	.005 (.013)	.995 (.013)		.100 (.045)	.008 (.020)	.861 (.061)	.055 (.056)	.044 (.036)		.942 (.052)	.015 (.018)	
L+A '89			1,0			.071 (.068)	.924 (.072)	.004 (.010)	.041 (.060)		.947 (.063)	.004 (.010)	.007 (.024)

Tab. 5-23 (Forts.): Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes GOT

Ökotyp	Genorte										
	GOT-A			GOT-B				GOT-C			
	1	2	3	1	2	3	4	2	3	4	5
CB b)	1,0			.128 (.149)	.078 (.135)	.794 (.136)		.011 (.019)		.978 (.019)	.011 (.019)
L+A '89	1,0			.138 (.094)	.848 (.092)	.014 (.027)		.019 (.026)		.966 (.051)	.015 (.026)
QC											
L+A '89	.033 (.028)	.967 (.028)		.096 (.144)	.896 (.137)			.024 (.024)		.968 (.036)	.008 (.014)
NA											
L+A '89	1,0			.190	.848			.024		.976	

Erläuterungen: a) Handelssaatgut

b) bad.-württ. Versuchsanbauten

L+A '88: aus Datensatz von LI & ADAMS (1989) berechnet.

Daten gepoolt (Grundlage: pers. Mitt. Li 1989) aus C1 (KS: Nr. 6) bzw.

C2' (Ü: Nr. 24, 25 und KN Nr. 35); C-Null für KM / Saatgut.

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Aufteten in den Stichproben S16 und S17 kann eine aktuelle Introgressionszone von A3 im Bereich des 46° n.B. vermutet werden, welche eventuell weiter nach Norden ausstrahlt.

Die Genorte GOT-B und GOT-C verfügen über Minorpolymorphismen, unter Beteiligung weiterer drei bzw. fünf Allele. Am Genort **GOT-B** erreicht das Allel B2 größere Häufigkeiten im Bereich der zentralen Küstendouglasie sowie in den Referenzstrukturen der Ökotypen vom Queen Charlotte Sound, der Campbell-Gruppe und dem zentralen Küstenvorkommen. B3 erreicht die größten Werte in den Ökotypen des Inlandes sowie in der Referenzstruktur für die Blauen Berge in Oregon. In der Sierra Nevada findet sich der Genort auf das Allel B3 fixiert. Damit schwankt der Wert für B3 letztlich um bis zu 15% und kommt so als Baustein für einen Referenzvektor in Frage. Vergleicht man die Mittelwerte des häufigsten Alleles B3 für die einzelnen Ökotypen (Tab. A.II-10) untereinander auf der Basis des großen Datensatzes von LI & ADAMS (1989), so ergeben sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppierungen des Inlandes und denen des Küstenvorkommens. Die Unterschiede innerhalb der Inlandsgruppierungen sind nicht signifikant. Innerhalb des Küstenbereiches nehmen das zentrale Küstenvorkommen sowie die Campbell-Gruppe eine besondere Stellung ein, sie unterscheiden sich signifikant von den anderen Ökotypen, nicht jedoch untereinander bzw. zu dem Vorkommen im Queen Charlotte Sound (A.II-10). Das letztgenannte Vorkommen fällt dadurch auf, daß es sich nicht signifikant von allen übrigen Vorkommen unterscheidet. Ebenfalls bemerkenswert ist die Tatsache, daß der Sierra Nevada-

Ökotyp sich von den anderen Gruppierungen nicht signifikant unterscheidet mit Ausnahme des zentralen Küstenvorkommens und der Campbell-Gruppe.

Vergleicht man die Ergebnisse aus den Versuchsanbauten mit denen aus Handelssaatgut für die Ökotypen "Inland-Nord" und "Küste-Nord" ebenfalls am häufigen Allel GOT-B3 (vgl. Tab. 5-23), so ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Bei Anwendung identischer Labormethoden lassen sich folglich reproduzierbare Ergebnisse auch in unterschiedlichen Lebensabschnitten der Untersuchungspopulationen erzeugen.

Wie in Kapitel 5.1. ausgeführt, bestehen nur geringe Unterschiede in den Labormethoden zur Analyse des Enzymsystemes GOT zwischen dem Labor in Corvallis und den eigenen Untersuchungen. Da das entsprechende Laborprotokoll¹⁰⁴ für die Interpretation vorliegt, kann eindeutig festgehalten werden, daß das Allel GOT-B1 von LI nicht unterschieden wurde. Absolute Unterschiede in den Referenzstrukturen treten dann auf, wenn in der vorliegenden Arbeit die seltenen Allele B1 und B4 in größerem Ausmaß in den Stichproben gefunden werden (Tab. 5-23). Die statistische Überprüfung mittels U-Test ergab jedoch auch in solchen Fällen keine signifikanten Unterschiede für die Frequenzen des häufigen Alleles B3 mit Ausnahme des Ökotypes "Inland-Süd" (Tab. 5-24). Offensichtlich wirkt sich der unterschiedliche geographische Schwerpunkt in der Probenahme (vgl. Abb. 5-31 und A.I-1) beider Untersuchungen für diese Region aus! Schließlich ergaben bereits die Studien an metrischen Merkmalen (WRIGHT et al.

Tab. 5-24: Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles B3 am Genort GOT-B zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis

Versuchs- anbauten	Ökotypen#:						
	IN	IS	Ü		KM	KN	CB
IN	n.s.						
KN						n.s.	
CB							n.s.
Handels- saatgut							
IN	n.s.						
IS		0,06					
Ü			n.s.				
KM					n.s.		
KN						n.s.	

Erläuterungen: # aus Originaldaten von Li & Adams (1989) berechnet (vgl. Tab. 5-23).

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

¹⁰⁴ Peng Li, pers. Mitteilung, November 1989.

1971) überraschend deutliche Unterschiede zwischen Populationen aus Arizona bzw. New Mexiko und dem restlichen Gebiet der südlichen Inlandsdouglasie. In den Proben aus Handelssaatgut überwiegen erstere, während sie in der Studie von LI & ADAMS (1989) nur etwa ein Drittel der südlichen Inlandsgruppe ausmachen. Daraus kann ein Hinweis auf weitere Untergliederungsmöglichkeiten innerhalb der Formen der Inlandsdouglasie abgeleitet werden. Eine systematische Untersuchung der bisher vernachlässigten südlichen Inlandsform der Douglasie wäre wünschenswert.

Vergleicht man die gefundenen Referenzstrukturen mit publizierten Daten allelischer Strukturen unter Berücksichtigung der in der vorliegenden Arbeit vorgenommenen Arealuntergliederung, so ergeben sich dann die erwarteten Übereinstimmungen, wenn Stichprobengröße und Labormethoden vergleichbar sind. Beispiele hierfür sind die Arbeiten von YEH & O'MALLEY (1980) und HÖPPNER DE RIZO (1992). Damit erweist sich das häufige Allel B3 als robuster Baustein für den Aufbau eines Referenzvektors.

Am Genort **GOT-C** finden sich nur sehr geringe Unterschiede in den Häufigkeiten des Häufigsten Alleles C4. Gering fixiert bzw. fixiert zeigen sich die Ökotypen des nördlichen Inlandes und der unmittelbar benachbarten Gebiete. Die südliche Inlandsdouglasie sowie die zentrale Küstendouglasie fallen durch eine größere Zahl an Allelen und geringe Häufigkeiten von C4 auf. Im Süden des Douglasienareals ist nur der Sierra Nevada Ökotyp auch an diesem Genort fixiert. Insgesamt schwanken die Werte des häufigen Alleles zwischen den Ökotypen um weniger als 10%. Der Genort GOT-C kommt daher als Baustein für einen Referenzvektor nicht in Frage, obwohl sich die gefundenen Referenzstrukturen besonders im Bereich der Küstendouglasie in den unterschiedlichen Untersuchungen eindrucksvoll bestätigen (Tab. 5-23).

5.3.1.2. Allelische Strukturen am Genlocus des Enzymsystemes IDH

Die Tabelle 5-25 legt einen Interpretationsunterschied bei den Zymogrammen offen: während im eigenen Material das Allel Nr. 2 nicht gefunden wurde, wird es von LI als das zweithäufige gefunden. LI hat zwar ebenfalls neun Allele unterschieden, bei der Dateneingabe für die Computerrechnungen jedoch nur fünf berücksichtigt¹⁰⁵. Durch die weitere Auftrennung des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Trennpuffersystemes¹⁰⁶, wurde Allozym Nr. 3 als das zweithäufige gefunden. Die Größenordnungen der Häufigkeiten von Allozym Nr. 3 und Nr.2 (LI & ADAMS 1989) entsprechen sich in den jeweiligen Referenzstrukturen weitgehend (Tab. 5-25). Bei den Allelen Nr.4 und 8 lassen sich Teilareale finden, wo diese sehr selten sind (z.B. Inland-Nord, Inland-Süd) während im Bereich der Küstendouglasie übereinstimmende Häufigkeiten in den Referenzstrukturen auf reale Frequenzen von 0,7-3% schließen lassen (Tab. 5-25). Insgesamt wird das häufige Allel IDH-5 jedoch in beiden Studien hierdurch in vergleichbaren Dimensionen beschrieben. Daher finden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Referenzstrukturen aus den eigenen Arbeiten mit denen aus Corvallis (Tab. 5-26). Auf Grund der gefundenen Unterschiede zwischen den Ökotypen von bis zu 20% erscheint auch dieses Allozym als Baustein für einen Referenzvektor geeignet. Diese Unterschiede sind weitgehend statistisch signifikant (Tab. A.II-11). Auffallend ist am Genort IDH, daß sich die Übergangsgruppe aus den blauen Bergen in

¹⁰⁵ Peng Li, pers. Mitteilung, November 1989.

¹⁰⁶ vgl. Kap. 5.1.2.

Tab. 5-25: Referenzstrukturen für den Genort IDH

Ökotyp	Genort IDH								
	1	2	3	4	5	6	7	8	N
<u>IN</u> a)			.007 (.013)		.982 (.017)			.004 (.006)	.007 (.013)
	b)		.019 (.026)		.982 (.026)				
L+A '89		.018 (.032)		.003 (.013)	.979 (.035)				
<u>IS</u> a)			.007 (.012)		.993 (.012)				
	L+A '89		.003 (.008)		.002 (.006)	.994 (.015)		.001 (.005)	
<u>Ü</u> a)			.015 (.017)		.985 (.017)				
	L+A '89		.042 (.037)		.004 (.009)	.954 (.042)			
<u>SR</u>									
L+A '89		.062 (.025)			.938 (.025)				
<u>KS</u>									
L+A '89		.122 (.061)		.016 (.029)	.855 (.071)			.007 (.012)	
<u>KM</u> a)			.180 (.063)	.011 (.011)	.782 (.059)		.009 (.005)	.015 (.013)	.002 (.005)
	L+A '89		.224 (.066)	.013 (.014)	.751 (.051)			.013 (.031)	
<u>KN</u> a)		.002 (.004)	.117 (.052)	.009 (.016)	.836 (.067)	.002 (.004)	.002 (.004)	.032 (.037)	
	b)		.124 (.046)	.006 (.013)	.843 (.069)		.003 (.007)	.025 (.039)	
L+A '89		.084 (.096)		.007 (.016)	.887 (.098)			.022 (.036)	

Tab. 5-25 (Forts.): Referenzstrukturen für den Genort IDH

Ökotyp	Genort IDH								
	1	2	3	4	5	6	7	8	N
CB b)			.072 (.042)		.855 (.084)			.072 (063)	
L+A '89		.043 (.043)		.025 (.029)	.894 (.100)			.037 (.049)	
QC									
L+A '89		.008 (.014)			.992 (.144)				
NA									
L+A '89		.071			.929				

Erläuterungen: a) Handelssaatgut
 b) bad.-württ. Versuchsanbauten
 L+A '88: aus Datensatz von LI & ADAMS (1989) berechnet.
 Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Oregon nicht von den nördlichen Ökotypen der Küstendouglasie KN, CB, QC und nicht von dem Sierra-Nevada Ökotyp unterscheidet (Tab. A.II-11), sehr wohl jedoch von ihren unmittelbaren Nachbarn KM und KS! Ebenso wenig unterscheidet sich der Ökotyp vom Queen Charlotte Sound von den Inlandsformen oder von der Campbell-Gruppe. Die südliche Küstendouglasie läßt sich mittels IDH-5 nicht von der Sierra Nevada Gruppe unterscheiden oder von der nördlichen Küstendouglasie bzw. der Campbell-Gruppe. Der Ökotyp vom zentralen Küstenbereich hingegen unterscheidet sich signifikant von allen anderen Ökotypen (Tab. A.II-11). Tatsächlich verfügt der letztgenannte Ökotyp über eine Vielzahl seltener Allele in nennenswertem Ausmaß (Tab. 5-25), was die Tauglichkeit des Herausgreifens des häufigsten Alleles als Indikator für Vielfalt bei Minorpolymorphismen unterstreicht.

Vergleicht man die Ergebnisse aus den Versuchsanbauten mit denen aus Handelssaatgut für die Ökotypen "Inland-Nord" und "Küste-Nord" am häufigen Allozym IDH-5 (vgl. Tab. 5-25), so ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Bei Anwendung identischer Labormethoden lassen sich folglich, wie schon bei den Genorten des Enzymsystems GOT, reproduzierbare Ergebnisse in unterschiedlichen Lebensabschnitten der Untersuchungspopulationen erzeugen.

Der Genort IDH zeigt einen Minorpolymorphismus, wobei in den beiden nördlichen Ökotypen nahezu eine Fixierung auf das Allel Nr. 5 vorliegt. Die Referenzstruktur aus dem zentralen Küstenvorkommen zeigt die größte Anzahl an Allelen mit Häufigkeiten über 1% sowie den niedrigsten Wert für die Fre-

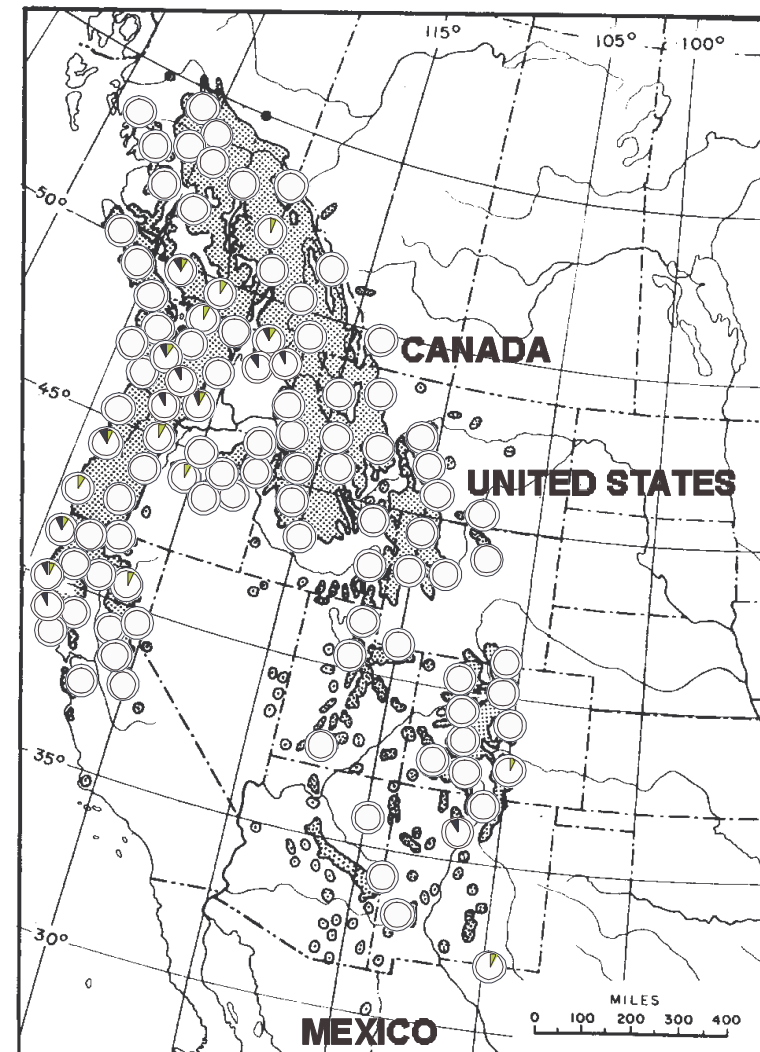
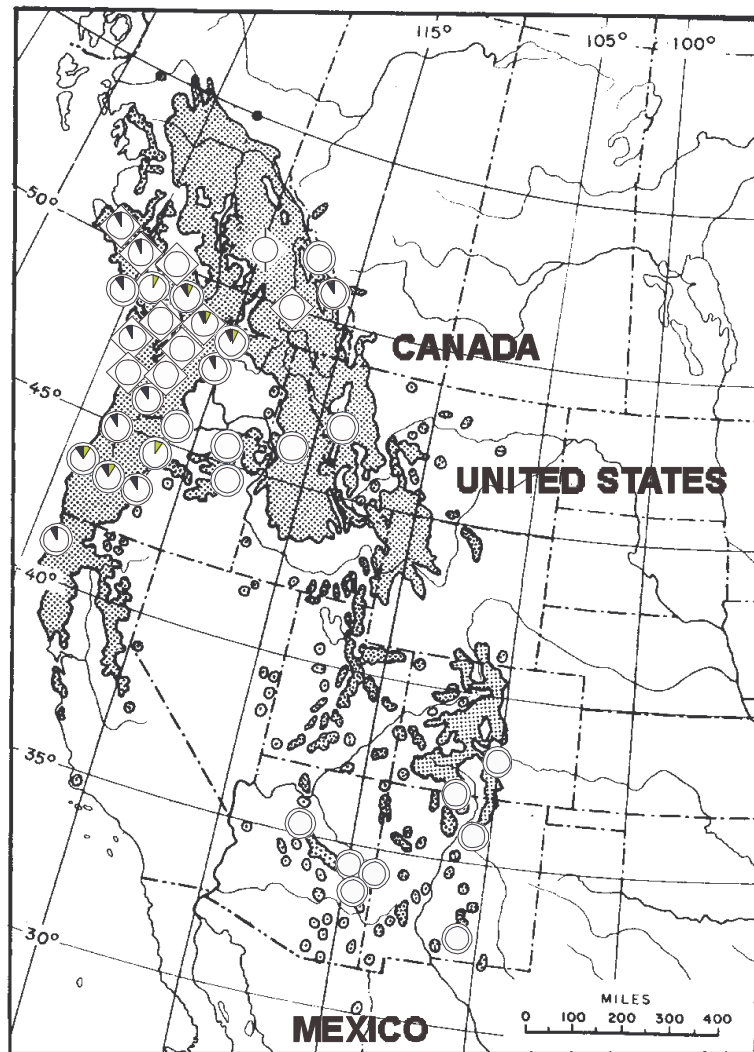


Abb. 5-32: Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort IDH: Vorkommen und Häufigkeiten der Allele Nr. 3 (schwarz) und Nr. 8 (grün)

- a) links: aus Handelssaatgut (Hintergrund: Kreise) sowie aus Versuchsanbauten (Hintergrund: Rauten)
- b) rechts: im Datensatz von Li & Adams (1989)

Tab. 5-26: Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigsten Alleles Nr. 5 am Genort IDH zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis

Versuchs- anbauten	Ökotypen [#] :						
	IN	IS	Ü		KM	KN	CB
IN	n.s.						
KN						n.s.	
CB							n.s.
Handels- saatgut							
IN	n.s.						
IS		n.s.					
Ü			n.s.				
KM					n.s.		
KN						n.s.	

Erläuterungen: # aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989) berechnet (vgl. Tab. 5-23).
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

quenz des Alleles Nr. 5. Erneut lassen sich für technisch vergleichbare Studien (z.B. YEH & O'MALLEY 1980, HÖPPNER DE RIZO 1991, HOFFMANN¹⁰⁷ 1994) auch vergleichbare Referenzstrukturen ableiten.

Wie die Abbildung 5-32 verdeutlicht, kommen die Allele Nr. 3 (bzw. Nr. 2 LI, s.o.) und Nr. 8 hauptsächlich im Küstenbereich vor und dort oft in Stichproben aus Oregon bzw. von der Campbell-Gruppe. Einzelne Funde in den Inlandsformen bzw. der Übergangsgruppe deuten auf ein äußerst seltenes Vorkommen im östlichen Teilareal der Douglasie hin (vgl. auch Tab. 5-25).

5.3.1.3. Allelische Strukturen an den Genloci des Enzymsystemes AMP

Die Tabelle 5-27 zeigt Referenzstrukturen für die Ökotypen der Douglasie an den Genorten AMP-A (resp. LAP-A) und AMP-C (resp. LAP-B) aus den jeweiligen Datensätzen. Wie bereits mehrfach erwähnt, können Nullallele im von Li & Adams praktizierten Analyseverfahren nicht ausreichend erfaßt werden (LI & ADAMS 1989), was im Falle von AMP-A nicht ohne leichte Auswirkungen bleibt. Während bei AMP-C die Standardabweichungen im gewöhnlichen Rahmen bleiben, finden sich bei den häufigen Allelen A1, A2 und A3 teilweise überraschend hohe Werte. Im direkten Vergleich zwischen den Datensätzen aus Handelssaatgut und Versuchsanbauten, scheint kein eindeutiger Trend ersichtlich, während die Daten der amerikanischen Kollegen durchwegs stärker streuen. Dies ist einerseits mit der

¹⁰⁷ Trennsystem: Morpholin-Citrat pH 8,1; → beachte Kap. 5.1.2.

Tab. 5-27: Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes AMP

Ökotyp	Genorte										
	AMP-A					AMP-C					
	1	2	3	4	Null	1	2	3	4	5	Null
<u>IN</u>	a)	.100 (.062)	.782 (.138)	.089 (.068)		.029 (.025)	.004 (.006)	.030 (.042)	.937 (.063)	.018 (.023)	.011 (.019)
	b)	.175 (.011)	.782 (.021)	.044 (.009)				.112 (.054)	.828 (.086)	.060 (.033)	
L+A '89		.105 (.076)	.811 (.144)	.083 (.087)							
<u>IS</u>	a)		.979 (.024)	.001 (.004)		.020 (.023)	.001 (.004)	.004 (.08)	.993 (.012)		.001 (.004)
	L+A '89	.008 (.021)	.990 (.023)	.001 (.005)							
<u>Ü</u>	a)	.074 (.051)	.033 (.029)	.697 (.122)	.055 (.059)	.141 (.082)	.004 (.006)	.004 (.006)	.863 (.074)	.122 (.067)	.007 (.013)
	L+A '89	.318 (.146)	.358 (.132)	.324 (.232)							
<u>SR</u>											
L+A '89	.297 (.086)	.275 (.093)	.316 (.093)								
<u>KS</u>											
L+A '89	.419 (.163)	.306 (.128)	.295 (.130)								
<u>KM</u>	a)	.378 (.108)	.275 (.064)	.293 (.034)		.053 (.049)	.015 (.006)	.062 (.041)	.907 (.058)	.015 (.013)	
	L+A '89	.535 (.059)	.241 (.084)	.225 (.103)							
<u>KN</u>	a)	.364 (.092)	.203 (.039)	.384 (.102)	.019 (.027)	.030 (.014)	.021 (.024)	.054 (.019)	.889 (.033)	.030 (.019)	.005 (.006)
	b)	.387 (.111)	.272 (.100)	.265 (.170)	.072 (.041)	.005 (.011)	.037 (.024)	.075 (.067)	.850 (.060)	.033 (.019)	.005 (.013)
	L+A '89	.284 (.103)	.356 (.220)	.360 (.181)							

Tab. 5-27 (Forts.): Referenzstrukturen für die Genorte des Enzymsystemes AMP

Ökotyp	Genorte										
	AMP-A					AMP-C					
	1	2	3	4	Null	1	2	3	4	5	Null
CB b)	.389 (.070)	.116 (.029)	.395 (.125)	.100 (.120)		.022 (.039)	.094 (.051)	.833 (.044)	.050 (.050)		
L+A '89	.338 (.170)	.081 (.051)	.581 (.187)								
QC											
L+A '89	.258 (.095)	.629 (.084)	.113 (.016)								
NA											
L+A '89	.310	.619	.017								

Erläuterungen: a) Handelssaatgut

b) bad.-württ. Versuchsanbauten

L+A '88: aus Datensatz von LI & ADAMS (1989) berechnet.

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Schwierigkeit der Zymogramminterpretation zu erklären (vgl. Kap. 5.1.3) andererseits auf die wechselnde Bedeutung der Allele zurückzuführen. So nimmt Allel A2 im Inland den wichtigsten Platz in minorpolymorphen Strukturen ein, während es im Küstenbereich von drei Trägern eines Majorpolymorphismus teilweise den kleinsten Rang einnimmt (Tab. 5-27). Der labortechnische Nachweis derart areal-spezifischer Strukturen wird durch Einsatz von Vergleichsmarkern erleichtert, wie er hier vorgenommen wurde. Schließlich und letztlich sind majorpolymorphe Strukturen mit drei teilweise gleichhäufigen Allelen erheblich empfindlicher, was die freie Kombination der Gene während der sexuellen Reproduktion anbelangt. Welche Schwankungen hierbei in der Fitness einzelner Glieder der Population auftreten können, haben die Arbeiten von MÜLLER-STARCK (1985) am Beispiel von Kiefern-Samenplantagen oder Untersuchungen an Fichtennachkommenschaften (GREGORIUS et al. 1984) eindrucksvoll demonstriert.

Drei Allele des Genortes AMP-A weisen arealweite Frequenzunterschiede von mehr als 35 Prozentpunkten auf und kommen daher grundsätzlich als Baustein für einen Referenzvektor in Frage. Allerdings werden sowohl Allel A1 als auch A3 im Inland mit Häufigkeiten unter 10%, teilweise sogar unter 1% beobachtet, was für eine sichere Bestimmung hohe Stichprobengrößen erfordern würde. Hingegen wird das Allel A2 selten in Häufigkeiten unter 10% beobachtet (Beispiel: Übergangsgruppe; Tab. 5-27) und eignet sich daher für den genannten Zweck. Auch LEINEMANN (1998) hat dieses Allel¹⁰⁸ im Rahmen seiner Studien zum Aufbau von Referenzvektoren herangezogen.

¹⁰⁸ Dort als LAP-A4 bezeichnet (LEINEMANN 1998, S. 44); zur Problematik der von LEINEMANN (1998, S. 30 ff.) unterschiedenen "schnellen Varianten" vgl. aber Kap. 5.3.1 der vorliegenden Arbeit, bzw. ADAMS et al. 1990.

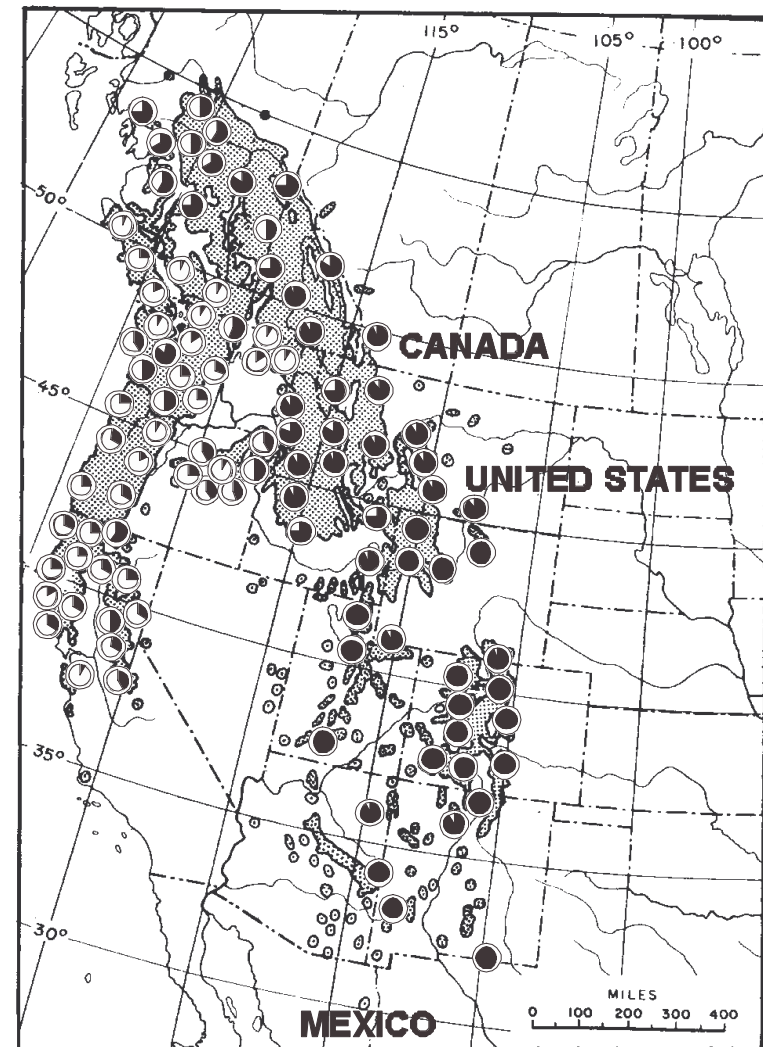
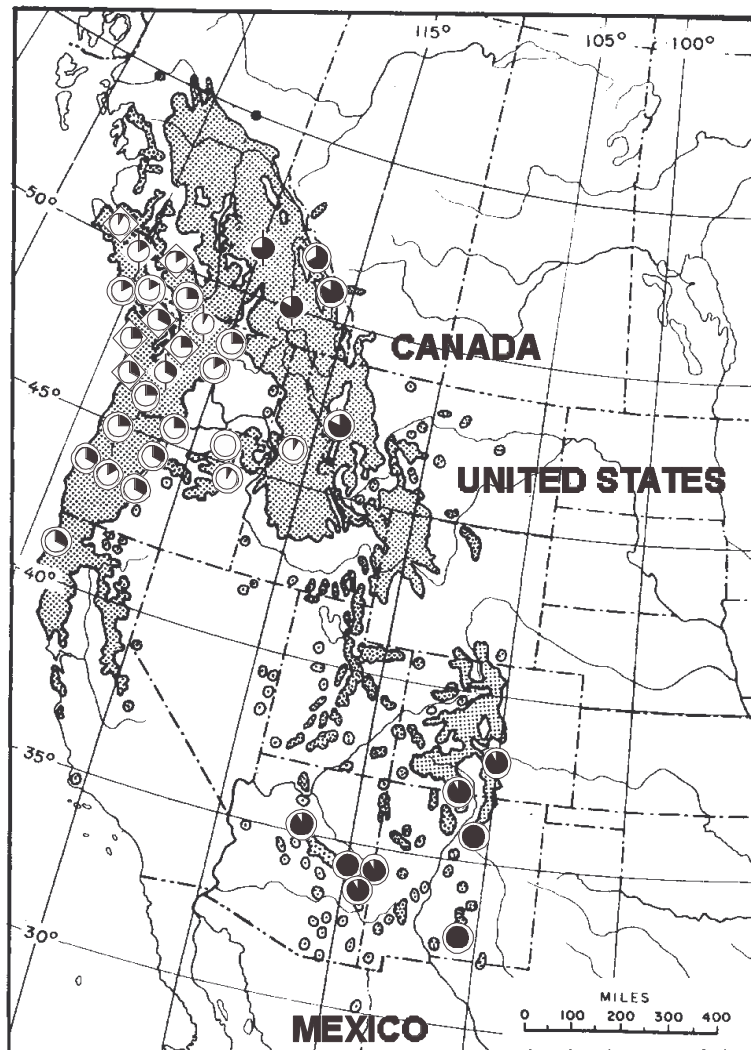


Abb. 5-33: Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort AMP-A: Vorkommen und Häufigkeiten des Alleles A2.

- a) links: aus Handelssaatgut (Hintergrund: Kreise) sowie aus Versuchsanbauten (Hintergrund: Rauten)
- b) rechts: im Datensatz von Li & Adams (1989)

Tab. 5-28: Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigen Alleles A2 am Genort AMP-A zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis

Versuchs- anbauten	Ökotypen#:						
	IN	IS	Ü		KM	KN	CB
IN	n.s.						
KN						n.s.	
CB							n.s.
Handels- saatgut							
IN	n.s.						
IS		n.s.					
Ü			,017				
KM					n.s.		
KN						n.s.	

Erläuterungen: # aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989) berechnet (vgl. Tab. 5-23).

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Wie die Tabelle 5-27 zeigt, entsprechen sich die gefundenen Referenzstrukturen der einzelnen Datensätze trotz der oben angesprochenen technischen Rahmenbedingungen relativ gut. Eine Überprüfung der Mittelwerte von A2 für die einzelnen Ökotypen ergibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Datensätzen aus Handelssaatgut und Versuchsanbauten, ebensowenig wie zwischen den eigenen Datensätzen und demjenigen aus Corvallis (Tab. 5-28). Eine Ausnahme bildet die Referenzstruktur für das Gebiet der Blauen Berge in Oregon (Tab. 5-27, 5-28), wo die nicht unerhebliche Abweichung mit der, gegenüber dem amerikanischen Datensatz, kleinen Stichprobenzahl erklärt werden kann.

Erneut erweist sich die Wahl des arealweit verbreiteten Alleles als geeigneter Indikator, der zu signifikant unterschiedlichen Kennwerten zwischen den Inlandsformen der Douglasie und den Ökotypen des Küstengebietes führt (Tab. A.II-12). Es gestattet außerdem, die Ökotypen der Campbell-Gruppe sowie die aus dem Queen Charlotte Sound von den übrigen Formen und Ökotypen zu unterscheiden (Tab. A.II-12). Abbildung 5-33 zeigt die weitgehende Fixierung auf dieses Allel im Südosten des Areal, die Abnahme zur Küste hin sowie die überraschend geringe Frequenz sowohl in der Campbell-Gruppe, als auch in einigen Proben aus den Blauen Bergen in Oregon. Bemerkenswert ist außerdem die intermediäre Frequenz im Ökotyp aus dem Queen Charlotte Sound, dessen Referenzstruktur auch in der Ostabdachung des nördlichen Kaskadenausläufers¹⁰⁹ in einer Entfernung von mehr als 10° L. östlich gefunden wird. LEINEMANN (1998) beschreibt übrigens eine nahezu identische Struktur an diesem Genlocus bei einer Stichprobe¹¹⁰ aus entsprechender geographischer Lage. Dieser neue Sachverhalt wird weiter unten näher beleuchtet. Schließlich ist die gegensätzliche Verteilung der Allele A1 und A3 von Interesse. A1 erreicht im Bereich des südlichen und des zentralen Küstenvorkommens hohe Werte, hingegen überwiegt das Allel A3 in der Region der Campbell-Gruppe und des Übergangsbereiches. Der majorpolymorphe

¹⁰⁹ Probe Nr. 40 von LI & ADAMS (1989).

¹¹⁰ Probe IUFRO-Nr. 1068, Provenienzversuch Gahrenberg, LEINEMANN (1998, Anhang S. VIII)

Genort bietet daher auch die Gelegenheit, in besagter Arbeit (LEINEMANN 1998, S. VIII) die vermuteten Drifteffekte (s.o.) zu studieren (z.B. Stichproben 1027 und 1105). In amerikanischen Studien hingegen, spiegeln sich die in vorliegender Arbeit beschriebenen Referenzstrukturen ausnahmslos wieder (SHAW & ALLARD 1982b, NEALE 1985, MORAN & ADAMS 1989).

Der in einer frühen Arbeit angestellte Versuch, mittels LAP-A klinale Effekte nachzuweisen (MEJNARTOWICZ 1976), war aus Sicht der vorliegenden Studie deshalb nicht von Erfolg gekrönt, weil die dort verwendeten wenigen Stichproben eine erhebliche West-Ost Streuung aufwiesen und so drei verschiedenen Ökotypen enthielten, welche, in Nord-Süd-Richtung gereiht, die Vertreter der jeweiligen Ökotypen in unterschiedlicher Rangfolge auflisteten. Wie bereits in Kapitel 5.3.1. am Beispiel der südlichen Inlandsdouglasie ausgeführt, ist die Verteilung der Stichproben im Untersuchungsareal durchaus entscheidend für eine realistische Einschätzung genetischer Variation. Aus Abbildung 5-33 kann in diesem Zusammenhang entnommen werden, daß die Häufigkeit von A2 von dem Queen Charlotte Sound im Nordwesten bis zu den Great Plains im Südosten kontinuierlich zunimmt. Derartige Kline sind im Küstenbereich für A2 nicht auszumachen. Hingegen ergibt sich ein Ost-West-Gefälle in der Häufigkeit dieses Alleles bezüglich A2 entlang dem 45° n.B. (Abb. 5-33), welches für die Douglasie allgemein mit Hilfe eines Distanzmaßes bereits von LI & ADAMS (1989) beschrieben worden ist.

Der Genort AMP-C zeigt, wie zuvor schon von anderen Autoren beschrieben (SHAW & ALLARD 1982b, NEALE 1985, MORAN & ADAMS 1989, HÖPPNER DE RIZO 1991, LEINEMANN 1998), einen Minorpolymorphismus. Nach vorliegenden Untersuchungen scheint dieser besonders im südlichen Arealteil sowie in den Inlandsformen der Douglasie nahe der Fixierung auf das Allel C3 zu sein (Tab. 5-27).

5.3.1.4. Allelische Strukturen am Genlocus 6-PGDH-A

Welche Einflüsse biochemisch unterschiedliche Verfahren beim Datenvergleich haben können, wird am Genort 6-PGDH-A deutlich (Tab. 5-29). Wie in Kapitel 5.1.4. näher ausgeführt, überschätzt das in der vorliegenden Arbeit angewandte Verfahren bei Inlandspopulationen das Vorkommen des Alleles A4, die Häufigkeit des Alleles A2 wird unterschätzt. Darüberhinaus kann in Inlandspopulationen auch die Häufigkeit des Alleles A1 zugunsten von A2 unterschätzt werden. Die Abbildung 5-34 zeigt, daß das Allel A2 in den Stichproben aus Handelssaatgut im Nördlichen Inlandsbereich sowie in den Stichproben der südlichen Inlandsdouglasie im Vergleich zu der Arbeit von LI & ADAMS (1989) in geringerer Häufigkeit vorliegt. Da jedoch das Allel A2 im Küstenbereich in beiden Untersuchungen, abgesehen von drei Ausnahmen, in vergleichbaren Dimensionen in den Einzelstichproben vorliegt, so muss auf eine unterschiedliche Evolution von mindestens zwei Formen des Alleles A2 geschlossen werden. Die eine Form, mittels Trennsystem Tris-Citrat⁹⁵ nachweisbar, findet sich als seltenes Allel in der Küstendouglasie⁹⁶ und in der Inlandsdouglasie⁹⁷ (Tab. A.II-4b). Das andere Allel A2', mittels Trennsystem Morpholin-Citrat⁹⁸ von A4 unterscheidbar, findet sich im Bereich von Arizona und New Mexiko, wo einzelne

⁹⁵ Puffersystem C, vgl. Kap. 3.2.1.

⁹⁶ Stichproben K09, S11.

⁹⁷ Stichproben S15, S19, S26.

⁹⁸ Puffersystem D, vgl. Kap. 3.2.1.

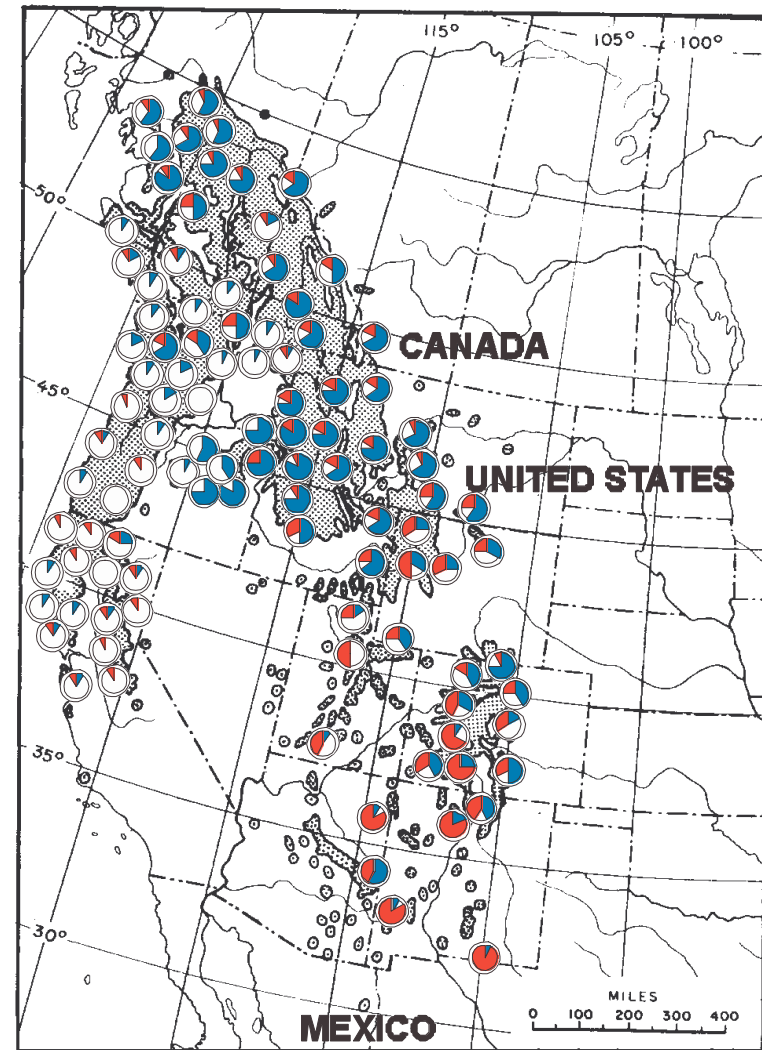
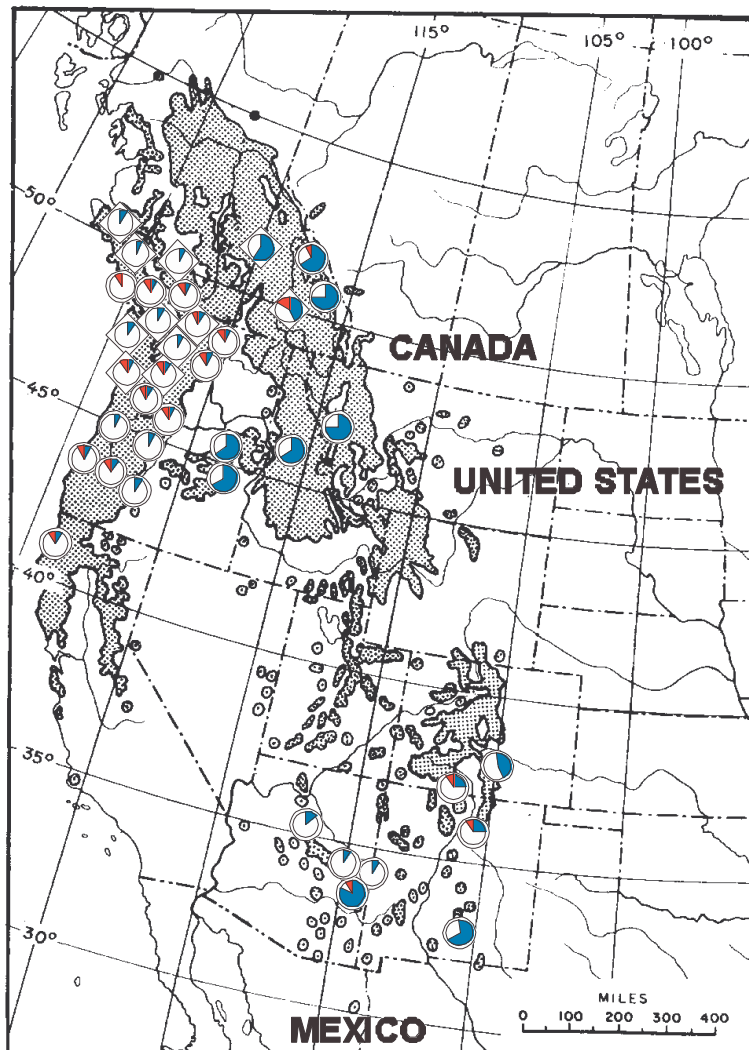


Abb. 5-34: Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort 6-PGDH-A: Vorkommen und Häufigkeiten der Allele A2 (rot) und A6 (blau)

- a) links: aus Handelssaatgut (Hintergrund: Kreise) sowie aus Versuchsanbauten (Hintergrund: Rauten)
- b) rechts: im Datensatz von Li & Adams (1989)

Tab. 5-29: Referenzstrukturen für den Genort 6-PGDH-A

Ökotyp	Genort 6-PGDH-A								
	1	2	3	4	5	6	7*	X [#]	
<u>IN</u>	a)	.004 (.006)	.007 (.013)	.007 (.006)	.248 (.055)	.011 (.011)	.722 (.077)		
	b)				.503 (.075)		.497 (.075)		
L+A '89		.004 (.015)	.135 (.065)		.193 (.143)	.013 (.038)	.652 (.135)	.003 (.008)	.328 (.134)
<u>IS</u>	a)		.007 (.012)		.762 (.229)	.008 (.020)	.223 (.213)		
	L+A '89		.465 (.260)		.239 (.177)		.291 (.200)	.005 (.024)	.704 (.201)
<u>Ü</u>	a)			.007 (.013)	.426 (.122)	.004 (.006)	.563 (.112)		
	L+A '89		.032 (.085)		.400 (.314)		.568 (.282)		.432 (.282)
<u>SR</u>									
L+A '89		.072 (.020)		.909 (.037)		.020 (.040)		.980 (.040)	
<u>KS</u>									
L+A '89		.036 (.042)		.918 (.109)		.046 (.074)		.954 (.074)	
<u>KM</u>	a)		.009 (.014)	.007 (.015)	.918 (.010)		.067 (.013)		
	L+A '89		.039 (.045)		.932 (.060)		.029 (.037)		.971 (.037)
<u>KN</u>	a)	.002 (.004)	.027 (.016)		.929 (.043)		.043 (.042)		
	b)		.013 (.019)		.953 (.023)	.006 (.013)	.029 (.023)		
L+A '89		.030 (.061)		.798 (.293)	.009 (.030)	.163 (.208)		.828 (.235)	

Tab. 5-29 (Forts.): Referenzstrukturen für den Genort 6-PGDH-A

Ökotyp	Genort 6-PGDH-A						X [#]
	1	2	3	4	5	6	
CB b)				.933 (.044)		.067 (.044)	
L+A '89		.007 (.012)		.930 (.036)		.060 (.035)	.936 (.032)
QC							
L+A '89		.024 (.024)		.292 (.133)	.037 (.016)	.660 (.150)	.316 (.032)
NA							
L+A '89		.262		.262		.476	.524

Erläuterungen: a) Handelssaatgut

b) bad.-württ. Versuchsanbauten

L+A '88: aus Datensatz von LI & ADAMS (1989) berechnet.

* Allozym wurde berücksichtigt ohne Segregationsnachweis (pers. Mitt. LI 1989)

Daten gepoolt aus den Allelen A2 und A4 (Grundlage: pers. Mitt. LI 1989)

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Deme sogar eine Fixierung auf dieses Allel zeigen können (Abb. 5-34). Es hat sich bis zum 55° n.B. in British Columbia im Norden bzw. vereinzelt in die Nordausläufer der Kaskaden nach Westen verbreitet. Da im letztgenannten Trennsystem beide Formen A2 und A2' nicht unterscheidbar sind, offenbart erst der Vergleich beider Methoden (Abb. 5-34), daß nur im Bereich der Inlandsdouglassie mittlere Häufigkeiten von 13,5% bzw. 46,5% erreicht werden können (Tab. 5-29), welche nahezu ausschließlich auf das Konto von A2' gehen. Allerdings zeigt die Provenienz 40 (LI & ADAMS 1989) von der Ostabdachung der nördlichen Kaskadenausläufer hier ebenfalls einen hohen Wert, was auf Introgression schließen läßt. Insgesamt betrachtet ist der Genort 6-PGDH-A offensichtlich geeignet, um Introgressionsstudien durchzuführen. Schließlich trägt das Allel A6 im Bereich der nördlichen Küstendouglassie sowie teilweise im Bereich des Übergangsgebietes im östlichen Oregon einen Minorpolymorphismus bzw. im Bereich des südöstlichen B.C. und der südlichen Inlandsdouglassie z.T. einen Majorpolymorphismus, während es im Küstenbereich als seltenes Allel auftritt (Abb. 5-34). Ferner prägt das Allel A4 im Bereich des südlichen und zentralen Küstenvorkommens einen Minorpolymorphismus, der sich im nördlichen Küstenabschnitt unter Einfluß steigender Anteile von A2 und A6 abschwächt (Tab. 5-29). In der Inlandsvarietät liegt A4 immerhin noch als weitverbreitetes Allel vor, wodurch es als Baustein für einen Referenzvektor geeignet ist. Damit sind die drei wichtigen Allele A2, A4 und A6 charakteristisch für jeweils eine Form der Douglassie und ihre jeweils eindeutig unterschiedliche Form der Häufigkeitsausprägung machen sie zu qualitativen Merkmalen (GILLET 1993) für die drei bekannten Formen der Douglassie: *P.m. viridis*, *caesia* und *glauca*. Der diskriminierende Charakter der drei häufigen Allele von 6-PGDH-A war bereits

Tab. 5-30: Vergleich der Mittelwerte (U-Test) des häufigen Alleles A4 am Genort 6PGDH-A zwischen Proben aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten und den Ergebnissen des Labors aus Corvallis

Versuchs- anbauten	Ökotypen [#] :						
	IN	IS	Ü		KM	KN	CB
IN	.018						
KN						n.s.	
CB							n.s.
Handels- saatgut							
IN	n.s.						
IS		.000					
Ü			n.s.				
KM					n.s.		
KN						n.s.	

Erläuterungen: # aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989) berechnet (vgl. Tab. 5-23).
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

in einer früheren Arbeit, damals auf der Basis des Datensatzes von LI & ADAMS (1989) beschrieben worden (KLUMPP 1995). Insoweit muß LEINEMANN (1996) korrigiert werden, der *ex silentio* seines Datensatzes, die Bedeutung des durch das Allel A6 getragenen Majorpolymorphismus irrtümlich als charakteristisches Merkmal der "Inlandsrasse" (LEINEMANN 1996, S. 253) verallgemeinert. Weiters ist seine ausschließliche Beobachtung eines Majorpolymorphismus (LEINEMANN 1996, S. 253) auf die eingeschränkte Wahl der Stichproben aus dem südöstlichen B.C. zurückzuführen (s.o.: vgl. Abb. 5-34) und keineswegs für die "Inlandsrasse" typisch.

Festgehalten wird an dieser Stelle, daß sich die Campbell-Gruppe an diesem Genort durch ebenso geringe Frequenzen von A2 und A6 auszeichnet, wie das zentrale Küstenvorkommen. Außerdem zeigen die Populationen aus dem Queen Charlotte Sound nahezu identische Frequenzen von A6, wie die nördliche Inlandsform (Tab. 5-29). Ein Umstand, der im Zusammenhang mit der Entstehung der Art bzw. ihrer Formen und Ökotypen weiter unten gesondert diskutiert wird. Die einzelnen, durch majorpolymorphe Strukturen geprägten Ökotypen im Bereich des südöstlichen B.C. bzw. von Colorado und Wyoming können nicht nur als Indikator für Introgression sondern auch als Hinweis auf eiszeitliche Refugien, verstanden werden, in welchen sich das Verhältnis der einzelnen Allele im Laufe zwischeneiszeitlicher Isolierung ausbalanciert hat.

Beim Vergleich der Daten aus der Literatur für diesen Genort muß die Labormethode folglich besondere Berücksichtigung finden. Arbeiten auf der Basis von Tris-Citro-Trennsystemen zeigen ebenso entsprechende allelische Strukturen (z.B. YEH & O'MALLEY 1980, YEH & MORGAN 1987, EL-KASSABY & DAVIDSON 1990, LEINEMANN 1998), wie in der vorliegenden Studie. Die gilt ebenso für die Arbeiten auf der Basis des Morpholin-Citrat-Trennsystemes (z.B. NEALE 1985, MORAN & ADAMS 1989).

Wie bereits oben erläutert, eignet sich das Allel A4 als Baustein für einen Referenzvektor, da es in allen Ökotypen in ausreichenden Frequenzen vorliegt und dennoch mit Unterschieden von bis zu 74 Prozentpunkten eine Abgrenzung zwischen den Ökotypen ermöglicht (Tab. 5-29). Überprüft man die Unterschiede der Mittelwerte von A4 für die einzelnen Ökotypen aus dem amerikanischen Datensatz, so findet sich eine signifikante Unterscheidung zwischen den Küsten- und den Inlandspopulationen, nicht jedoch innerhalb dieser beiden Formen der Douglasie (Tab. A.II-13a). Die Gruppe aus dem Queen Charlotte Sound unterscheidet sich von den übrigen Küstenpopulationen, nicht jedoch von den Inlandsformen!

Die hohen Werte der Standardabweichung weisen auf erhebliche Schwankungen in der Ausprägung allelischer Strukturen im Areal der südlichen Inlandsdouglasie, der nördlichen Küstendouglasie sowie im östlichen Oregon (Tab. 5-29). Der Vergleich der Mittelwerte mittels U-Test für das Allel A4 aus den unterschiedlichen Datensätzen führt erwartungsgemäß nur bei den Inlandsformen zu einem statistisch signifikanten, also laborbedingten, Unterschied (Tab. 5-30), der nicht in den Proben aus Handelsaatgut beobachtet wird.

Um abschätzen zu können, welche Unterscheidungsmöglichkeiten arealweit durch das Tris-Citro-Trennverfahren⁹⁹ bestehen, wurde in einem zweiten Rechengang die Häufigkeit der Allele A2 und A4 für die einzelnen Populationen des amerikanischen Datensatzes zu einem künstlichen Allel AX kombiniert. Tabelle 5-29 zeigt, daß dadurch die Streuung der Werte gemildert werden konnte und gleichzeitig eine Unterscheidung zwischen den Inlandsformen, zwischen den Inlandsformen und der Übergangsgruppe aus dem östlichen Oregon sowie zwischen letzterer und der Gruppe aus der Sierra Nevada möglich wird (Tab. A.II-13b). Damit können die im Tris-Citro-Verfahren ermittelten Werte für A4 bzw. für die Summe aus A4 und A2 als Baustein für einen Referenzvektor eingesetzt werden, ohne an Aussagekraft bezüglich arealspezifischer Variation an diesem Genort zu verlieren. Ferner können beide Verfahren auf der Basis einer solchen Kombination verglichen werden. Die statistische Prüfung mittels U-Test ergab im Gegensatz zu Tabelle 5-30 keine signifikanten Unterschiede für beide Methoden.

Ein direkter Vergleich der Methoden konnte aus finanziellen Gründen nur an ausgewählten Proben aus Versuchsanbauten sowie an den baden-württembergischen Altbeständen durchgeführt werden. Tatsächlich wurde in keiner der Stichproben aus dem nördlichen Küstengebiet das Allel A2 gefunden (Tab. A.II-15), wohl aber in der Population K09, wo der Anteil von A2' offensichtlich 13% ausmacht. Die Probe K06 konnte nur zu einem Drittel überprüft werden, ohne das Allel A2' nachweisen zu können. Legt man den Wert aus der Referenzstruktur des amerikanischen Datensatzes zugrunde, der für $\Sigma (A2+A2')$ 13,5% beträgt, so muß man eine Stichprobengröße von mindestens 51 Individuen wählen (GREGORIUS 1980), um mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% dessen Häufigkeit richtig einschätzen zu können. Damit ist über die Anwesenheit von A2', A2 wurde im TC-Trennsystem nicht gefunden, in der Probe K06 keine Aussage möglich. Der direkte Vergleich für die baden-württembergischen Altbestände ergab nur für den Bestand B06 (Heidelberg, I,25) einen Anteil von 5% für das Allel A2'; das Allel A2 war zuvor im TC-Trennsystem nicht gefunden worden. Da das Allel A6 nur mit 5% in dieser Stichprobe vorkommt und nicht mit bis zu 65%, wie die Referenzstrukturen für den Nördlichen Inlandstyp ausweisen, kann ein erster Hinweis auf eine zusätzliche Verwendung von Pflanzgut der nördlichen Inlandsform bzw. aus dem Ostabfall des nördlichen Kaskadenbereiches für den Bestand B06 abgeleitet werden. Ferner ist die Tauglichkeit des biochemischen Vergleichsverfahrens zur arealweiten Unterscheidung zwischen Inlandsformen und Küstenformen belegt. In der Humangenetik sind bereits seit längerem biochemische Präparationstechniken zur Unterscheidung genetisch unterschiedlicher, phänotypisch in be-

⁹⁹ Puffersystem C, vgl. Kap. 3.2.1.

stimmten Verfahren jedoch gleicher Isomorphe (Allozyme) üblich (z.B. MOSS 1982, S. 103 ff.). Es wird daher vorgeschlagen, das vergleichende Verfahren unter Verwendung der Trennsysteme Tris-Citrat und Morpholin-Citrat auf der Ebene der ISTA in der Saatgutprüfung einzusetzen.

5.3.1.5. Allelische Strukturen am Genlocus SKDH-B

Das Enzymsystem SKDH wurde bisher selten bei Arbeiten über die Genetik der Douglasie verwendet. Nachfolgend wird erstmals ein nahezu arealweiter Überblick über die geographische Variation am Genort SKDH-B gegeben. Da in der Studie von LI & ADAMS (1989) SKDH-B ebenfalls keine Berücksichtigung fand, können die Referenzstrukturen lediglich für sechs der zehn hier unterschiedenen Ökotypen angegeben werden (Tab. 5-31). Zwei der sechs Allele prägen die Strukturen an diesem Genort: B1 und B3 (Tab. A.II-4b, 5b). Das Allel B1 trägt einen Minorpolymorphismus in den Populationen der südlichen Inlandsform und ist im Küstenbereich verbreitet anzutreffen, während es in den nördlichen Inlandsdouglasie sowie im Bereich der Blauen Berge des östlichen Oregon selten ist (Tab 5-31). Auffallend ist der hohe Wert in der Population S01 (Küste-Süd), der auf eine nahezu kontinuierliche Abnahme der Häufigkeit von B1 nach Norden schließen läßt! Im Bereich des südlichen und des zentralen Küstenvorkommens (Abb. 5-35) nähern sich die allelischen Strukturen daher einem Majorpolymorphismus, während die Referenzstruktur der nördlichen Inlandsdouglasie einen Minorpolymorphismus darstellt, welcher vom Allel B3 ausgebildet wird (Tab. 5-31). Das sehr seltene Allel B2 wird im Bereich der südlichen Inlandsdouglasie sowie im zentralen Küstenvorkommen gefunden. Das sehr seltene Allel B4 kommt offenbar nicht in der südlichen Inlandsform vor und das Allel B5 ist im Übergangsbereich der Blauen Berge sowie in der nördlichen Inlandsform als verbreitet zu klassifizieren, während es im Übrigen Areal eher selten ist (Tab. 5-31). Wie weiter unten diskutiert wird, kann dies als ein Hinweis auf ein eiszeitliches Refugium gewertet werden. Außerdem muß der geringen Variation im Bereich der Campbell-Gruppe besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden (Tab. 5-31).

Die gefundenen Referenzstrukturen entsprechen den wenigen Berichten in der Literatur¹⁰⁰, etwa der aus dem südwestlichen Oregon (MORAN & ADAMS 1989) oder der Studie an Pflanzgut der Provenienz Darrington (HÖPPNER DE RIZO 1991). In den Untersuchungen an Prüfgliedern des Provenienzversuches Gahrenberg aus dem nördlichen Arealteil der Douglasie (LEINEMANN 1998) kann - mit Einschränkungen - zumindest ein der vorliegenden Arbeit entsprechender Trend¹⁰¹ an diesem Genort beobachtet werden. So kommt beispielsweise die Provenienz 1145 (LEINEMANN 1998, S. VIII) dem im südlichen Arealteil beobachteten Majorpolymorphismus am Genort SKDH-B (Tab. 5-31) sehr nahe.

Von den beiden bedeutenden Allozymen am Genort SKDH-B zeigt das Allel B1 die stärksten Unterschiede in den Werten der jeweiligen Referenzstrukturen mit bis zu 87 Prozent (IS / Ü: Tab. 5-31). Ein Vergleich der Mittelwerte zwischen den einzelnen Ökotypen mittels U-Test ergab signifikante Unterschiede lediglich zwischen den Inlandsformen sowie zwischen den Inlandsformen und den Küstenformen

¹⁰⁰ Es werden meist nur ein schnelles und ein langsames Alloenzym neben dem häufigen Allel im Küstenbereich (hier B3) beschrieben.

¹⁰¹ Die Provenienzen 1067 und 1968 entsprechend der geographischen Lage als Küstenpopulationen gruppiert.

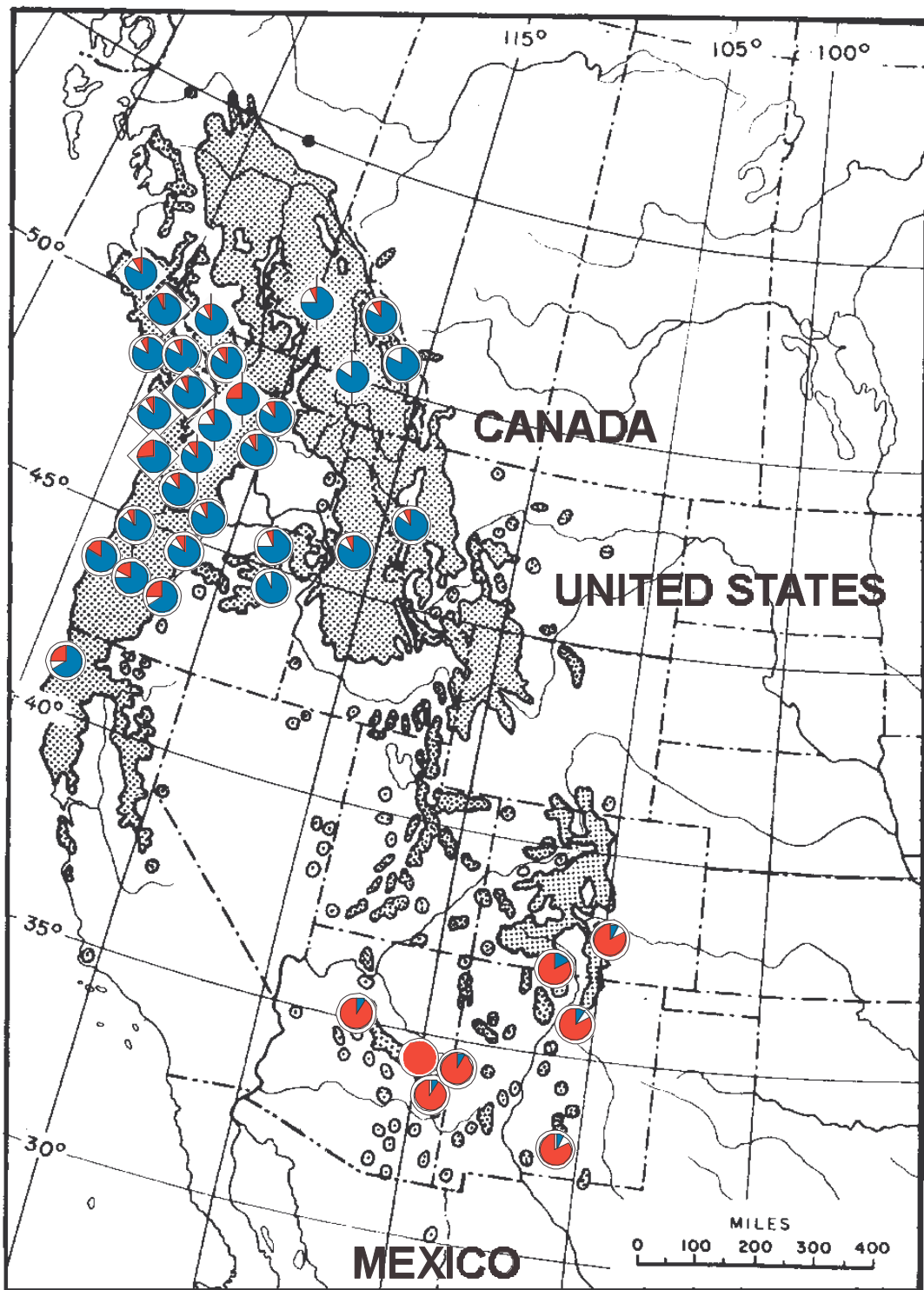


Abb. 5-35: Geographische Variation allelischer Strukturen am Genort SKDH-B: Vorkommen und Häufigkeiten der Allele B1 (rot) und B3 (blau) aus Handelssaatgut (Hintergrund: Kreise) sowie aus Versuchsanbauten (Hintergrund: Rauten)

Tab. 5-31: Referenzstrukturen für den Genort SKDH-B

Ökotyp	Genort SKDH-B					
	1	2	3	4	5	N
<u>IN</u>	a)	.018 (.017)	.874 (.046)	.015 (.013)	.018 (.013)	.074 (.061)
	b)	.042 (.059)	.808 (.035)		.150 (.024)	
<u>IS</u>	a)	.892 (.078)	.020 (.037)	.064 (.049)	.017 (.044)	.007 (.008)
<u>Ü</u>	a)	.015 (.017)	.841 (.084)	.033 (.040)	.093 (.044)	.018 (.006)
<u>SR</u>						
<u>KS</u>		.256	.678	.011	.055	
<u>KM</u>	a)	.147 (.073)	.002 (.005)	.789 (.074)	.018 (.024)	.038 (.029)
<u>KN</u>	a)	.091 (.017)	.873 (.019)	.011 (.025)	.022 (.018)	.003 (.005)
	b)	.161 (.077)	.812 (.071)	.002 (.006)	.025 (.024)	
<u>CB</u>	b)	.056 (.054)	.900 (.077)		.045 (.039)	
<u>QC</u>						
<u>NA</u>						

Erläuterungen: a) Handelssaatgut

b) bad.-württ. Versuchsanbauten

Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

(Tab. A.II-14a). Innerhalb der Küstenformen sowie zwischen dem Ökotyp aus dem Gebiet der Blauen Berge und der nördlichen Inlandsform sind keine Unterscheidungen auf der Basis der Mittelwerte von B1 möglich. Die Campbell-Gruppe läßt sich nur von der südlichen Inlandsform unterscheiden (Tab. A.II-14a). Das häufige Allel B3 scheint auf den ersten Blick für die Frage einer Unterscheidung innerhalb der Küstenform besser geeignet, da hier Wertedifferenzen von über 10 Prozent zwischen den Ökotypen gefunden werden (Tab. 5-31). Ein Überprüfung der Referenzwerte für B3 mit Hilfe des U-Testes ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede. Die diskriminierende Wirkung von B3 ist offensichtlich erheblich geringer als die von B1 (Tab. A.II-14b). Damit muß auf das Allel B1 als letzten Baustein für einen Referenzvektor zurückgegriffen werden. Abschließend wird bemerkt, daß die teilweise geringe Stichprobenzahl nur vorläufige Aussagen für die geographische Variation am Genlocus SKDH-B ge-

stattet. Weitergehende Studien an diesem Genort scheinen zumindest für das Verständnis der Phylogenie der Douglasie dringend wünschenswert.

5.3.2. Zusammenfassung der geographischen Variation allelischer Strukturen

Die geographische Variation allelischer Strukturen an den Genorten GOT-A, LAP-A, 6-PGDH-A und SKDH-B war bereits in einer früheren Arbeit für die Douglasie beschrieben worden (KLUMPP 1995). Aus dem Datensatzes von LI & ADAMS (1989) waren empirische Schranken für die Variationsbereiche charakteristische Allele abgeleitet worden. Dies war ebenso unbefriedigend, wie die Seltenheit der areal-spezifischen Allele am Genort GOT-A: beides stand einer praktischen Anwendung nicht zuletzt aufgrund der benötigten großen Stichproben entgegen. LEINEMANN hat später die Idee, typische Variationsbereiche von Allelen zu beschreiben, aufgegriffen und ein nicht näher bezeichneten A_v -Wert definiert, welcher deren diskriminierende Funktion zwischen zwei Rassen quantifizieren soll (LEINEMANN 1998, S. 20 ff.). Die dort verwendeten Extremwerte beobachteter Häufigkeiten sind jedoch nicht nur vom genetischen Standpunkt betrachtet, sondern auch vom mathematischen durchaus problematisch. In der vorliegenden Arbeit wurde dieser Ansatz daher aufgegeben.

Wie das vorstehende Kapitel 5.3.1. zeigt, besonders der Vergleich zwischen mittleren Allelhäufigkeiten einer Region und der intensiven Studie von SHAW & ALLARD (1982b) am Beispiel von GOT-A3, bewährt sich das Konzept, mehrere Stichproben aus einer geographischen Einheit als stratifizierte Stichprobe zu betrachten. Sofern die gewählten geographischen Einheiten gleichzeitig die Populationen mit vergleichbarem aut- und synökologischem Hintergrund zusammenfassen, kann von allelischen Referenzstrukturen für Ökotypen einer Art gesprochen werden. Die gemittelten Häufigkeitswerte und ihre Standardabweichungen beschreiben die tatsächliche Häufigkeit selbst von seltenen Allelen dann hinreichend genau, sofern die Anzahl der Stichproben nicht zu klein ist. So zeigten sich in der vorliegenden Arbeit besonders die geringen Stichprobenzahlen aus dem nördlichen Inland stellenweise als ungenau (z.B. GOT-B), während in anderen Fällen keine auffallenden Abweichungen zwischen den Datensätzen für die genannte Region registriert wurden (z.B. IDH, AMP-A). Nachdem bereits HOFFMANN erfolgreich Mittelwerte des jeweils häufigsten Alleles an wenigen Genloci eingesetzt hat, um für zwei Gruppen von Stichproben der selben Douglasienvarietät die Vergleichbarkeit ihrer allelischen Strukturen zu prüfen (HOFFMANN 1994), lag es nahe diese Idee bei der Datenauswertung aufzugreifen. Allerdings wurde von einer statistischen Überprüfung der übrigen Allele¹⁰² eines Genlocus auf Unterschiedlichkeit zu anderen Referenzstrukturen ebenso abgesehen, wie von der strikten Auswahl des jeweils häufigsten Alleles. Vielmehr wurden iterativ, unter Einsatz des U-Testes, charakteristische Allele ausgewählt (z.B. SKDH-B1), welche in möglichst vielen Teilarealen eine Indikatorfunktion für die jeweils typische allelische Struktur erfüllen kann. Im Falle von 6-PGDH-A wurde hierzu ein theoretischer Indikator aus den Häufigkeiten zweier Allele abgeleitet.

Referenzvektoren, auf dem Prinzip allelischer Profile (FINKELDEY 1993) aufbauend, wurden von LEINEMANN vorgeschlagen, um charakteristische Eigenarten in den allelischen Strukturen mehrerer Genloci einer Population gleichzeitig darstellen zu können (LEINEMANN 1998). In der vorliegenden Arbeit wird jener Ansatz dahingehend präzisiert, daß pro Genort nur ein Allel¹⁰³ als Indikator für die je-

¹⁰² Da es sich meist um seltene Allele handelt macht eine Überprüfung bei herkömmlichen Stichprobengrößen keinen Sinn, da die auftretenden Schwankungen stichprobenbedingt sind, wie die entsprechenden Standardabweichungen anzeigen.

¹⁰³ bzw. ein theoretisches Allel, gepoolt aus Allelen mit charakteristischen Frequenzen.

weilige Variation allelischer Strukturen verwendet wird. Ferner wird die Anordnung der einzelnen Determinanten des Vektors auf der X-Achse zu Beginn des Verfahrens frei gewählt. Neben streng fallenden Häufigkeiten der Einzelbausteine sind auch andere Figuren möglich, soweit sie eine hinreichende graphische Unterscheidungsmöglichkeit zwischen den jeweiligen Ökotypen bieten.

Die Abbildungen 5-36 und 5-37 zeigen die in der vorliegenden Arbeit getroffene Untergliederung des Areals von *Pseudotsuga menziesii*, sowie die Referenzvektoren der jeweiligen Ökotypen. Die Referenzvektoren wurden mit folgenden, im vorstehenden Kapitel 5.3.1. abgeleiteten Determinanten aufgebaut: 6-PGDH-AX, GOT-B3, IDH-5, AMP-A2 und SKDH-B1. Die Darstellungen der Abbildung 5-36 enthalten neben dem Referenzvektor (rote Linie) auch die Standardabweichung der Determinanten (gelbes Band) sowie die Populationsvektoren der zugrunde liegenden Stichproben. Die Abbildung 5-37, aus dem Datensatz von LI & ADAMS (1989) für 103 Populationen¹⁰⁴ berechnet, zeigt nur die Referenzvektoren sowie die Standardabweichung der Determinanten.

Die Abgrenzung der Arealteile erfolgte iterativ durch das Aufstellen von Tabellen allelischer Strukturen, wie sie im Anhang wiedergegeben sind (Tab. A.II-4a bis 5b). Dabei mußten die Grenzen der Arealteile geographisch oder standörtlich plausible Ansätze für Rückzugsgebiete, Isolation, Zoochorie oder Genfluß bieten. Die Referenzvektoren lassen drei Haupttypen entsprechend den von Europäern unterschiedenen Varietäten erkennen: eine Zeltdachform, welche die nördliche Inlanddouglasie charakterisiert, eine Flachdachform für die südliche Inlanddouglasie sowie ein gezackter Verlauf des Referenzvektors für die Küstendouglasie (Abb. 5-36). Hohe Werte von 6-PGDH-AX sowie extrem niedrige von AMP-A2 kennzeichnen die Ökotypen der Küste, während Frequenzen von AMP-A2 um die 80% sowie niedrige Werte von 6-PGDH-AX die nördlichen Inlanddouglasie beschreiben. Die südliche Inlanddouglasie fällt durch hohe Werte in allen Determinanten auf. Zwei Ökotypen zeigen einen Übergangcharakter (Abb. 5-37): der aus dem Gebiet der Blauen Berge in Oregon sowie der vom Queen Charlotte Sound. Sie besitzen niedrige Werte bei AMP-A2 und niedrige Werte bei der Determinante 6-PGDH-AX, ersteres ein Kennzeichen der Küstenform, letzteres eines der nördlichen Inlandsform! Der Genort IDH ist bei den Inlandsformen sowie den beiden Übergangstypen nahezu auf das Allel Nr. 5 fixiert, desgleichen gilt für GOT-B in den Ökotypen des südlichen Küstenvorkommens. Beide Genorte zeigen in den jeweils anderen Arealteilen ausgeprägtere Polymorphismen was auf zwei "Hauptlinien" in der Entstehung der Art schließen läßt. Eine dritte Komponente wird im niedrigen Wert von GOT-B3 für das zentrale Küstenvorkommen und den Ökotyp vom Campbell River deutlich. Auf Grund unterschiedlicher Umweltfaktoren in beiden Arealteilen kann Anpassung als Grund für die allelischen Strukturen dieses Genortes ausgeschlossen werden. Vielmehr müssen Spuren alter Küstenvorkommen als Erklärung in Erwägung gezogen werden. Innerhalb der Küstenform scheint die Häufigkeit von AMP-A2 kontinuierlich von Süd nach Nord abzunehmen, jedoch zeigt die starke Streuung im mittleren Küstenabschnitt (gelbes Band: Abb. 5-36) bzw. im nördlichen Küstenabschnitt (gelbes Band: Abb. 5-37), daß auf Grund des Majorpolymorphismus eine solche Schlußfolgerung bei der begrenzten Zahl der Stichproben mit dem vorliegenden Material nicht möglich ist¹⁰⁵. Eine Sonderstellung nimmt der Ökotyp von der Sierra Nevada ein (Abb. 5-37). Er zeigt in allen vier Determinanten die höchsten Werte für Küstenvorkommen und für SKDH-B1 kann aus dem Wert für die Stichprobe S01 aus Handelsaatgut ein noch darüberliegender Prozentsatz erwartet werden. Als letzte Besonderheit muß auf den vorläufigen Sonderfall vom Kaskaden-Nordkamm (Ref. Vektor Nr. 10) eingegangen werden. An einer Probe im Datensatz von LI & ADAMS (1989), es ist die bereits erwähnte Nr. 40, zeigen die Determinanten 6-PGDH-AX, GOT-B3 und IDH-5 Werte aus dem Streubereich der Ökotypen Nr. 8 und 9, während der Wert für AMP-A2 im

¹⁰⁴ Die mexikanische Population Nr. 103 zeigte als südlichster Repräsentant besondere Eigenschaften (LI & ADAMS 1989) und wurde daher weggelassen.

¹⁰⁵ vgl. auch Kap. 5.3.1.3.

Streubereich der nördlichen Inlandsdouglasie liegt. Dies kann deshalb nicht als Proben- oder Analysefehler abgetan werden, da LEINEMANN (1998) an einer Stichprobe aus dem identischen geographischen Bereich annähernd die gleichen Strukturen findet.

Auf Grund der begrenzten Stichprobenzahl sollte die vorgenommene Arealuntergliederung als eine vorläufige verstanden werden. Besonders die hier ausgeklammerten Vorkommen in Mexico verdienen in künftigen Studien mehr Beachtung, um das Verständnis über die Evolution der Douglasie erweitern zu können. Im einzelnen verlaufen die vorläufigen Teilarealgrenzen wie folgt:

Nördliche Inlanddouglasie (Ref.-Vektor Nr. 1):

Im Nordwesten das Fraserplateau bzw. die Kammlinie des Küstengebirges. Im Tal des Frasers etwa bei 51° n. B. ergibt sich eine direkte Kontaktzone zur Küstenform. Im Süden die Täler des Yellowstone Rivers (Oberlauf) und des Snake Rivers (Henrys Fork), so daß der Yellowstone National Park zur Südlichen Inlandsdouglasie zählt. Das Hügelland entlang des Clearwater im nördlichen Idaho wird ausgeklammert und der Übergangsgruppe des östlichen Oregon zugeschlagen.

Südliche Inlanddouglasie (Ref.-Vektor Nr. 2):

Südlich der Snake River Plains bzw. im Anschluß an das Vorkommen der nördlichen Inlandsdouglasie. Im Westen durch Wüsten Nevadas begrenzt.

Übergangsgebiet Blue Mountains (Ref.-Vektor Nr. 3):

Östlich des Deschutes River südlich des Columbia bzw. Snake River: Columbia Plateau und Blue Mountains inklusive des Clearwater Hügellandes.

Sierra Nevada (Ref.-Vektor Nr. 4)

Gebirgszug inklusive des isolierten Vorkommens von Lompoc¹⁰⁶.

Südliches Küstendouglasie (Ref.-Vektor Nr. 5):

Übriges Kalifornien. Bislang nicht untersucht: die Nordwestecke der Siskiyou Mountains.

Zentrales Küstenverkommen (Ref.-Vektor Nr. 6):

Oregon, westlich des Deschutes River und südlich des Columbia.

Nördliche Küstendouglasie (Ref.-Vektor Nr. 7):

Washington westlich des Columbia Basin bzw. des Okanogan Rivers. Vancouver Island südöstlich des Alberni Inlet (Port Alberni).

Campbell-Gruppe (Ref.-Vektor Nr. 8):

Vancouver Island nordwestlich des Alberni Inlet (Port Alberni). Gegenüberliegende Küste südlich des Silverthroner Glaciers bzw. Smith Inlet, d.h. West- und Südabfall der Coast Mountains, Unterlauf des Fraser südlich des 50° n.B., Nordausläufer der Kaskaden sowie die Okanogan- und die Kettle Range nördlich des Columbia Basin sowie westlich des Pend' Oreille Rivers.

Queen Charlotte Sound (Ref.-Vektor Nr. 9):

Westabfall des Küstengebirges nördlich des Silverthroner Glaciers bzw. Smith Inlet.

Sonderfall: Kaskaden Nordkamm (Ref.-Vektor Nr. 10):

Ostabdachung bzw. Kammlinie der Kaskaden Nordausläufer nördlich der Wenatchee-Mountains.

¹⁰⁶ Parallelschluß aus GRIFFIN 1964 und ZAVARIN & SNAJBERK 1975; vgl. Kap. 2.5.2.

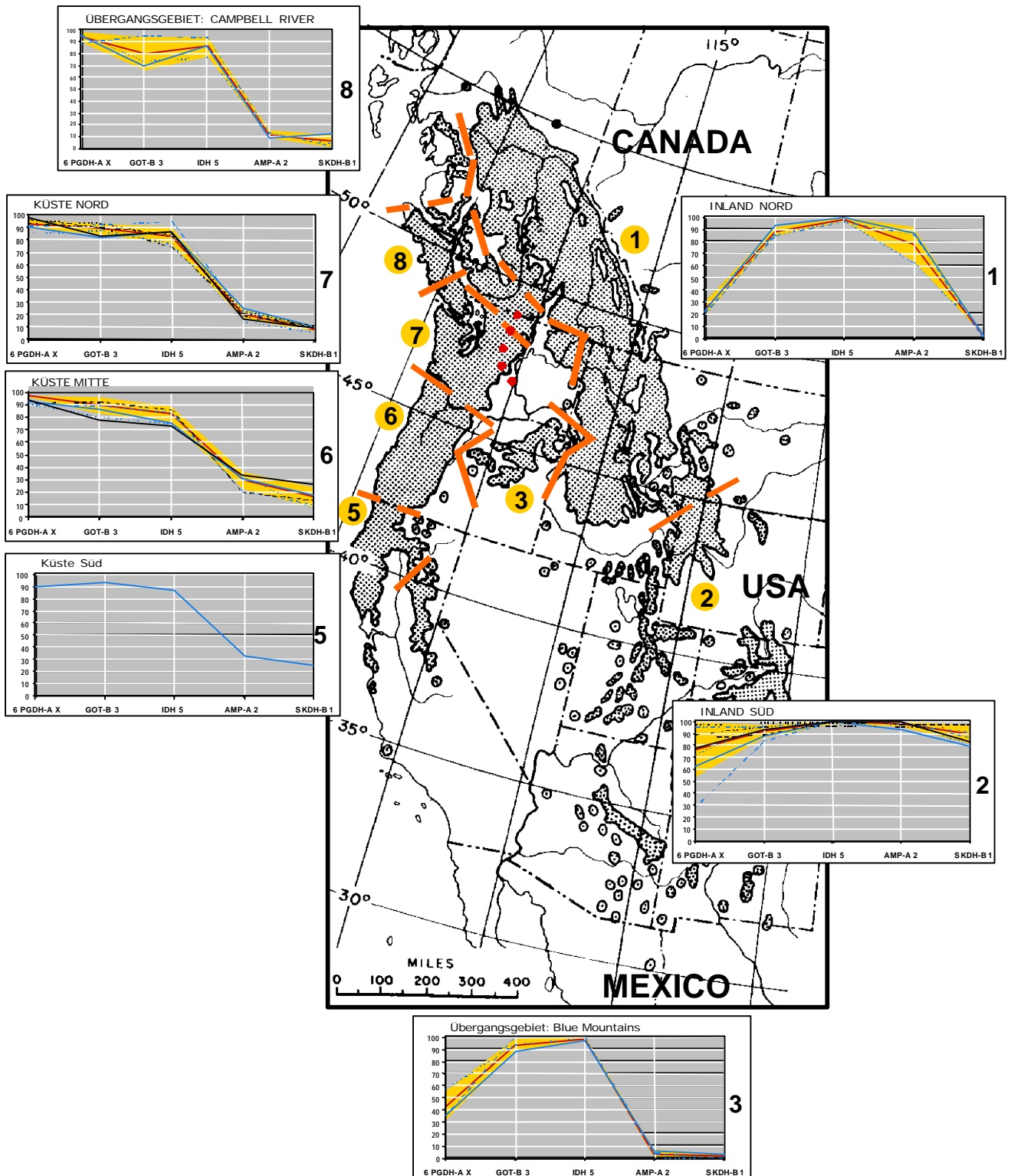


Abb. 5-36: Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Teilareale und Referenzvektoren. Daten aus Handelssaatgut bzw. aus Versuchsanbauten (Nr. 8).

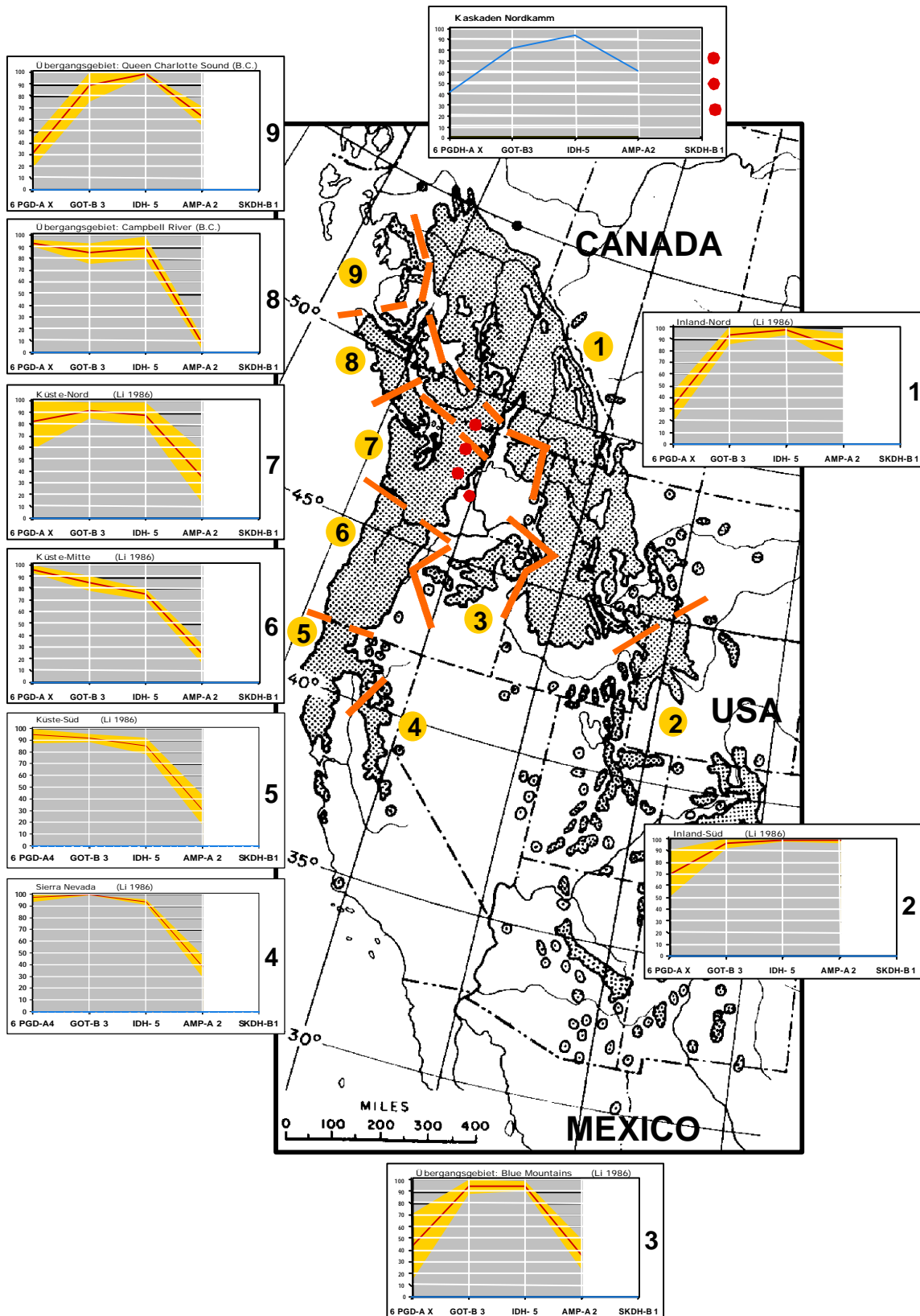


Abb. 5-37: Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Teilareale und Referenzvektoren (berechnet aus Datensatz von Li & Adams (1989))

5.3.3. Diskussion der Arealuntergliederung

Meteorologische Aspekte: Windverhältnisse, Niederschläge und Temperatur

Bereits der erste Verfechter des Douglasienanbaues in Deutschland, John R. Booth, trat für eine sorgfältige Berücksichtigung der Standortverhältnisse beim Bezug des Saatgutes ein (BOOTH 1877, S. 14) und präsentierte erste Daten über das Klima im natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie. Als 20 Jahre später erste Bilanzen über den reichsweiten Anbauversuch der Versuchsanstalten mit fremdländischen Baumarten gezogen wurde, war die Forderung, beim Anbau grundsätzlich auf Saatgutquellen aus vergleichbaren Klimaten zu achten (v. ALTEN 1898), mit einer der sich abzeichnenden Konsequenzen aus den Experimenten. Seither sind mehrfach Klima- und Standortverhältnisse der Douglasienvorkommen in Nordamerika beschrieben oder mit heimischen Verhältnissen verglichen worden (z.B. SCHENCK 1939, STRITTMATTER 1974, OTTO 1984) und Anbauempfehlungen abgeleitet worden (JAHN 1954, RUETZ 1981, SCHOBER et al. 1984). Trotz aller Provenienzversuche war sich die Forstwissenschaft bewußt, daß die Frage "ob Standortsrassen vorkommen, wie eng oder weiträumig sie definiert werden können und wie streng die genetische Anpassung ist, (...) bei der Douglasie (...) als ein weithin ungelöstes Problem angesehen werden (muß)." (OTTO 1984, S. 13).

Zur Abgrenzung der weiter oben vorgestellten Ökotypen waren lediglich die Gruppierungen auf der Basis geographischer Nachbarschaft und allelischer Strukturen so optimiert worden, daß die Streuung der Referenzstrukturen möglichst klein gehalten werden konnte. Da die intraspezifische Gliederung der Douglasie in drei Varietäten von SCHENCK, der Klimasektionen zur Beschreibung einsetzte (ders. 1939), den vom Verfasser analysierten Grundmustern allelischer Strukturen am nächsten kommt, empfiehlt sich eine nähere Betrachtung meteorologischer Rahmenbedingungen¹⁰⁷ für die Verbreitung der Douglasie. Die durchschnittlichen Jahresniederschläge (Abb. A.I-5) betragen im Bereich der Inlandsformen mindestens 400 mm. Im Süden ist die Obergrenze bei 800 mm anzusiedeln, während im Norden den Douglasien Vorkommen in B.C. bis zu 1250 mm zur Verfügung stehen. Die Küstendouglasie hat mindestens 800 mm zur Verfügung (Pudgetsenke, Willamette-Tal), kann aber im Bereich der Kaskaden oder der Pazifikküste mehr als 1600 mm bzw. 3000 mm (Olympic Halbinsel, Nordkaskaden, Queen Charlotte Sound) Niederschlag erwarten. Die Hauptvorkommen des südlichen Küstenökotypes fallen mit der Grenzlinie von mindestens 800 mm Niederschlag zusammen, verstreute Restvorkommen finden sich dort jedoch ab etwa 400 mm Niederschlag. Die Sierra Nevada Vorkommen erstrecken sich in Gebieten mit durchschnittlichen Jahresniederschlägen ab 600 mm (Abb. A.I-5). Der Hauptunterschied in der Niederschlagsversorgung ist somit die Mindestmenge im Jahresdurchschnitt, wobei die beiden Inlandsformen gleichermaßen mit etwa der Hälfte des Mindestbedarfes der Küstenvarietät auskommen (vgl. HERMANN 1999).

Die Abbildung 5-38 zeigt die Jahreszeit der Hauptniederschlagsereignisse in den USA. Hier findet sich die Dreiteilung des Douglasienareals wieder: Im Bereich der Küstendouglasie fallen die Hauptniederschläge bekanntlich im Januar. Dieser Niederschlagsbereich bedeckt nahezu zwei Drittel von Oregon und reicht daher weiter nach Osten als der Kaskadenkamm. Im Norden reicht Winterniederschlagsgebiet bis etwa zum 50° n.B. und im Nordosten erstreckt es sich über Idaho bis in das Kootenai-Tal in Montana. Die südliche Bitterroot Range in Idaho wird, ebenso wie das Vorkommen in Montana, durch Regenfälle im Juni geprägt. In der Nordostecke von Wyoming, wo sich die Grenze zum südlichen Inlandsvor-

¹⁰⁷ Die nachfolgenden Darstellungen stützen sich, soweit nichts anders vermerkt, auf die Arbeiten von HARE & HAY 1974 bzw. COURT 1974.

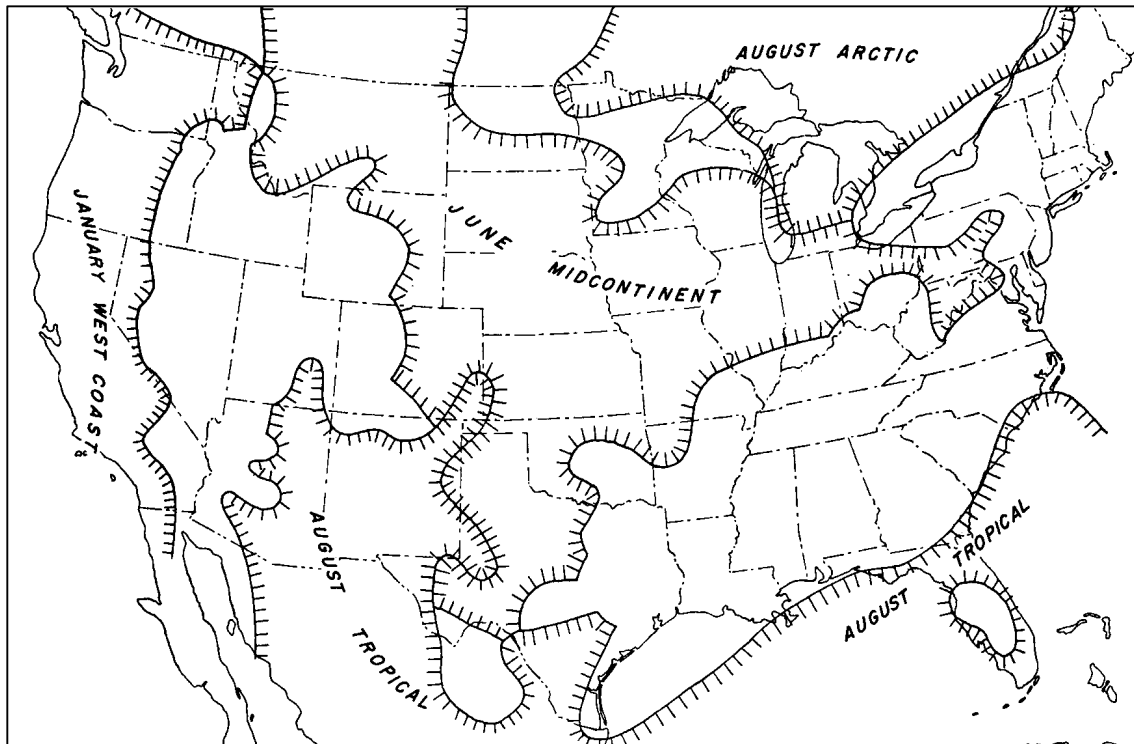


Abb. 5-38: Hauptniederschlagsperioden und ihre Arealausdehnung in Nordamerika
aus: COURT 1974

kommen anhand allelischer Strukturen abzeichnet, findet das zentral-kontinentale Juni-Niederschlagsgebiet seine westliche Grenze! Von hier bis zur Südgrenze der Bundesstaaten Utah und Colorado erstreckt sich ein stark kontinental geprägtes Gebiet im Jahresgang gleichmäßig verteilter Niederschläge. Die Vorkommen der Douglasie aus Arizona und New Mexiko fallen hingegen in das Gebiet tropischer August-Niederschläge. Die genannten Populationen waren etwa durch minorpolymorphe Strukturen unter Beteiligung des Alleles A2' am Genort 6-PGDH-A sowie durch die Empfindlichkeit des Genortes GOT-B3 für unterschiedlicher Stichprobenschwerpunkte aufgefallen. Nun könnte man Anpassung an geringe Niederschlagsverhältnisse bei einer Ausbreitung in südlicher Richtung vermuten, welche sich an den genannten Genorten manifestieren könnte. Dazu müßte eine kontinuierliche Änderung von Genhäufigkeiten entlang eines Gradienten vorliegen. Hier wäre beispielsweise die Temperatur - nicht jedoch die im Inland gleichermaßen niedrigen Niederschlagsmengen geeignet. Tatsächlich weist die Population Nr.104 in der Sierra Madre Oriental in Mexiko eine Fixierung auf (vermutlich) 6-Pgdh-A2' auf. Die Erklärung findet sich in den häufig zu findenden Majorpolymorphismen an diesem Genort im Gebiet von Colorado. Das im Küstenbereich häufige Allel A4 ist dort am Majorpolymorphismus beteiligt, während es im Areal der nördlichen Inlandsdouglasie ebenso selten ist, wie in dem Gebiet südlich von Colorado. Damit scheint im Bereich von Colorado ein Rückzugsgebiet der Douglasie während unterschiedlicher erdgeschichtlicher Epochen bestanden zu haben, das alle drei wichtigen Allele konserviert hat. Die südlicheren Populationen, die heute noch im Bereich tropischer Augustniederschläge leben, tendieren hingegen zur Fixierung auf das Allel A2'. Wie weit dies durch die Verinselung des Areals bedingt ist, oder doch auf Anpassung beruht, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Da in den Populationen von Arizona und New Mexiko an den Genorten GOT-B und GOT-C häufiger Minorpolymorphismen gefunden werden als in den übrigen Populationen der südlichen Inlandsdouglasie und auch

metrische Merkmale auf Besonderheiten weisen, wie etwa rasches Jugendwachstum (WRIGHT et al. 1971), wird künftig die Ausscheidung eines eigenen Ökotyps "Arizona" angeregt.

Die Nebelbildung ist ein weiterer wichtiger Faktor im Areal der Douglasie, als Schutz vor Strahlungsfrost und als Feuchtigkeitsspender (JAHN 1954, S. 17). Die Abbildung A.I-6 zeigt, daß die Küstenform, die nördliche Inlandsdouglasie sowie der Ökotyp aus den Blauen Bergen deutlich durch Nebelbildungen mit durchschnittlicher Dauer von über 20 Tagen geprägt wird. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß ein solch bedeutender Umweltfaktor den erfolgreichen Genfluß bzw. die Introgression zwischen Teilarealen fördert. Dies gilt auch für kalt-nasse Wetterbedingungen (Abb. A.I-7) die mit durchschnittlich über 30% Häufigkeiten die Gebiete des zentralen Küstenvorkommens, des Übergangsvorkommens in den Blauen Bergen sowie die nördliche Inlandsform gleichermaßen prägen. Das Gebiete der nördlichen Küstendouglasie sowie das der Campbell-Gruppe zeichnet sich sogar durch 40% kalt-nasser Wetterbedingungen aus, wobei die Grenze dieses Wetterphänomens im Nordosten Washingtons entlang der Kettle Range verläuft und so das östliche Gebiet der Campbell-Gruppe mit einschließt. Durch derart vergleichbare Wetterbedingungen konnte in der Zeit nach der letzten Vereisung die Ähnlichkeit der nördlichen Douglasienformen weiter verstärkt werden. Von der Hypothese, die nördliche Inlandsform sei ein Produkt des Pleistozän (LI & ADAMS 1989) wird in der vorliegenden Arbeit Abstand genommen. Dieser Aspekt wird in Kapitel 5.3.4 nochmals aufgegriffen. Das Douglasienvorkommen in Colorado verfügt übrigens über einen Mindestschutz von 10 Nebeltagen pro Jahr, was das ausgedehnte Vorkommen dort sicher fördert (Abb. A.I-6).

Ein weiterer, begrenzender Faktor ist die Dauer der frostfreien Perioden, welche die Länge der Vegetationszeit mitbestimmen. Die Küstenvorkommen verfügen generell über mehr als 150 frostfreie Tage, unmittelbar entlang der Küste sind es durch die ausgleichende Wirkung des Pazifik sogar mehr als 200 Tage (Abb. A.I-8). Die Ostabdachung der nördlichen Kaskaden hingegen sind weniger als 120 Tage im Jahr frostfrei, wodurch sie sich erheblich von den übrigen Küstenvorkommen unterscheiden. Die Nordgrenze der Vorbereitung des Campbell-Ökotyps fällt übrigens mit der Linie 120 frostfreier Tage zusammen, ebenso wie die Grenze des Vorstosses der Küstendouglasie nach Norden im unteren Frasersdal (50° n.B.). Lediglich der Ostteil der Campbell-Gruppe im nordöstlichen Washington muß lokal mit weniger als 120 frostfreien Tagen auskommen. Dieser Umstand wird jedoch durch winterliche Abstrahlungswerte von unter 50 ly/d ausgeglichen (Abb. A.I-9), so daß die Durchschnittstemperatur im Januar nicht unter -5 °C fällt. Diese Temperatur Grenze gilt auch für die Übergangsgruppe aus den Blauen Bergen und ihre Ostausdehnung in das Clearwater Tal. Im Sommer erreichen die durchschnittlichen Temperaturen in beiden Teilarealen zwischen 15 und 20 °C, was auch für die Küstendouglasie gilt, mit Ausnahme des südlichen Vorkommens. In Kalifornien werden 25 °C als mittlere Julitemperatur erreicht. Die südliche Inlandsdouglasie wächst unter vergleichbaren Temperaturbedingungen, wie die südliche Küstendouglasie, während die nördliche Inlandsform mit Julitemperaturen von unter 15 °C auskommen muß. Innerhalb der Campbell-Gruppe sorgt der maritime bis hypermaritime Einfluß nördlich des Alberni Inlet für vergleichsweise kühle Sommer, wobei die Leeseite der Insel ein günstigeres Klima aufweist, so daß dort eine separate biogeoklimatologische Zone ausgeschieden wird (KLINKA et al. 1984). Insofern ist die simplifizierte Abgrenzung zum nördlichen Küstenökotyp auf der Basis der Einstrahlungsgrenze von 550 ly /d (Abb. A.I-10) nicht befriedigend und bedarf näherer Untersuchungen mit einer vergrößerten Zahl an Stichproben. Der Ökotyp vom Queen Charlotte Sound ist, wie die nördliche Inlandsdouglasie, im Sommer kühlen Durchschnittstemperaturen von unter 15 °C ausgesetzt, sieht man einmal von lokalen Wärmeinseln ab. Das einstrahlungsbedingte, sommerliche Wärmedefizit in diesen Breiten kann als einer der wichtigsten der begrenzenden Faktoren für die Ausbreitung der Douglasie gesehen werden. Bereits weiter südlich, auf Vancouver Island, wo die Nebelbildung in der Straße von Juan de Fuca dies noch verstärkt, verliert die Douglasie dadurch erheblich an Konkurrenzkraft gegen-

über der *Picea sitchensis*, welche jene Waldgesellschaften prägt. Ferner ist dies der Grund für das augenblickliche Fehlen der Douglasie auf den Queen Charlotte Inseln.

Damit fallen die Arealgrenzen der in vorliegender Arbeit unterschiedenen Ökotypen mit wichtigen Grenzlinien meteorologischer Parameter zusammen, welche eine Erklärung für das rezente Vorkommen der Douglasie bieten und die getroffene Unterscheidung von Ökotypen unterstützt. Ferner bieten die meteorologischen Parameter Erklärungsmöglichkeiten für den beobachteten Genfluß zwischen den nördlichen Ökotypen der Küstendouglasie und der nördlichen Inlandsform. Allerdings können die gefundenen Referenzstrukturen nicht alleine mit der Anpassung an das Klima erklärt werden, ansonsten müßten Kline ausnahmslos über das Gesamtareal hinweg nachweisbar sein. Die Variation allelischer Strukturen am Genort 6-PGDH-A beispielsweise, deutet eher auf mehrere erdgeschichtliche Refugien, von denen aus die wiederholte Besiedelung des Areals erfolgte.

FROTHIGHAM (1909) hat übrigens für das Bedürfnis der Douglasie nach Wärme und Feuchtigkeit bislang die treffendste Beschreibung herausgearbeitet: Im Südwesten der USA und in Nordmexiko, wo Niederschläge mangeln, findet sie sich auf schattigen Nordhängen, während sie sich im nebel- und niederschlagsreichen Norden des Verbreitungsgebietes oder in größeren Höhenlagen auf den sonnigen Südhängen einstellt.

Paläontologische Aspekte:

Entstehung, Eiszeitrefugien und Ausbreitungsgeschwindigkeit

Die Entwicklungsgeschichte der Douglasie wurde in der Vergangenheit mehrfach synoptisch beleuchtet (HERMANN 1981, HERMANN 1985b): Die Entstehung der Gattung ist nicht geklärt. Heute werden zwei Arten in Nordamerika sowie bis zu fünf in Asien unterschieden. Fossilfunde belegen das Vorkommen bereits im Eozän in Gebieten von B.C., Nevada und Idaho. Der als *Pseudotsuga sonomensis* bezeichnete Vorläufer von *Pseudotsuga menziesii* hatte bereits große Ähnlichkeiten mit der heutigen Art. Die tertiäre Flora beherbergte allerdings weitere Arten der Gattung *Pseudotsuga*: ein als *Pseudotsuga longifolia* beschriebener Fund (Miozän) aus dem südlichen Idaho (AXELROD 1964), belegt das Vorkommen einer der heute in China lebenden *P. forestii* ähnlichen Art. Ferner ist aus dem südlichen Californien das Auftreten eines Vorläufers von *P. macrocarpa* im späten Pliozän (*P. prae-macrocarpa*) bekannt (AXELROD 1950). Gegen Ende des Miozäns war die Douglasie entlang der Küste von Alaska im Norden bis Kalifornien im Süden und vom Columbia Plateau bis nach Nevada im Landesinneren an den Birken-Kiefernwäldern, den Fichten-Zedernwäldern, den Fichten-Zedern-Eichenwäldern und den Hickory-Eichen-Buchenwäldern als Nebenbaumart beteiligt. Lediglich im zentralkalifornischen Quercus-Arbutus-Waldtyp fehlte sie im Gegensatz zu den Kiefern. Nachdem Fossilfunde aus dem östlichen Nordamerika bislang nicht bekannt wurden (zur Übersicht vgl. Hermann 1985b), muß zunächst festgehalten werden, daß Asien und das westliche Nordamerika den Schwerpunkt der Verbreitung dieser Gattung bereits zum Ende des Tertiärs bildete. Ein wiederholter Austausch von Arten über die Beringstraße in wärmeren Epochen kann folglich für die Gattung *Pseudotsuga* nicht ausgeschlossen werden. Wie bereits HERMANN (1981, S. 204, 205) betont, zeigen sowohl die rezenten asiatischen Arten als auch *P. macrocarpa* ähnliche Eigenschaften wie die tertiären Vertreter der Gattung: sie kommen zumeist eingesprengt in Waldgesellschaften vor und verfügen über relativ kleine Areale. In Verbindung mit karyologischen Untersuchungen (z.B. LIVINGSTON 1971) wird dies als Hinweis auf eine erst kurze Zeit zurückliegende Entstehung von *Pseudotsuga menziesii* gewertet, die als einzige Art über einen haploiden Chromosomensatz von 13 verfügt statt 12 bei den übrigen Arten (zur Übersicht vgl. HERMANN

1981). Analysen, durchgeführt mittels molekularer Marker, kommen zu dem Schluß, *P. japonica* wäre am nächsten mit den nordamerikanischen Arten verwandt, wobei ein deutlicher Abstand zu den übrigen asiatischen Vertretern festgestellt werden konnte (STRAUSS et al. 1990).

Der Interpretation einer Entstehung der Gattung in Nordamerika (STRAUSS et al. 1990) wird jedoch an dieser Stelle zunächst unter Hinweis auf die verbliebene, größere Artenvielfalt in Asien, unter Hinweis auf den eingeschränkten methodischen Ansatz von STRAUSS und Kollegen mit nur einem Vergleichsobjekt aus der Gattung *Larix* sowie unter Hinweis auf die bislang geringe Anzahl paläontologischer Studien aus China¹⁰⁸ entgegengetreten.

Aus pollenanalytischen Befunden kann abgeleitet werden, daß *Pseudotsuga menziesii* gegen Ende des Pleistozäns zu einer dominierenden Rolle in den Wäldern Nordamerikas gewechselt hatte (zur Übersicht vgl. HERMANN 1981, HERMANN 1985), wobei regionale Klimaausbildungen nicht ohne Einfluß waren. Während der Eiszeiten führten extreme Klimaschwankungen zu wiederholten und ausgeprägten Schrumpfungen und Ausdehnungen des Areal. Als Refugien während der letzten Eiszeit, der Wisconsin-Eiszeit, gelten i.A. zwei getrennte Gebiete (HALLIDAY & BROWN 1943): eines im Bereich der Pazifik-Küste, das von Tsukada im Bereich des Willamette-Tales angesiedelt wird (TSUKADA 1982), sowie eines in den südlichen Rocky Mountains. Tatsächlich belegen Analysen von fossilen Nestern der Packratte (*Neotoma ssp.*), eine Gegenwart der Douglasie gegen Ende des Pleistozäns bis zu 18.000 Jahre zurück. Im Bereich der Küste erlaubt es die Pollenanalyse, die Ausbreitung der Douglasie nach der Eiszeit zu verfolgen. Ein Beispiel ist u.A. die Rückwanderung nach Norden in die Puget-Tiefenebene, wobei für die Strecke vom Mineral Lake im Süden Washingtons (46° 44' N, 122° 12' W) bis zur Umgebung von Bellingham im Norden (48° 47' N, 122° 07' W) nur eine Zeitspanne von 550 Jahren benötigt wurde (TSUKADA 1982). Bei einer Entfernung von grob 142,9 Meilen bzw. 230 km bedeutet dies eine Wandergeschwindigkeit von 418 m pro Jahr. Geht man jedoch von einem Mannbarkeitsalter von 40 Jahren aus, würde dies etwa 14 Generationen zu Folge haben, welche Distanzen, sogenannte Verbreitungssprünge (LANG 1994), von durchschnittlich 16,4 km zu überwinden hätten, wogegen nach durchschnittlichen Kriterien betreffend Windgeschwindigkeit und Baumhöhe eine Windverbreitung des Samens (rezenter Verbreitungssprung) bei der Douglasie mit etwa 140 m angenommen werden kann (vgl. ROHMEDEK 1972). Darüberhinaus ist bei einer heute vorherrschenden Windströmungen aus Südost im Januar bzw. aus Nordwest im Juli (COURT 1974) kaum eine kontinuierliche Süd-Nord Windrichtung beim Rückzug des Eises anzunehmen. In Anlehnung an die allgemeinen Regeln der Paläontologie (LANG 1994) bleibt unter Berücksichtigung dieser Faktoren kein anderer Schluß möglich, als daß sowohl Zoochorie als auch verstreute Waldreste aus der letzten Zwischeneiszeit eine derart rasche und flächendeckende Besiedelung trotz Waldbrände oder anderer Katastrophen ermöglichte! Tatsächlich gehen jüngere Interpretationen von einer subalpinen Tundra aus, welche sich selbst in der Zeit der größten Eisausdehnung bis in die Puget-Tiefenebene erstreckte (MacDONALD et al. 1998, S. 129). Die vielstrapazierte Windverbreitung von Pollen und Samen bei der Ausbildung von Ökotypen muß vor diesem Hintergrund künftig sehr viel differenzierter betrachtet werden! Dies gilt auch und besonders für die Wiederbesiedelung des Areal der nördlichen Inlandsdouglasie, welches nördlich des 47° Breitengrades unter einer geschlossenen Eisdecke während der Fräservereisung lag. Am Ostrand des Kordillieren-Gletschers können in den weniger ausgedehnt vereisten kanadischen Rocky Mountains in geschützten Lagen vereinzelte Refugien angenommen werden, wie das frühe Auftreten der Douglasie vor etwa 11.000 Jahren im Tal des Kootenaiflusses (B.C. / Montana) beweist (MACK et al. 1983). Die von HERMANN (1985b) zusammengetragenen Literaturstellen erlauben außerdem den Schluß, daß sowohl die Nordspitze der Insel Vancouver als auch die gegenüberliegende Küste erst spät von der Douglasie

¹⁰⁸ Wie die Übersichtsarbeiten von KREMENETZKI et al. (1998) zeigen, beginnen die entsprechenden Studien in China erst zur Mitte der 80er Jahre. Hier müssen weitere Untersuchungen abgewartet werden. Der Größe des Gebietes entsprechend käme jede andere Interpretation einem Schluß "ex silentio" gleich!

besiedelt werden. Das gleiche gilt für die Region östlich des Okanogan River in Zentral-Washington, in welcher die Douglasie erst vor etwa 5000 Jahren Bedeutung bei der Bestandesbildung erlangte, während das benachbarte, nördliche Idaho bereits 3000 Jahre früher erreicht wird (zur Übersicht vgl. HERMANN 1985b, S. 18).

Vor diesem Hintergrund können die einzelnen Ökotypen, welche mit Hilfe der Isozymanalyse aus-
scheiden worden sind, weitgehend als das Ergebnis der post-glazialen Rückwanderung erläutert werden. Das hohe Niveau genetischer Variation¹⁰⁹ des zentralen Küstenökotypes (Nr. 6) ist im Einklang mit der paläontologischen Interpretation vom eiszeitlichen Refugium während des Pleistozän. Hier findet sich auch die größte Zahl unterschiedlicher Allele an den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Genloci. Die im Vergleich hierzu leicht niedrigere genetische Variation des nördlichen Küstenökotypes (Nr. 7) erklärt sich mit der frühen Ausbreitung im Anschluß an die Vereisung. Die Zahl der beobachteten Allele nimmt leicht ab, stärker jedoch die Häufigkeiten einiger Allele, was zu einer tendentiellen Verstärkung von Minorpolymorphismen führt (z.B. 6-PGDH-A, SKDH-B, IDH). Es ist nicht auszuschließen, daß das Einholen verstreuter Einzelvorkommen durch die sich ausbreitenden Waldformationen nach der Eiszeit im nördlichen Küstenabschnitt lokal zu Introgressionen geführt hat, die die leistungsfähigen Provenienzen letztlich durch Hybridisierung geformt hat (z.B. Tab. 5-13: S16 Pe Ell, Tab. 5-14: K07 Humptulips). Dies wäre insofern schlüssig, als daß Provenienzen aus dem zentralen Küstenabschnitt i.A. schwach streuende metrische Merkmale aufweisen, die sich auf mittlerem (Willamette-Tal) bis hohem Vergleichsniveau (Küstengebirge) bewegen, während im Bereich von Washington starke Streuungen auf überdurchschnittlichem Merkmalsniveau beobachtet werden (z.B. SCHÖBER et al. 1984).

Am deutlichsten ist der Verlust genetischer Variation in der Campbell-Gruppe, was zweifelsohne eine Folge des paläontologisch belegten späten Vorstoßes der Küstendouglasie nach Norden ist in einen Raum, der eben keine Relikt-vorkommen aufwies. Der Grund für den späten Vorstoß ist hauptsächlich in einer Klimamodifikation vor etwa 7000 Jahren (vgl. HERMANN 1985b, S. 19) zu suchen. Nicht nur anhand genetischer Parameter sondern auch in den Referenzstrukturen ist der Ausbreitungseffekt ablesbar: die Minorpolymorphismen verstärken sich weiter (z.B. AMP-A, SKDH-B). Um Aussagen über Anpassungseffekte in den allelischen Strukturen machen zu können, scheint die Zahl der Stichproben und deren Größe deshalb nicht ausreichend, weil der Beweis an den seltenen Allelen unter Ausschluß des häufigen zu führen wäre. Schließlich werden bei einer Ausdehnung theoretisch, wie bei bunten Perlen auf einem Gummiband, die seltenen für eine bestimmte Maßeinheit prozentual noch seltener, die Häufigkeit der häufigen nimmt jedoch prozentual zu.

Auch die geringe genetische Variation der nördlichen Inlandsdouglasie muß auf Ausdehnung auf ein Areal zurückgeführt werden, das während der letzten Eiszeit, der Wisconsin-Vereisung, nahezu vollständig mit Eis bedeckt war. Die allelischen Strukturen der Populationen aus dem südöstlichen B.C. und Montana am Genort 6-PGDH-A, die fallweise alle vier wichtigen Allele zeigen (Abb. 5-34), weisen auf eiszeitliche Refugien, was ebenfalls mit paläontologischen Befunden einer raschen Besiedelung der kanadischen Rocky Mountains aus östlicher Richtung übereinstimmt.

Die extrem niedrige genetische Variation im Genpool der südlichen Inlandsdouglasie, die gleichzeitig mit der Konservierung der wichtigen Allele am Genort 6-PGDH-A und mit unerwartet deutlich minorpolymorphen Strukturen am Genort GOT-B in ihrem rezenten Hauptvorkommen überrascht, muß mit der aktuellen Zersplitterung eines während der Eiszeiten größeren Areals erklärt werden (zur Übersicht vgl. HERMANN 1985b). Allerdings deuten die Referenzstrukturen auf eine lange zurückliegende Isolati-

¹⁰⁹ vgl. Kap. 5.2.

on, die in weiten Teilen zur Fixierung in den allelischen Strukturen geführt hat. Während des Pleistozän war sie offensichtlich durch die Vereisung im Bereich des Yellowstone-Parks im Norden sowie durch die Ausbildung des Bonneville-Sees im Westen am Kontakt zu den anderen Douglasienformen gehindert (HERMANN 1981).

Das Übergangsgebiet im Bereich des östlichen Oregon zeigt im Referenzvektor deutlich den intermediären Charakter zwischen der Küstendouglasie und der nördlichen Inlandsdouglasie, der bereits von LI & ADAMS (1989) mittels Isozymgenmarker gefunden worden war. Verwirrend bleibt die offenkundige Ähnlichkeit des Referenzvektors zu dem des Ökotypes vom Queen Charlotte Sound. Da bislang erst wenige paläontologische Studien aus dem östlichen Oregon und vom kontinentalen Küstensockel bislang selten vorliegen, kann zunächst nur für die Blauen Berge festgehalten werden, daß unmittelbar nach dem Rückzug des Eises die Douglasie "nicht reichlich" (HERMANN 1985b) dort vorhanden war. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß beide Ökotypen die Reste einer alten Kontaktzone zwischen der nördlichen Inlandsdouglasie und der Küstendouglasie darstellen, welche im Bereich der Campbell-Gruppe während der Wisconsinvereisung ausgelöscht worden war. Ein Überleben des Queen Charlotte Sound Ökotypes im Bereich des in den Glazialperioden wasserfreien Küstensockels sowie des Ökotypes aus den Blauen Bergen im geschützten Hügelland des Columbia bzw. Clearwater ist durchaus vorstellbar. Ähnliche Überlegungen gibt es für das rasche Auftreten von *Pinus contorta* nach der letzten Vereisung (MacDONALD et al. 1998)

Offen bleibt an dieser Stelle ferner die Frage, welches Tier für eine so rasche Ausbreitung der Douglasie sorgen konnte. Die verschiedenen Squirrel-Arten, welche auch heute noch wichtige Glieder im Ökosystem der nordwestamerikanischen Wälder darstellen, kommen dafür nicht in Frage, da deren Aktionsradius lediglich etwa 50-100 m (Bsp.: *Tamiasciurus hudsonicus*) beträgt (LANNER 1998).

Ornithologische Aspekte: Evolution, Zoochorie und Mutualismus

Die Fähigkeit, Lebensräume neu oder erneut zu erschließen, gehört allgemein zu den wesentlichen Überlebensmechanismen von Populationen. Bei dem größten Teil mitteleuropäischer Baumarten steht dabei die Verbreitung des Samens durch Wind im Vordergrund (ROHMEDER 1972). Trotz unterschiedlicher anatomischer Besonderheiten bei einzelnen Baum-Gattungen liefert jedoch die Flugweite des Samens alleine oft keine schlüssige Erklärung für die jeweilige Rückwanderungsgeschwindigkeit nach den Eiszeiten. Das komplizierte Zusammenspiel unterschiedlicher Tierarten beim Konkurrenzkampf um Samen als Nahrungsquelle bietet nicht selten die Erklärung für eine rasche Wiederansiedlungen von Baumarten. Besonders auffällig wird dieser bei Sukzessionsstudien, etwa nach Katastrophen. Die sogenannte Ausbreitungsbiologie gewinnt in den vergangenen Jahren wieder deutlich an Interesse (STIMM & BÖSWALD 1994). Wie vielfältig die Nahrungskette dabei sein kann, zeigen Studien in Nordamerika an *Pinus albicaulis*, wo der amerikanische Zirbenhäher (Clark's Nutcracker: *Nucifraga columbiana*) sowie eine Squirrel-Art um das Anlegen von Vorräten konkurrieren. Nicht weniger als 11 Vogelarten und 9 Säugetierarten¹¹⁰, sind zwischenzeitlich bekannt, welche diese Vorräte als Nahrungsquelle plündern und damit eine mögliche Verjüngung der Whitebark Pine (*Pinus albicaulis*) ausschalten können (McCAUGHEY 1994). Dennoch wird die Zoochorie als eine mindestens ebenso wirksame Ausbreitungsstrategie angesehen als die reine Anemochorie (MATTES 1994). Für die Kiefernarten gibt es zahlreiche Studien welche eine z.T. anhaltende Evolution von der Anemochorie hin zur Zoochorie belegen (zur

¹¹⁰ darunter *Ursus americanus* !

Übersicht vgl. MATTES 1994). Vergleicht man Arealgrößen mit Ausbreitungsstrategien, so zeigt sich für bestimmte Kiefernarten sogar ein Mutualismus. Ein Zusammenspiel mit einer Tierart also, welches für beide Partner von Vorteil ist und beider Fitness erhöht (BOUCHER 1982). Eines der Paradebeispiele hierfür ist Clark's Nutcracker (*Nucifraga columbiana*), bei welchem von einer Koevolution mit *Pinus albicaulis* (Whitebark Pine) ausgegangen wird (VANDER WALL 1990). Gemeinhin wird ferner angenommen, daß der erfolgreiche Vogel inzwischen seine Nahrungsgewohnheiten auf alle anderen flügellosen Kiefernarten in seinem Verbreitungsgebiet angewandt hat und sein Areal daher weit über das Areal von *Pinus albicaulis* ausdehnen konnte (VANDER WALL 1990 zit. n. STIMM & BÖSWALD 1994). Eine solche, statische Betrachtungsweise ist wenig schlüssig, denn sie setzt voraus, daß das Areal von *Pinus albicaulis* unverändert geblieben ist. Tatsächlich jedoch hat *P. albicaulis* heute ihre größte Verbreitung (SCHÜTT 1997) im subalpinen Zonen in den Rocky Mountains von B.C und östlich der kontinentalen Wasserscheide in Alberta (Canada), in einem Gebiet also, welches noch in der Fraser-Vereisung¹¹¹ mit Gletschern bedeckt war (ARMSTRONG et al 1965, RICHMOND 1965 zit. n. Hermann 1985, MEHRINGER et al. 1977). Die Dynamik der Ausbreitung und Schrumpfung von Arealen während der unterschiedlichen Eiszeiten, sowie die Fähigkeit unter extremen Klimabedingungen initiale Bodentypen zu besiedeln, führt zu der Überlegung, daß *Pinus albicaulis* in den Nacheiszeiten rasch (Zoochorie!) ein großes Terrain erobern konnte, in welches andere, anspruchsvollere Baumarten später erst eingewandert sind. So muß *Pinus albicaulis* heute im östlichen Teil ihres Verbreitungsgebietes mit *Pinus contorta* konkurrieren, im Nordwesten drängen *Abies lasiocarpa* (Subalpine fir) und *Tsuga mertensiana* nach (vgl. SCHÜTT 1997). Natürlich wiederkehrende Bodenfeuer¹¹² erlauben hier der feuerangepassten Whitebark Pine das überleben, indem der Unterstand aus *Abies lasiocarpa* ausgelöscht wird (ARNO & PETERSEN 1983). Auch auf den Freiflächen nach großen Bränden findet sie im Konkurrenzkampf mit Subalpine Fir, *Picea engelmannii* und *Pinus contorta* Verjüngungsvorteile, wie Untersuchungen aus Montana zeigen (TOMBACK 1994). Daraus bleibt zu folgern, daß die heutige Verbreitung von *Pinus albicaulis* der Rest eines ehemals großen Gebietes darstellt, in welchem sie auf Sonderstandorte, nicht selten an der oberen Waldgrenze, zurückgedrängt wurde. Ferner folgt daraus, daß der amerikanische Zirbenhäher durch die stetige Abnahme einer ehemals bedeutenden Nahrungsquelle, seine Nahrungssuche auf andere Kiefernarten umstellen mußte. Diese Hypothese wird unterstützt von der Tatsache, daß heute neben den übrigen großfrüchtigen Kiefern, wie *P. edulis* (Colorado Pinyon), *P. monophylla* (Singleleaf Pinyon) und *P. flexilis* (Limber Pine) auch *Pinus ponderosa* zu seinem Nahrungsspektrum gehört (GOODWIN 1976). Letztere gehört zu den Kiefernarten mit geflügeltem Samen, und das Gewicht entspricht nur etwa einem fünftel des Samens von *P. albicaulis* (YOUNG & YOUNG 1992). *Pinus ponderosa* gehört heute zu den forstlichen Baumarten mit der größten Verbreitung im westlichen Nordamerika (FOWELLS 1965), das Areal "überlappt" weitgehend das der *Pinus albicaulis*, lediglich im Inlandbereich reicht *P. ponderosa* wesentlich weiter nach Süden als *P. albicaulis* oder *P. edulis*. Im Norden besiedelt *P. ponderosa* allerdings derzeit nur das Fraser Plateau und kann *P. albicaulis* nicht weiter nach Norden folgen. Fügt man die Verbreitungskarten der Kiefern (vgl. MIROV 1967, HAWKSWORTH 1995) aus dem Nahrungsspektrum von Clark's Nutcracker zusammen, so ergeben sich zunächst zwei nahezu ununterbrochene, breite Streifen, welche ein umgekehrtes "V" bilden und im wesentlichen die Küstengebirgszüge sowie die Rocky Mountains im Landesinneren umfassen. Das innere dieses Dreieckes ist gefüllt: hier im Südwesten der USA kommen *Pinus edulis* und *Pinus monophylla* an der unteren Waldgrenze im Übergang zu xeromorphen Strauchformationen vor (vgl. MIROV 1967, HAWKSWORTH 1995). Insgesamt steht von August bis Oktober eine Palette an Nahrungsquellen für den Kiefernhäher zur Verfügung. Die Frage, wieweit dieses Areal zu einem bestimmten Zeitpunkt in der unmittelbaren Nacheiszeit umfassender, zumindest aber weiträumig zerstreut, von *Pinus albicaulis* besiedelt worden war, muß zunächst offen bleiben.

¹¹¹ Dauer: 28.000 bis 10.000 B.P.

¹¹² Abstand der Feuerereignisse 50- 300 Jahre (ARNO & PETERSEN 1983).

Unter der großen Zahl an Hähler-Arten, welche für die Verbreitung von Koniferensaatgut im nördlichen Amerika in Frage kommen, haben drei deckungsgleiche Areale bzw. kommen in den gleichen Vegetationseinheiten vor, wie die Douglasie: Es sind dies der oben erwähnte amerikanische Zirbenhäher (Clark's Nutcracker: *Nucifraga columbiana*), der Piñon-Häher (Pinyon Jay, *Gymnorhinus cyanocephalus*) und der Diademhäher (Steller's Jay, *Cyanocitta stelleri*). Das Verhalten der beiden erstgenannten Arten bei der Verbreitung schwerfrüchtiger Kiefernarten war in den zurückliegenden Jahren Gegenstand intensiver Forschungen (zur Übersicht vgl. LANNER 1998). Der kanadische Meisenhäher (Grey Jay, *Perisoreus canadensis*) wird nachfolgend nicht näher behandelt, weil er Nahrungsvorräte in Baumkronen versteckt (GOODWIN 1976) und daher keine aktive Saat bei seinen Nahrungspflanzen betreibt. Der in xeromorpher Strauchvegetation lebende Buschhäher (Scrub Jay, *Aphelocoma coerulescens*) bleibt außer Betracht, weil er mit Insekten, Invertebraten und großfrüchtigen Beeren oder Samen andere Nahrungspräferenzen hat (vgl. GOODWIN 1976), auch wenn eine Unterart bei Kiefern der Subsektion *Cembroides* für die Verbreitung des Samens von Bedeutung ist (vgl. LANNER 1998).

Hähler sind bekanntlich omnivor und legen Vorräte an. Die Nahrungspalette reicht von Insekten, Wirbellosen, Sämereien, Beeren, Samen der Waldbäume bis hin zur aktiven Jagd auf kleine Wirbeltiere bzw. Eier und Junge Wirbeltiere oder der Aufnahme von Aas (vgl. GOODWIN 1976). Die amerikanischen Hähler weichen hiervon nicht ab, wenn auch artspezifisch unterschiedliche Nahrungspräferenzen entwickelt wurden¹¹³:

Der amerikanische Zirbenhäher (*Nucifraga columbiana*), hat sein Hauptverbreitungsgebiet in den Rocky Mountains von British Columbia im Norden bis zu deren südwestlichste Ausläufer an der Grenze zu Mexiko im Süden (Abb. 5-39). Er lebt normalerweise in Paaren oder kleinen Gruppen. Große Gruppen finden sich an Nahrungsquellen oder zu Wanderungen zusammen. Auf seinen Wanderzügen bei Nahrungsknappheit stößt er bis Alaska im Norden, Manitoba im Nordosten, Kansas und Süd-Dakota im Osten, Arizona im Süden sowie an die Pazifik-Küste in Washington und B.C. vor. Koniferensamen allgemein, besonders aber die oben genannten Arten werden zu seinen Nahrungspräferenzen gezählt (GOODWIN 1976, LANNER 1996). Bei Samen von *Pinus albicaulis* wurden Transporte bis zu einer Distanz von 22 km festgestellt (VANDER WALL 1990). Die Maximalkapazität der Samenaufnahme beträgt auf Grund anatomischer Besonderheiten¹¹⁴ 90 Stück! Die Nahrungssuche außerhalb des Brutterritoriums ist ebenso charakteristisch für sein Verhalten, wie die fallweise weiten Wanderzüge.

Beim Diademhäher (Steller's Jay: *Cyanocitta stelleri*) wird eine Vielzahl unterschiedlicher Rassen beschrieben, welche in getrennten Teilarealen leben. Bei überlappenden Arealen finden sich die Unterarten in getrennten Vegetationstypen, in den jeweiligen Kontaktzonen werden Zwischenformen beobachtet. In Abbildung 5-40 werden die Hauptverbreitungsgebiete einer Auswahl von fünf Unterarten schematisch dargestellt, welche im Areal der Douglasie vorkommen. Hiervon ist *C.s. carlottae* der größte Vertreter, fast so groß wie der europäische Eichelhäher. Sein Vorkommen ist auf die Queen Charlotte Inseln beschränkt. Die namensgebende Unterart *C.s. stelleri* kommt im Bereich der Küstendouglasie vor, d.h. vom Willamette-Tal im Süden bis zur Kaskadenkammlinie im Osten und Alaska im Norden! Im Bereich der nördlichen Inlandsdouglasie findet sich *C.s. annectens*, der sich nur in wenigen Charakteristika von *C.s. stelleri* unterscheidet. Die südlichen Vertreter dieser Art wirken insgesamt bunter im Farbleid, als ihre nördlichen Verwandten. Abweichenden Juvenilformen der südlichen Vertreter weisen auf eine unterschiedliche Abstammung hin. *C.s. frontalis* gehört zu den kleinsten Unterarten. Er kommt in den

¹¹³ Nachfolgende Darstellung von Verhalten und Nahrungsgewohnheiten erfolgt im Anhalt an GOODWIN 1976, sofern nicht anders vermerkt.

¹¹⁴ dehnbarer Unterzungensack (VANDER WALL 1990)

Gebirgswäldern am westlichen und nördlichen Rand zum Great Basin vor. *C.s. carbonacea* (ohne Abb.) besiedelt die Küstenwälder Kaliforniens, während *C.s. macrolopha* in den südlichen Ausläufern der Rocky Mountains und den nördlichen Bergen der Sierra Madre Occidental bzw. im mexikanischen Hochplateau auftritt. Koniferensaatgut und Eicheln stellen bevorzugte Nahrungsobjekte dar, von welchen Vorräte angelegt werden. Die maximale Aufnahmekapazität beträgt bis zu 18 Samen von *P. albicaulis*, welche in der dehnbaren Speiseröhre transportiert werden (VANDER WALL 1990). Allerdings werden die Vorräte stets im Zentrum des eigenen Reviers angelegt, so daß es nur zu Verfrachtungen von lokaler Bedeutung kommt. Der Diademhäher kommt in Nadelwäldern, Mischwäldern und Laubwäldern vor, wobei er in Hochlagen vom amerikanischen Zirbenhäher und an der unteren Waldgrenze vom Pinyon Jay abgelöst wird. Bei unmittelbarer Konkurrenz weicht er anderen Häherarten aus. In dichten Waldgebieten bevorzugt der Diademhäher Waldlücken und Randgebiete (GOODWIN 1976).

Der Piñon-Häher (Pinyon Jay, *Gymnorhinus cyanocephalus*) ist in seiner Größe mit dem Diademhäher vergleichbar, er zeigt jedoch die Proportionen eines Nußhähers. Anatomisch fehlt im der Unterzungensack der Nußhäher, die Speiseröhre ist wie bei den übrigen Häherarten dehnbar und hat mit bis zu 50 Samen von *Pinus albicaulis* (VANDER WALL 1990) eine erheblich größere Speicherkapazität als etwa die Diademhäher. Sein Areal umfaßt den Südwesten der USA, von den Blue Mountains in Oregon bzw. dem östlichen Montana im Norden bis zu den südlichen Ausläufern der Rocky Mountains bzw dem nördlichen Baja California in Mexico (Abb. 5-39). Die Westgrenze findet sich in Zentral-Kalifornien. Der Pinyon Jay lebt in Gruppen bis zu 250 Vögeln, welche beständig in ihrem bis zu 21 km² großen Revier umherziehen. *Pinus edulis* und *P. monophylla* (vgl. LANNER 1998), die Piñon Pines, sind die bevorzugte Nahrung. Daneben werden *Pinus scopulorum*, *Pinus ponderosa* sowie weitere Koniferen aufgenommen. Bei Nahrungsknappheit werden weite Wanderungen bis nach Zentral-Washington, Nord-Idaho, in das Great Basin, nach Südwest-Kalifornien sowie in die mexikanische Provinz Chihuahua unternommen (GOODWIN 1976).

An dieser Stelle ist eine nähere Betrachtung der Entwicklungsgeschichte der nordamerikanischen Vogelwelt unumgänglich, wie sie bei MAYR (1997) unter Beachtung der Wegner'schen Kontinentalverschiebungstheorie dargelegt ist. Generell besteht für Paläontologen das Problem, daß die kleinen Knochen von Vögeln nur schwer gefunden werden und damit selten in Sammlungen vertreten sind. Über die Verbreitung von Vorläufern heutiger Vogelarten im Laufe der Erdgeschichte lassen sich auf Grund dieser Lücken allenfalls grobe Ideen entwickeln. Indirekte Methoden, Vergleiche der in unterschiedlichen Kontinenten auftretenden Arten, ihres Farbkleides sowie von Verhaltensmustern werden daher herangezogen um phylogenetische Abstammungsverhältnisse zu klären. MAYR gliedert die unterschiedlichen Gruppen nach ihrem vermutlichen Entstehungs-Kontinent (MAYR 1997). Die Familie der Krähenvögel in Nordamerika ordnet er einer Gruppe zu, die ihren Ursprung in der alten Welt hat, in Eurasien also. Die verschiedenen Blauhäher gelten als frühe Einwanderer in Nordamerika, die sich in einem sekundären Evolutionszentrum in Nordamerika entwickelt haben. Hierzu gehören der Diademhäher sowie der Pinyon Jay (GOODWIN 1976). Die Vertreter der Gattungen *Nucifraga* (Clark's Nutcracker) und *Perisoreus* (Grey Jay) werden als späte Einwanderer gesehen (GOODWIN 1976), welche über die Beringstraße Nordamerika erreicht haben (MAYR 1997, S. 579). Die Entwicklungsgeschichte der Häherarten in Nordamerika wird unter Ornithologen somit weitgehend übereinstimmend geschildert einzig die Einordnung des Piñon-Hähers ist alles andere als unumstritten (z.B.: GOODWIN 1976: S. 162, 261).

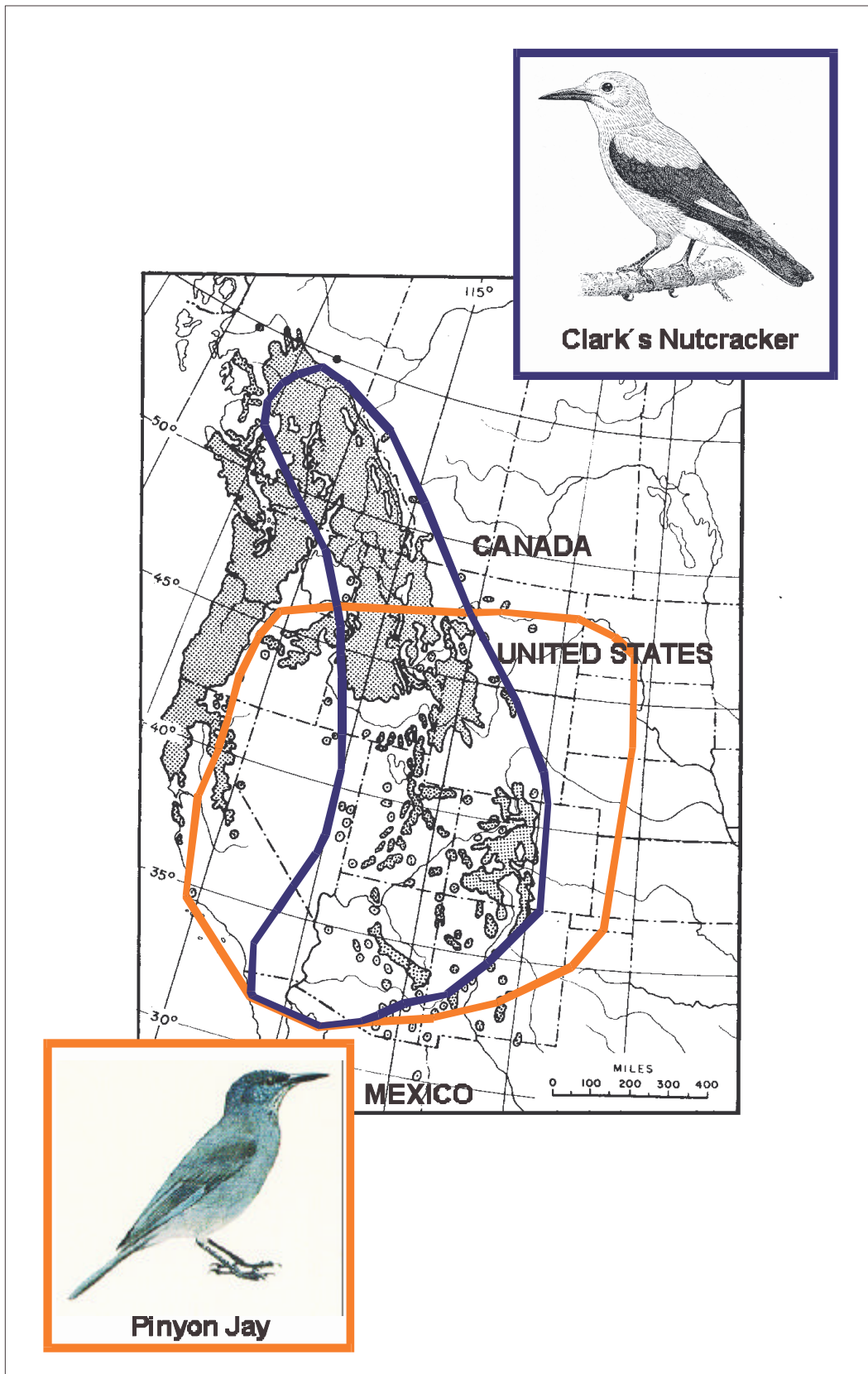


Abb. 5-39: Verbreitung von Clark's Nutcracker (*Nucifraga columbiana*) sowie Pinyon Jay (*Gymnorhinus cyanocephalus*) in Nordamerika. Darstellung schematisch nach Angaben von Goodwin 1976.

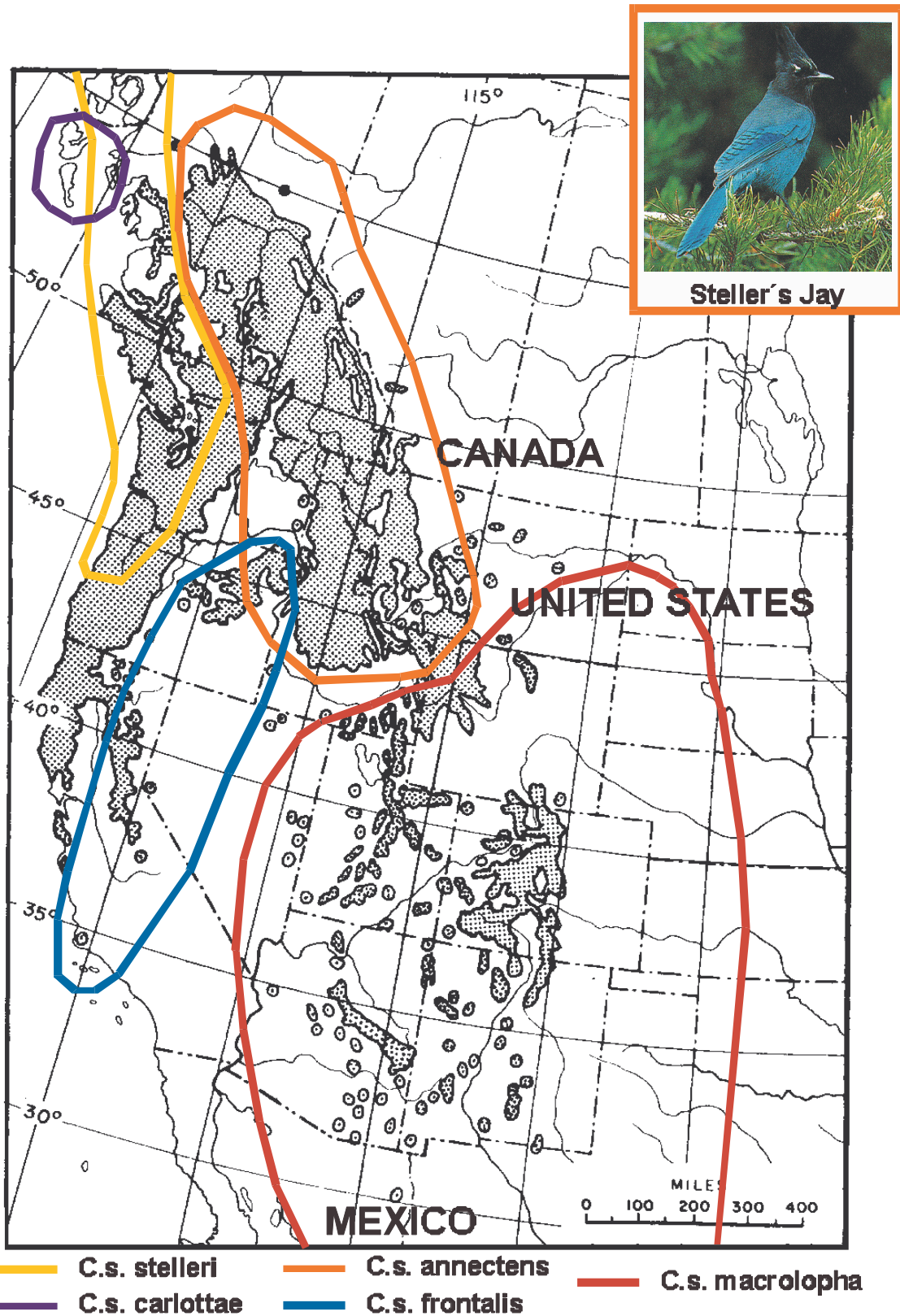


Abb. 5-40: Steller's Jay (*Cyanocitta stelleri*): Verbreitung von Unterarten im westlichen Nordamerika.

Darstellung schematisch nach Angaben von Goodwin 1976.

Wie weiter oben erläutert, gelten die Entwicklung der Kiefernarten *P. monophylla*, *P. edulis* und *P. albicaulis* in Abhängigkeit vom Nahrungsverhalten des amerikanischen Nußhäher und dem Piñon-Häher als Beispiele für Mutualismus. Es drängt sich daher die Frage auf, wie verlief die Entwicklung der Kiefern während der letzten Eiszeiten? Welche Verbindungen gibt es zur Entwicklungsgeschichte der Douglassie? Eine umfassende Darstellung hierzu findet sich bei MILLAR (1998; S. 69 ff.): Erste Spuren von Kiefern finden sich in der frühen Kreidezeit und bereits zum Ende jenes Erdzeitalters kann man auf Grund von Fossilfunden Evolutionszentren im Nordosten der heutigen USA bzw. im Osten Asiens vermuten. Die Kiefern hatten sich hauptsächlich zwischen 31 und 50 ° N über den Kontinent Laurasia ausgebreitet. Große Seen, davon einer im Bereich der heutigen Großen Prärie, teilten den jungen Kontinent, Verhinderten weitere Ost-Westwanderungen und legten den frühen Grundstein für die größeren floristischen Ähnlichkeiten zwischen Nordwestamerika und Asien bzw. Nordostamerika und Europa als innerhalb des späteren Nordamerikas. Das Klima in dieser Zeit gilt als stabil mit Durchschnittstemperaturen, welche etwa 10-20 °C über den heutigen liegen. Eine Klimaerwärmung zu Beginn des frühen Tertiär führt zur Ausbildung eines boreotropischen Klimagürtels im Bereich zwischen 30 und 50°N. Fossilfunde über Kiefernarten aus dem Paläozän wurden bislang nicht gefunden. Erst im Eozän finden sich wieder Spuren dieser Familie, diesmal in Begleitung von Vertretern der Gattung Erle, Ulme und Birke. Nordwestamerika hatte offensichtlich, global betrachtet, die artenreichsten Pflanzengesellschaften in dieser Zeit und zwar im Bereich des heutigen B.C, Washington, Idaho und Colorado. Aus den warmfeuchten Perioden des Eozän finden sich Spuren von Kiefern in (heute) hohen nördlichen Breiten von Alaska, B.C. und Sibirien bzw. in niedrigen Breiten in Südostchina bzw. Borneo. Vor 35 Millionen Jahren schließlich, führt eine drastische Klimaverschlechterung zur Ausbildung von Jahreszeiten, die Formung der Gebirgszüge bewirkt die Differenzierung in regionale Klimate. Zu Beginn des Oligozän bilden sich erste kontinentale Gletscher und die Kiefernarten besiedeln wieder die Gebiete in (heute) mittleren Breiten zwischen 30 und 50°N, welche sie zuletzt im Mesozoikum bewohnten. Fossilfunde belegen das Vorkommen von Alaska im Norden bis Oregon im Süden entlang der Küste bzw. von Colorado bis nach Mexiko im anschließenden Landesinneren. Eine leichte Klimaverbesserung erfolgt im Übergang zum nachfolgenden Miozän. Erneut können Kiefern auch in hohe Breiten vordringen, wie Funde von Banks Island oder dem McKenzie Delta¹¹⁵ zeigen. Sie sind aber gleichzeitig in niedrigen Breiten (Mexiko) präsent. MILLAR (1998, S. 86) vermutet, daß die lange Dauer der Klimaereignisse im Eozän, zusammen mit tektonischen Ereignissen wie Vulkantätigkeit, Gebirgsfaltung und Anhebung von Schichten die Voraussetzungen für eine weitaus wirksamere Isolation von Teilpopulationen auf dem Weg zur Artbildung darstellte, als dies später im Pleistozän der Fall war. Beispiele für Eozän-Refugien, die zu sekundären Evolutionszentren wurden, sind Mexiko und Zentralamerika, wo u.A. Arten der Subsektion *Cembroides* konzentriert waren. Zu den Arten, welche über mehrere Refugien in jener Zeit verfügten, gehören u.A. diejenigen der Subsektion *Ponderosae*. Nahe Verwandte von *Pinus ponderosa* wurden in B.C. (Eozän) Washington und Montana nachgewiesen, andere in Colorado (Oligozän) und in Mexiko. Bis zum Ende des Oligozäns waren die meisten Kiefernarten weitgehend entwickelt, was nicht für die Subsektion *Cembrae* gilt. Auch wenn das Quartär mit seinen relativ kurzen Klimaschwankungen einen erheblichen Einfluß auf die Vegetation hatte, so waren, anders als im Tertiär, auf Grund der vertikalen und horizontalen Ausweichmöglichkeiten keine Artverluste für die Gattung *Pinus* in Nordamerika zu verzeichnen (MILLAR 1998).

Diese Darstellung der Entwicklung der Kiefern in Nordamerika deckt sich insofern mit den Kenntnissen über Entwicklung der Häherarten, als daß frühe, amerikanische Fossilfunde, die als derart spezialisierte Vögel interpretiert werden können, aus dem oberen Miozän stammen (LANNER 1981). Die Artbildung bei den Kiefern war also weitgehend direkt von einer Spezialisierung innerhalb der Avifauna vom

¹¹⁵ Kanada: Northwest Territories

Schadfaktor bei der Samenproduktion hin zur Symbiose mit den Nahrungslieferanten begleitet¹¹⁶. Vor diesem Hintergrund sind die beiden Arten der Gattung *Cembroides* als älter im Vergleich zu *Pinus albicaulis* einzustufen und damit erscheint die Einordnung des Pinyon Jay in der Familie der *Corvidae* in einem anderen Licht. Wertet man die freiliegenden Nasenlöcher, die die ihn von den meisten Hähern und Krähen unterscheiden (GOODWIN 1976), als Relikt aus wärmeren Perioden der Erdgeschichte und wertet man die vergleichsweise große "Speicherkapazität" der Speiseröhre (LANNER 1998) als Zwischenstadium in der Entwicklung zwischen Hähler und Nußhähler, so drängt sich der Schluß auf, es handele sich um eine frühe Form des Nußhäfers bzw. die Weiterentwicklung einer solchen Frühform, welche mit den Vorläufern der Subsection *Cembroides* in das Refugium im mexikanischen Hochland abgedrängt worden ist. Durch die Isolation hätte sich somit ein Beispiel für die fehlende Entwicklungsstufe zwischen Nußhähler und Hähler erhalten, welche *Pinus edulis* und *P. monophylla* eine entsprechende Reaktion auf Klimaschwankungen im Quartär (LANNER & VAN DEVENDER 1998) bezüglich ihres Habitats überhaupt ermöglichte und gleichzeitig wesentlich an der Selektion auf dem Weg zur Artbildung beteiligt war. Ferner kann auch sein besonderes soziales Verhalten, das Auftreten in nomadisierenden, großen Gruppen (GOODWIN 1976) nicht nur als Anpassung an den Lebensraum an der unteren Waldgrenze sondern eher als Relikt aus frühen erdgeschichtlichen Epochen gewertet werden. Schließlich neigen die bislang wenig untersuchten Laufhähler (*Podopetes*) in vergleichbaren Vegetationsformen Asiens überwiegend zur Paarbildung wie die übrigen Hählerarten. Da der oben erwähnte Fossilfund (*Miocitta galbreathi*) in Colorado der Gestalt des Pinyon Jay sehr nahe kommt (LANNER 1981), wird vorgeschlagen *Gymnorhinus cyanocephala* systematisch in einer eigenen Gattung als Vorstufe zu den Nußhäfern einzuordnen und nicht als Nebenlinie zu den amerikanischen Blauhähern zu verstehen, wie dies verschiedentlich, dann unter Hinweis auf Konvergenzkriterien im Vergleich zu den Nußhäfern, geschieht (z.B.: GOODWIN 1976: S. 6).

Beim amerikanischen Zirbenhähler herrscht Übereinstimmung, daß er als später Einwanderer über die Beringstraße Nordamerika erreicht hat (GOODWIN 1976, LANNER 1996, MAYR 1997). Es stellt sich hier die Frage, wie alt ist der Mutualismus zwischen *Pinus albicaulis* und dieser Vogelart? Es gibt wenig Fossilfunde von *Pinus albicaulis*; einer deutet auf ein Eiszeit-Refugium im Großen Becken von Nevada während des späten Pleistozän, von welchem aus die Besiedelung der Sierra Nevada erfolgt sein könnte (MacDonald et al. 1998). Pollenanalysen deuten auf ein zerstreutes Vorkommen in eisfreien Gebieten während des Pleistozän, von welchen aus die Wiederbesiedelung erfolgte. Die größte Flächenausdehnung hatte die Whitebark Pine offensichtlich im späten Holozän. Nicht immer können die Funde in befriedigender Weise von anderen Fünfnadlern getrennt werden. Grundsätzlich gilt für die Limber Pine (Subsection *Strobus*) ähnliches, ein spät-pleistozänes Vorkommen ist aus dem südlichen Alberta bekannt (MacDonald et al. 1998). In Japan hatten die Vertreter der Subsection *Cembrae* bereits zum Ende des Pleistozän ihre größte Ausdehnung (KREMENETZKI et al. 1998). *Pinus pumila* und *Pinus sibirica* verfügten über unterschiedliche Rückzugsgebiete in Asien während der Vereisungen. Ein Entstehung von *P. koraiensis* sowie der asiatischen Vertreter der Subsection *Cembroides* wird erst im Pleistozän angenommen (KREMENETZKI et al. 1998). Es kann folglich nicht ausgeschlossen werden¹¹⁷, daß Frühformen des amerikanischen Zirbenhähers die Frühformen von *Pinus albicaulis* über die Beringstraße direkt begleitet bzw. verfrachtet haben, die sich dann in der Isolation auf dem neun Kontinent zu jeweils neuen Arten entwickelt haben.

¹¹⁶ Verschiedene Modellvorstellungen sind über den möglichen Ablauf entwickelt worden: vgl. VANDER WALL & BALDA 1981, TOMBACK & LINHARD 1990 oder LANNER 1996 (S. 107 ff.).

¹¹⁷ Andere Autoren führen die jeweils größere Zahl an Arten bzw. Formen der Nußhähler in Eurasien (z.B. GOODWIN 1976) oder Arten der Subsection *Cembra* in Eurasien als Hinweis auf einen jeweiligen Ursprung sowohl des Vogels als auch der Baumart in Asien an (zur Übersicht: vgl. LANNER 1996)

Nach MAYR (1997, S. 583) können Wanderbewegungen von Vögeln als Verhaltensrelikte gewertet werden, durch welche erdgeschichtlich frühere Refugien temporär aufgesucht oder verlassen werden. Tatsächlich führt *Nucifraga columbiana* heute noch Wanderzüge nach Alaska im Norden bzw. Washington oder Kalifornien im Westen durch. Anders hingegen *Gymnorhinus cyanocephala* der sich nomadisierend in seinem lange angestammten Areal im Südwesten Nordamerikas bewegt. Offensichtlich hat dieser bereits im Pleistozän die hier verstreuten Restpopulationen der Kiefern als Nahrungsquellen aufgesucht, deren Wanderbewegung zwischen den Eiszeiten beschleunigt bzw. überhaupt erst ermöglicht. Dabei hat er neben dem Abweichenden sozialen Verhalten auch die Fähigkeit des Laufens (GOODWIN 1976) in Anpassung an die Nahrungsaufnahme von Insekten am Boden erlernt. Dies unterscheidet ihn von den übrigen, hüpfenden Hähern. Beobachtungen, wonach zwischenzeitlich auch der amerikanische Zirbenhäher in seinem südlichen Kernareal dieses Verhalten vereinzelt zeigt (GOODWIN 1976) müssen dann als beginnende Anpassung und damit als Beleg für ein erst kurze Zeit zurückliegendes Vordringen in die südlichen Ausläufer der Rockies gewertet werden, wo er mit dem Pinyon Jay um die Nahrungsquellen konkurriert. Das heutige Kerngebiet von *Nucifraga columbiana* in den Rocky Mountains ist nicht nur als Ergebnis des Mutualismus mit der amerikanischen Zirbe zu verstehen, wie vielfach angenommen (z.B. LANNER 1996). Vielmehr scheint durch die Wahl der Rocky Mountains eher die junge Abstammung von den Nußhähern aus den borealen Gebieten Eurasiens hier ihren Ausdruck zu finden, was durch die offensichtlich langsame Gewöhnung an die großfrüchtigen Kiefernarten der Subsektion *Cembroides* und die Ausdehnung seines Kernareals nach Süden belegt wird. Betrachtet man die heutige Verbreitung von *Pinus albicaulis* mit ihrem Schwerpunkt in den Rocky Mountains (SCHÜTT 1997), so folgt daraus, daß die Restvorkommen entlang der Kaskaden u.A. deswegen kümmern, weil sie nur noch fallweise vom Zirbenhäher gepflegt werden. Auffällig ist das stabilere Vorkommen der amerikanischen Zirbe in der Sierra Nevada. Der Grund hierfür mag nicht nur in der Gebirgshöhe sondern auch in dem erdgeschichtlich alten, nicht an kleine Reviere für einzelne Brutpaare gebundenen Verhalten des Pinyon Jay liegen, welcher diese Teilpopulation offensichtlich schon zum Ende des Pleistozäns auf seinen Streifzügen gepflegt hat, worauf Pollenanalysen (s.o.) hindeuten. Gleichzeitig bestätigt sich eine weitere Regel von MAYER (1997, S. 581), welche besagt, daß sich Arten, die in warmen Zonen entstanden sind, vergleichsweise größere Schwierigkeiten bei der Anpassung an gemäßigtes Klima haben, als Arten aus gemäßigten Zonen, welche in wärmere Regionen vordringen. Der Pinyon Jay bleibt, wie oben beschrieben, an der unteren Waldgrenze zur xeromorphen Buschvegetation, wo er allerdings zusammen mit den Kiefern der Subsektion *Cembroides* (LANNER & VAN DEVENDER 1998) im trockenen Klima des Great Basin stetig nach Norden vordringt.

Unter den Hähervögeln kommen ausschließlich beide genannten Arten als effiziente Ausbreitungsmedien für Koniferen auf Grund ihrer mit Abstand größten Transportkapazität und Flugleistung sowie des Wanderverhaltens bzw. des Nomadentums in Frage. Mutualismus mit Kiefernarten kann bei beiden als bewiesen gelten (vgl. LANNER 1998), beide repräsentieren jedoch, wie oben gezeigt wurde, unterschiedliche Entwicklungen, Entwicklungszeiträume und Symbiosepartner. Über das komplizierte ökologische Netzwerk, in welches die Kiefernarten und die Hähervögel eingebunden sind, wurde in der Vergangenheit viel geforscht (vgl. LANNER 1996, LANNER 1998), wobei das Hauptaugenmerk auf den großfrüchtigen Kiefernarten lag. Es wurden Theorien entwickelt, daß aufrecht stehende Zapfen an steilen Ästen leichter angenommen werden als hängende etc. Selbst wenn man das Wanderverhalten der genannten Hähernarten und die kurze Abstände der Mastjahre bei *Pinus albicaulis* und den Arten der Gattung *Cembroides* bedenkt, welche 3-5 Jahren beträgt (YOUNG & YOUNG 1992), so ergeben sich dennoch Nahrungsengpässe, die zum Zusammenbruch von Vogelpopulationen führen müßten. Auf welche Koniferenarten als speicherfähige Nahrung, neben denen der Subsektion *Cembroides*, weichen die beiden Hähern also aus und warum? Folgt man der Argumentation von LANNER (1996, S. 58), dann werden zunächst solche großfrüchtigen Kiefern aufgesucht, welche in unmittelbar benachbarten Pflanzengesell-

schaften vorkommen. In höheren Lagen gehört *Pinus jeffreyi* mit großen, geflügelten Samen ebenso zur Ausweichnahrung wie in mittleren Lagen *Pinus ponderosa* mit ihrem deutlich kleineren, geflügelten Samen. Nach LANNER (1996, S. 59) werden *Pinus monticola* oder *Pinus contorta*¹¹⁸ üblicherweise nicht ausgewählt, obwohl sie besonders im Norden des Kernareals von *Nucifraga columbiana* in der Umgebung der amerikanischen Zirbe vorkommen. Auch Tannen-, Fichten-, Hemlock- oder Lärchenarten werden nach LANNER 1996 (S. 59) nicht angenommen. Jedoch gehört die Douglasie überraschenderweise sehr wohl zum Nahrungsspektrum (LANNER 1996, S. 59, 98). Vergleicht man die Samengewichte¹¹⁹, so markiert *Pinus ponderosa* eine gewisse Mindestgröße von 26 bis 29 Samen pro Gramm. Die Douglasie, welche über mit dem Samen fest verwachsene Flügel verfügt, weist eine Kornzahl von 80 bis 96 pro Gramm auf. *Pinus contorta* hingegen weist nahezu die kleinsten Samen mit bis über 250 Samen pro Gramm auf. *Abies amabilis*, die von PETRIDES & PETRIDES (1992) als Nahrungslieferant erwähnt wird, besitzt ein Samengewicht von 25 Stück pro Gramm. *Pinus aristata*, die besonders im Great Basin ebenfalls von Clark's Nutcracker aufgesucht wird (LANNER 1996, S. 98), kommt auf ein Gewicht von 40 Stück pro Gramm (YOUNG & YOUNG 1992). Auf den ersten Blick scheint hier keine Systematik erkennbar. Allen genannten Baumarten ist nur die Reifezeit von August bis September gemein. *Abies amabilis* paßt mit violettblauen, aufrechten Zapfen und dem der *P. ponderosa* ähnlichen Korngewicht scheinbar in das von Verhaltensforschern vermutete Schema (s.o.), auf keinen Fall jedoch die Douglasie und erst recht nicht *Pinus contorta*!

Die Lösung ist nach der hier vertretenen Auffassung im Verhalten der Häher zu suchen. Sie sind zumeist neugierig und können damit neue Nahrungsquellen erschließen (GOODWIN 1976). Sie sind lernfähig und besitzen ein räumliches Orientierungs- und ein Erinnerungsvermögen (zur Übersicht vgl. LANNER 1996). Wertet man die Ergebnisse der Verhaltensforschung als Grundschemata für die Nahrungssuche von *Nucifraga columbiana*, dann kann man die Summe der Beobachtungen zu folgender Regel erweitern: Die genannten Baumarten müssen, entweder weitgehend dem Grundschemata entsprechen und über große Samen mit hohem Nährwert verfügen wie etwa *Pinus flexilis*, oder zuverlässig, weil häufig, eine letzte, erfolgversprechende Ausweichmöglichkeit bei der Nahrungssuche in der gewohnten Jahreszeit bieten oder zumindest zu früheren Zeiten geboten haben. Auf Grund ihrer mit Abstand großen Verbreitung im Nordwestlichen Amerika und auf Grund des nicht selten unmittelbaren Gesellschaftsanschlusses an Waldgesellschaften mit *Pinus albicaulis* gehören *Pinus ponderosa* und *Pseudotsuga menziesii* heute noch zum Nahrungsspektrum. *Abies amabilis* zeichnet sich durch angenehmen Geruch aus und fand daher bei den Ureinwohnern Nordamerikas unterschiedliche Verwendung (PARISH 1995). Bei *Nucifraga columbiana* ist der Geruchssinn gut entwickelt (zur Übersicht vgl. LANNER 1996), es könnte sich also um eine "Neuentdeckung" als Nahrungsquelle im nördlichen Habitat handeln. Der Schlüssel zu dieser Frage liegt allerdings bei *Pinus contorta*. Diese dominierte beispielsweise vor der letzten großen Vereisung im Bereich des Columbia Beckens im östlichen Washington und war Teil der Waldrefugien vor und während der letzten Vereisung in einem Bereich welcher sich von den Südausläufern des Olympia-Gletschers im Norden bis zum westlichen Oregon im Süden sowie über die subalpinen Tundra der Pugetsenke und des Willamette-Tales erstreckte (MacDONALD et al. 1998). Wenn LANNER (1996, S. 99) auf einen Fall hinweist, wo die Nahrungsaufnahme bei *Pinus contorta* im nördlichen Arealteil erfolgte, so bedeutet dies, daß das Wissen über diese Nahrungsquelle mit dem kleinsten Samen auch nach 25 000 Jahren nicht verloren gegangen war! Wie sonst wäre eine Präferenz gegenüber dem leicht größeren Samen der in den Wäldern von Montana ebenfalls vertretenen *Pinus monticola* zu erklären? Selbstverständlich mit der grundsätzlichen Neugier und Lernfähigkeit, wie oben erwähnt. Dagegen spricht, daß Clark's Nutcracker unter amerikanischen Forstleuten generell als "Saatguträuber" gilt, und zwar bei "der Douglasie und bei Kiefern" (EREMKO et al. 1989). In dem oben

¹¹⁸ Eine Beobachtung der Nahrungsaufnahme liegt vor: vgl. LANNER 1998, S.98

¹¹⁹ nach (YOUNG & YOUNG 1992)

genannten pleistozänen Refugium waren auch Tannenarten präsent (MacDONALD et al. 1998), womit sich eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die Nahrungswahl an *Abies amabilis* im nördlichen Kerngebiet von *Nucifraga columbiana* aufzut. Ferner bildete *Pinus contorta* zusammen mit *Picea engelmannii* und *Tsuga mertensiana* die Pinierformen der Vegetation, welche dem rückweichenden Eispanzer folgten (TSUKADA et al. 1981). Schließlich und letztlich war auch die Douglasie in der Subalpinen Tundra der Pugetsenke und des Willamette-Tales präsent (s.o.), von wo aus sie zusammen mit *Alnus* die offenen Waldlandschaften bildete, welche den von *Pinus contorta* geprägten borealen Wäldern des ausgehenden Glazials folgten (zur Übersicht vgl. HERMANN 1985b, S. 14).

Insgesamt läßt sich unschwer folgern, daß der amerikanische Zirbenhäher in dem nördlichen Eiszeit-Refugium tätig war und die früheren Erfahrungen das heutige Verhalten bei der Nahrungssuche beeinflussen, das nachweislich tradiert wird (vgl. LANNER 1996). Bei den bisher als Nahrungsquelle bekannten Baumarten handelt es sich somit keineswegs um zufällige Abweichungen im Verhalten, wie LANNER (1996, S. 98) meint. Die "erprobten" Baumarten bieten vielmehr heute noch innerhalb des zu Beginn dieses Unterkapitels beschriebenen geographischen Dreieckes vom Stuart Lake am 55. Breitengrad im Norden bis zum 30. im Süden, von der Küste im Westen und bis zum westlichen Texas im Osten nahezu flächendeckend eine Palette an Nahrungsquellen, welche zur gleichen Jahreszeit wie *Pinus albicaulis* fruktifizieren und damit eine Mindestversorgung an speicherbarer Nahrung im gewohnten Rhythmus sicherstellen können. Inwiefern sich derzeit im Verhalten sowie im Nahrungsspektrum von Clark's Nutcracker eine Differenzierung in eine Nord- bzw. eine Südform abzuzeichnen beginnt, werden intensive Feldstudien erst zeigen müssen.

Die Evolution der Douglasie ist offensichtlich nicht nur das Ergebnis von Klimaschwankungen während der Erdgeschichte. Vielmehr ist ihre Entwicklung in ein feinmaschiges ökologisches Netz eingeknüpft zu sehen. Wenn im Holozän Areale ähnlicher Ausdehnung für die Arten *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus albicaulis*, *Pinus ponderosa* und *Pinus contorta* entstanden sind mit vergleichbaren Konsequenzen für deren genetische Variation (vgl. Kap. 5.2.), so ist eine solche gemeinsame Entwicklung nicht zuletzt auf das Zusammenspiel mit den drei genannten Häherarten zurückzuführen. Dabei haben noch heute Clark's Nutcracker und der Pinyon-Jay die Rolle von Langstreckentransportern für die Samen, während die Diademhäher lokal aktiv sind. Da *Pinus albicaulis* beispielsweise auf der Ostabdachung der Nordkaskaden ein größeres Vorkommen besitzt, kann nicht ausgeschlossen werden, daß der amerikanische Kiefernhäher auf seinen Streifzügen der Nahrungssuche für den Genaustausch sorgt, der dort zu einem der nördlichen Inlandsdouglasie ähnlichen Populationsvektor führt, wie er auch von LEINEMANN (1998) festgestellt wurde. Möglich, aber wenig wahrscheinlich, ist die Erhaltung bzw. Pflege einer kleinen Restpopulation jener Introgressionszone durch den Häher im Schutz des Columbia Beckens, die auch für die Entstehung des Queen Charlotte Ökotypes bzw. Blue Mountains Ökotypes die Grundlage bildete. Eine solche Milderung von Isolationseffekten durch den Pinyon Jay war bereits früher für die Populationsreste der Douglasie in Nevada diskutiert worden (SCHNABEL et al. 1993). Ferner deuten die seltenen Funde des Alleles GOT-A3 (HOFFMANN 1994, LEINEMANN 1998) in ungewöhnlichen Breiten auf Zoochorie, da sie entlang des Kaskadenkammes bzw. in seiner Verlängerung an Hauptzugwegen des Vogelzuges liegen (Pacific Flyway; vgl. CURRY-LINDAHL 1982). Für diese Problemstellung kommen natürlich auch andere, nicht Vorräte anlegende Arten, wie etwa die Kreuzschnäbel (*Loxia curvirostris*, *L. leucoptera*), in Frage, die als Teilzieher bekannt sind.

Die Ausprägung der vielen Unterarten mit überlappenden Arealen zu den Ökotypen der Douglasie (Abb. 5-39), läßt darauf schließen, daß der Diademhäher diesen Baum zumindest während des Pleistozäns bereits als Nahrungsquelle benutzt und seine Verjüngung mit beeinflußt hat. Die oben erwähnten Unter-

schiede zwischen südlichen und nördlichen Arten des Diademhähers können im Zusammenhang mit der Entwicklungsgeschichte der südlichen Inlandsdouglasie problemlos als Folgen langanhaltender Isolation zumindest während des Pleistozäns gesehen werden. Wenn aber die Entstehung dieser Hähler, wie oben angeführt, in einem sekundären Evolutionszentrum in Nordamerika angenommen werden muß, dann kommt dafür das Hochland von Mexiko deshalb in Frage, weil es heute noch eine größere Zahl an Unterarten des Diademhähers beherbergt als der Nordwesten. Dann aber muß auch die Entstehung der Douglasie an der Grenze zum mexikanischen Hochland erfolgt sein und zeitlich vor dem Pleistozän eingeordnet werden. So zeigen die Populationen aus Colorado alle vier wichtigen Allozyme am Genort 6-PGDH-A, teilweise sogar als Majorpolymorphismen, während die Küstendouglasie nahezu auf das Allel A4 fixiert ist und das Allozym A2' nicht besitzt. Da die südliche Inlandsdouglasie an den meisten Genorten Nahe der Fixierung ist, muß diese Eigenschaft am Genort 6-PGDH-A als entscheidendes Indiz gewertet werden. Bislang wurde stets unterschwellig die Entstehung der Art im Küstenbereich vermutet. Wenn sich im Südosten des Verbreitungsgebietes die entscheidenden Allele des Genortes 6-PGDH-A, die später für jeweils eine der drei Formen dieser Art typisch wurden, in ausgeglichenen Häufigkeiten erhalten haben, dann muß in diesem Großraum die Entstehungsregion gesucht werden. Diese Überlegungen werden durch zwei Arbeiten gestützt:

Zum einen finden sich lungenlose Salamanderarten in den Sacramento Bergen Neu Mexikos sowie im pazifischen Nordwesten, die gemischte Nadelwälder bevorzugen (MARTIN & MEHRINGER 1965). Bislang wurde diese Tatsache als Beweis für eine Arealausdehnung der Douglasie aus dem Pazifischen Nordwesten nach Süden gesehen. Da aber feuchtwarme Perioden im Bereich des südwestlichen Nordamerikas im Laufe der Erdgeschichte zweifelsohne häufiger waren als im Nordwesten, sollte diese Interpretation nochmals überprüft werden.

Zum anderen kommt GALOUX (1956) nach pflanzengeographischen Studien zu dem Schluß, die Inlandsformen wären von der Küstenform im Pliozän abgespalten worden. Allerdings nimmt GALOUX (1956) eine Wanderung der Douglasie vom Westen in den Osten an. Wahrscheinlicher ist jedoch nach den vorliegenden Ergebnissen eine Entstehung der Douglasie an der Grenze zum Mexikanischen Hochland und die Ausbreitung zusammen mit gemischten Koniferenwaldgesellschaften bis zur Küste im Westen bzw. nach Norden während einer feuchtwarmen Periode des Pliozäns, in deren Folge sowohl die Vorfahren der Diademhähler als auch die des lungenlosen Salamander ihr Areal ausdehnen. Der Pinyon Jay erreicht in jener Zeit ebenfalls die Westküste in Kalifornien und hält an der Wanderroute bis zur Sierra Nevada im Westen bzw. bis zu den Blue Mountains im Norden durch das Pleistozän bis heute fest. Die Ausbreitung des Trockengebietes im Windschatten der aufgefalteten Kaskaden führt zur Trennung zwischen Küstendouglasie und Inlandsform, wobei wiederholte Kontakte im Norden des Areals durch die Klimaschwankungen des Plio- wie des Pleistozäns möglich sind und zur vergleichsweise größeren Ähnlichkeit in der genetischen Variation beider Formen beitragen. Die südlichen Küstendouglasie hingegen wird durch Wüstenbildung bzw. Seenbildung früh von der südliche Inlandsdouglasie abgetrennt. Die Referenzstrukturen des Sierra Nevada Ökotypes an den Genorten GOT-B, IDH und 6-PGDH-A (Tab. A.I-10 ff.) zeigen noch heute die Spuren einer ehemaligen Introgressionszone zwischen Inlands- und Küstenformen, die bei den Ökotypen der Blauen Berge sowie vom Queen Charlotte Sound ausgeprägter ist und in weitgehend ähnlichen Referenzvektoren zum Ausdruck kommt. Im Refugium für *Pinus albicaulis* am Ostrand der Sierra Nevada (MACDONALD et al. 1998), hat zweifelsohne auch der Sierra Nevada Ökotyp der Douglasie überlebt und im Holozän durch den Kontakt zum südlichen Küstenökotyp seine heutige genetische Ausprägung erhalten.

5.3.4. **Schlußfolgerungen**

Wie die obenstehenden Ausführungen zeigen, ist die Wahl des Genmarkersets entscheidend für einen möglichen Nachweis geographischer Variation. Gründe für den gelungenen Nachweis können sowohl Koinzidenz als auch tatsächliche Korrelation sein. Tatsächlich wurden für die Genorte der Enzymsysteme AMP (LAP), IDH und 6-PGDH auch bei anderen Arten eine geographische Variation nachgewiesen (z.B. BERGMANN 1983, BERGMANN & GREGORIUS 1992, BREITENBACH et al. 1997).

In der vorliegenden Studie belegen besonders die Daten der Genorte 6-PGDH-A aber auch AMP-A die Festigung von drei Douglasienformen im Laufe der Evolution. Dadurch ist die Theorie von HALIDAY und BROWN (1943) widerlegt, welche von zwei Eiszeitrefugien ausgeht und die nördliche Inlandsdouglasie als nacheiszeitliches Hybridisierungsprodukt aus der Küstendouglasie und der südlichen Inlandsdouglasie betrachtet. Die seither verzweifelt gesuchten breiten Übergangszonen, die auch nicht mit DNA-Markern nachweisbar waren (AAGAARD et al. 1998a) wurden vermutlich durch die Wisconsin-Eiszeit bis auf Relikte am Queen Charlotte Sound im Norden bzw. im Osten Oregons ausgelöscht. Die Wiederbesiedelung des Areals führte zur Ausbildung von Ökotypen, die hohe genetische Variation in ehemaligen Refugialgebieten sowie geringe genetische Variation in den Expansionsgebieten zeigen. Sonderfälle bilden die extreme genetische Verarmung der südlichen Inlandsdouglasie auf Grund langanhaltender Isolation und Verinselung des Teilareals sowie die punktuellen Introgressionsprodukte ehemals verstreuter glazialer Kleinrelikte im pazifischen Nordwesten. Die rasche Ausbreitung bei günstigen Klimaverhältnissen seit der Artentstehung ist zu einem nicht unerheblichen Teil auf Zoochorie durch Hähnerarten zurückzuführen.

Eine solche Betrachtungsweise relativiert die bisherigen Vorstellungen über die Anpassung der Baumarten. Nicht stetige Selektion an einem Standort, sondern vielmehr das - im Zeitraffer gesehen - pulsierende Trennen und Wiederezusammenführen von Populationen bzw. Schrumpfen und Ausdehnen von Arealen während erdgeschichtlicher Epochen hatte die größte Auswirkung auf die genetische Variation der Arten, wie das bereits CRITCHFIELD (1984) gesehen hatte. Hintergrund ist die Tatsache, daß die Auslöschung im Falle einer negativen Umweltänderung schneller abläuft als eine Anpassung und bei einer Ausbreitung zuerst der augenblicklich passende Raum erobert wird, ehe am neuen Standort der langwierige Prozess der Anpassung abläuft (KAWECKI & STEARNS 1993). Auch das Verhalten der Douglasie im Bezug auf Wärme und Feuchtigkeit an allen Standorten ihres großen Verbreitungsgebietes ist Ausdruck dieses Prozesses. Der sogenannte Konservatismus ökologischer Nischen wird zunehmend für unterschiedliche Lebewesen beschrieben (PETERSON et al. 1999).

Die vorliegende Arbeit bestätigt weitgehend frühere Einschätzungen der intraspezifischen Untergliederung der Douglasie durch FROTHINGHAM (1909), SCHENCK (1939) und ZAVARIN & SNAJBERK (1973). Im Unterschied zur letztgenannten Arbeit wird an der Grenze zwischen nördlicher und südlicher Inlandsdouglasie die Absaroka Range in Wyoming der südlichen Varietät zugeschlagen, was auf Grund der geringen Stichprobenzahl in der genannten Arbeit erklärt werden kann.

Bei der Ausweisung von Saatgutazonen in Nordamerika sollte auf die Ökotypen Rücksicht genommen werden und die zu allgemeine Zonenausweisung in B.C. revidiert werden. Dabei kann, dem Beispiel der aktuellen Regelung für British Columbia folgend, der Rahmen des Saatguttransfers eingeschränkt werden, ohne kleine Zonen ausweisen zumüssen.

Ferner sollten die Daten aus Provenienzversuchen neu überprüft werden. Besonders im Bereich des Pazifischen Nordwesten lassen sich Erklärungen für das unterschiedliche Verhalten von Provenienzen während längerer Versuchsdauer (z.B. WHITE & CHING 1985) erwarten.

5.4. Zur Unterschiedlichkeit der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*

Nachdem aus den vorstehenden Kapiteln die genetische Variation und Vielfalt sowie die allelischen Strukturen der einzelnen Genloci für die beprobten Populationen sowie für abgegrenzte Ökotypen bekannt sind, wendet sich das nachfolgende Kapitel der Frage der Unterschiedlichkeit zwischen den Populationen zu. Neben herkömmlichen Differenzierungsparametern werden auch die Populationsvektoren näher untersucht.

5.4.1. Genetische Abstände

Die Stichproben aus Handelssaatgut werden zunächst mit dem Genpoolabstand d_{xy} über alle acht Genloci analysiert. Die Tabelle A.II-16 im Anhang zeigt die Matrix der Genpoolabstände, wobei die Populationen in numerischer Reihenfolge aufgeführt sind. Die Populationen der nördlichen Inlandsdouglasie (S05, S10, S11) zeichnen sich durch hohe Abstände zu den Küstenprovenienzen aus (z.B. S22), das Niveau der Abstände zu den südlichen Inlandsprovenienzen sind jedoch im Durchschnitt noch etwas höher. Untereinander haben sie höhere Abstände als etwa die Küstendouglasien und wiederum kleinere als die südlichen Inlandspopulationen. Abbildung 5-41 zeigt dies auf einen Blick. Für diese Graphik wurden die Daten der Genpoolabstände im Rahmen einer Clusteranalyse gruppiert, welche hierzu das Tschebyscheff-Maß einsetzt. Insgesamt lassen sich drei Blöcke unterscheiden. Die Populationen der südlichen Inlandsdouglasie haben den größten Abstand zu allen übrigen und zerfallen selbst in eine Gruppierung mit engem Abstand untereinander, zwei Populationen haben einen großen Abstand zu den übrigen. Bei der Population S25 erklärt der hohe Grad der Fixierung an allen Genloci den extremen Abstand zum Rest der Gruppe. Die Stichproben aus dem nördlichen Inland, aus den Blue Mountains sowie aus dem Küstenbereich klumpen zusammen. Hier zeigt die nördliche Inlandsform den größten Abstand zu den übrigen und die Abstände innerhalb der Gruppierungen sind bei der nördlichen Inlandsform ebenfalls am höchsten. Die Stichproben der Küstenvarietät zerfallen in zwei Hauptgruppen und haben untereinander geringe Genpoolabstände. So fallen vier Stichproben (S21, S24, S22, S27) aus dem Norden des Ökotypes "Küste-Nord" durch enge Abstände auf. Auch die Proben aus dem Willamette-Tal sowie dem angrenzenden Unterlauf des Columbia verfügen über einige der engsten Abstände. Insgesamt spiegeln diese Abstandsverhältnisse recht gut die Ergebnisse aus der Analyse der allelischen Strukturen wieder. An den Loci mit Minorpolymorphismen waren im Küstenbereich schließlich nur geringe, oft nicht signifikante Unterschiede festgestellt worden, der majorpolymorphe Genort AMP-A wies starke Streuungen der Werte auf.

In der Arbeit von LI & ADAMS (1989) hatte die Berechnung des Abstandes nach NEI (1973) die durchschnittlich geringsten Abstände (7,3%) zwischen den Populationspaarungen des nördlichen Inlandes ergeben, die Küstendouglasie hatte nahezu doppelt so hohe und die südliche Inlandsdouglasie etwa dreifach so hohe Abstände. Die genetischen Abstände zwischen den beiden Inlandsformen war geringer als die jeweiligen Abstände zur Küstendouglasie. Der Unterschied ist mit der stark ungleichgewichteten Probenanzahl im vorliegenden Datensatz aus Handelssaatgut zu erklären, in welchem der Ökotyp aus den Blue Mountains sowie die nördliche Inlandsvarietät schwach vertreten sind. Außerdem wurde das Genmarker-Set in der Absicht gewählt, die Unterschiede zwischen den Populationen deutlich zu machen, während die amerikanischen Kollegen möglichst viele Genloci berücksichtigten. LEINEMANN

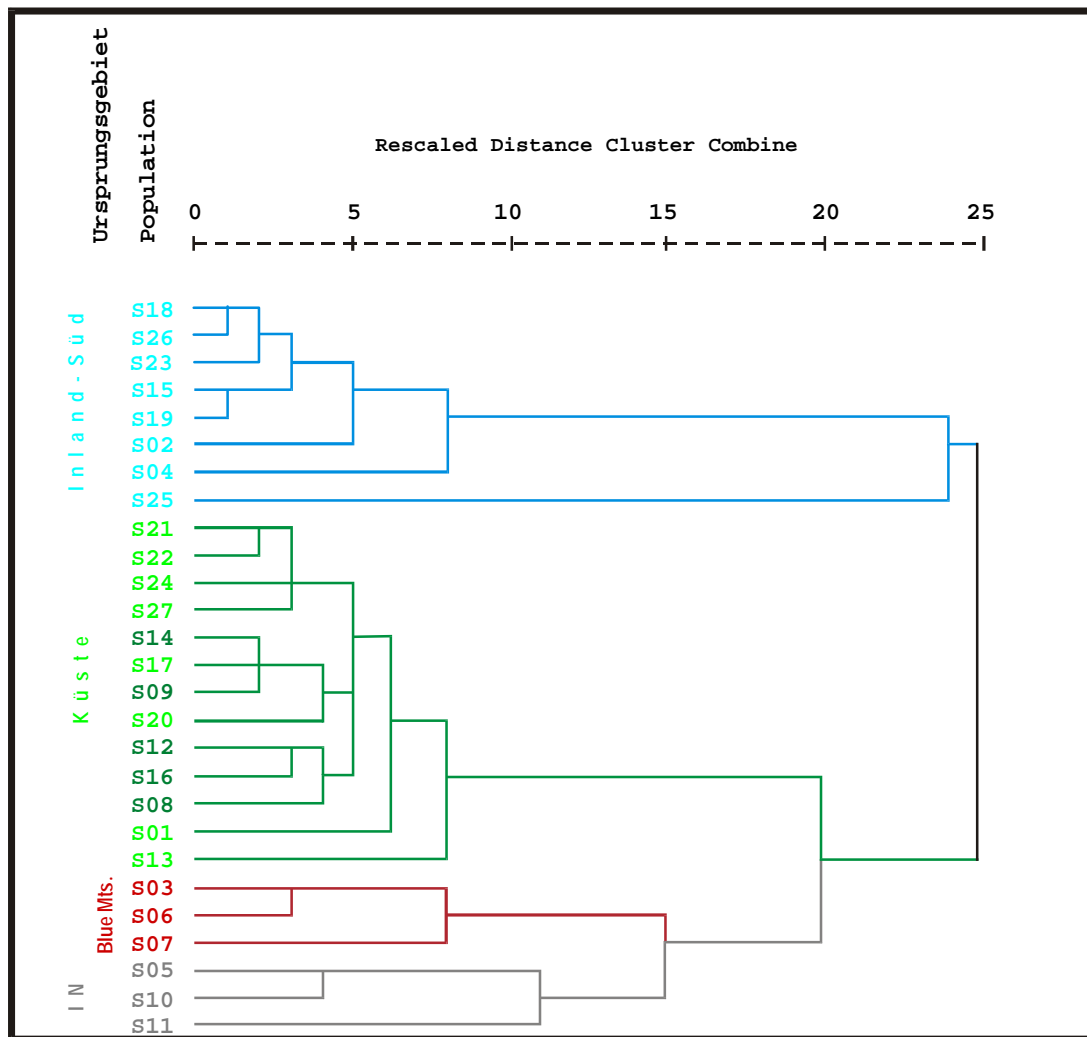


Abb. 5-41: Dendrogramm der Tschebyscheff-Clustering auf der Basis des Genpoolabstandes für Handelssaatgut über 8 Genorte

(1998) erhält bei der Berechnung des Genpoolabstandes nach GREGORIUS (1973) nur leichte Unterschiede in den Abständen zwischen den Paarungen innerhalb der Küstenvarietät bzw. der nördlichen Inlandsform, was mit der Besonderheit des Probenmaterials erläutert werden kann. Offensichtlich haben die systematischen Durchforstungen des Provenienzversuches die typischen Abstufung der Unterschiede in den allelischen Strukturen der Restpopulationen soweit künstlich erhöht und egalisiert, daß gerade noch der formenbedingte Unterschied erkannt werden kann. Das Ausmaß des Abstandes wiederum scheint verfahrensbedingt zu sein, denn auch in der vorliegenden Arbeit beträgt der Abstand zwischen Küstendouglasie und nördlicher Inlandsvarietät 20% wie in der Arbeit von LEINEMANN (1998). Allerdings sind die Abstände der Paarungen aus ein und derselben Varietät in der vorliegenden Arbeit mit maximal 8% im Küstenbereich niedriger als in der Arbeit von LEINEMANN (1998), wo er 12% beträgt. Die Arbeiten an Kiefernarten aus dem Verbreitungsspektrum der Douglasie ergaben teilweise um ein Vielfaches niedrigere Werte genetischer Distanzen zwischen südlichen und nördlichen Küstenvorkommen (*Pinus monticola*: 8% STEINHOFF et al. 1983, *Pinus contorta*: 1% WHEELER & GURIES 1982).

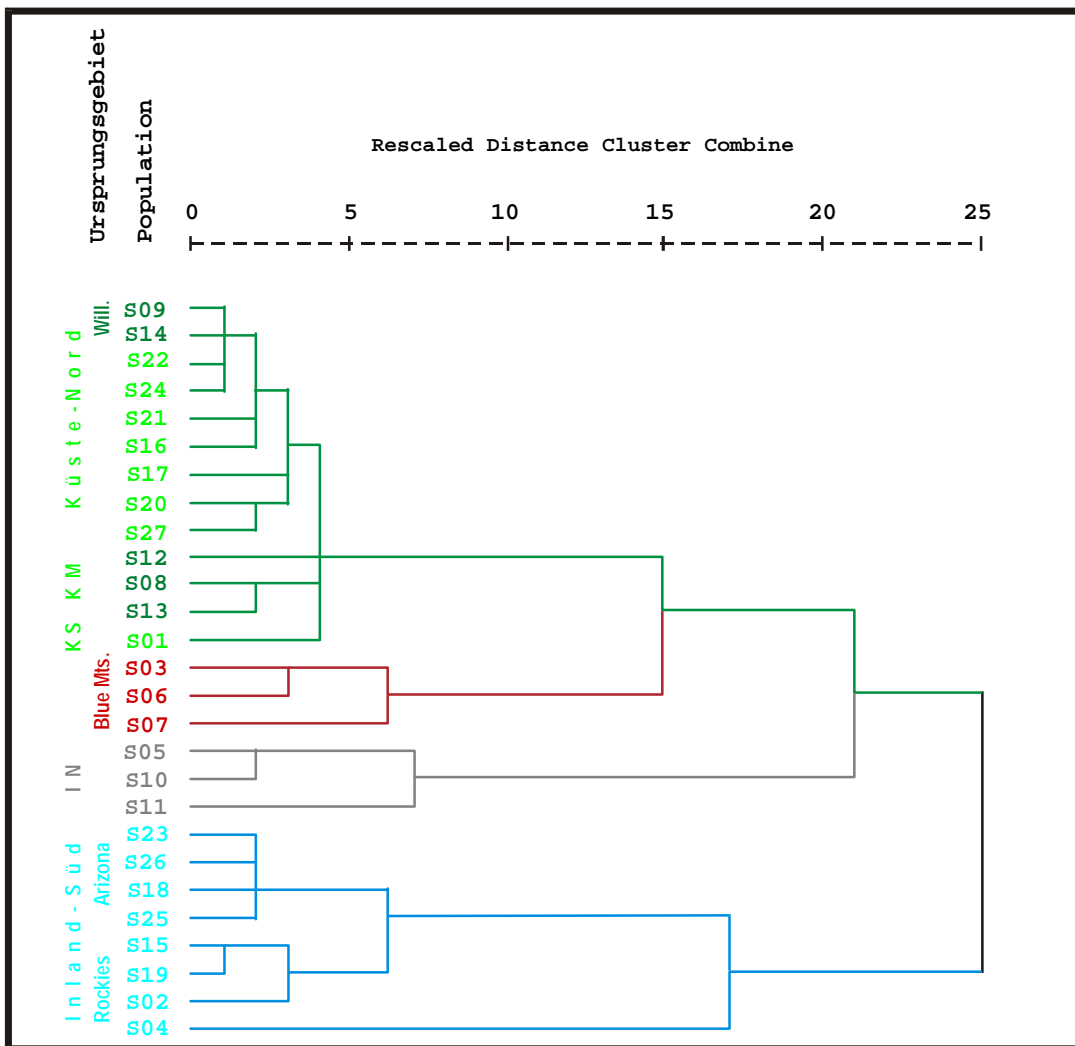


Abb. 5-42: Dendrogramm der Tschebyscheff-Clustering (Handelssaatgut) auf der Basis von Häufigkeitswerten der Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte

Die Clusteranalyse ist bekanntlich weder ein Sakrileg noch ein Wundermittel. Sie sortiert lediglich das vorhandene Zahlenmaterial, insofern arbeitet sie relativ. Ferner werden ständig die jeweiligen Gruppierungswerte neu berechnet, insofern ist sie iterativ (vgl. HARTUNG & ELPELT 1989). Nachfolgend wird dies am Beispiel der Populationsvektoren erläutert. Im vorigen Kapitel waren Determinanten für Referenzvektoren herausgearbeitet worden, welche als Indikatoren die vorhandenen allelischen Strukturen zumindest hinreichend beschreiben sollen. Dem Grundgedanken des genetischen Abstandskonzeptes folgend (GREGORIUS 1973), werden die Populationsvektoren mit ihren fünf Determinanten einer Clusteranalyse unterzogen, bei der erneut das Tschebyscheff-Maß zum Einsatz kommt. Abbildung 5-42 zeigt das Ergebnis. Die Populationsvektoren trennen die südliche Inlandsdouglassie von den übrigen Ökotypen auf hohem Niveau. Die Abstände innerhalb der südlichen Inlandsform reduzieren sich leicht gegenüber der Anwendung von Genpooldistanzen und die Abstände bilden die weiter oben diskutierten Besonderheiten der Arizona-Gruppierung ab, indem der "Arizona" Ökotyp (S26, S25, S23, S18) als eigene Gruppe mit engen Abständen aufsteht. Der Abstand der nördlichen Inlandsform zur Küstendouglassie bzw. zum Ökotyp aus den Blauen Bergen vergrößert sich leicht, die Abstände innerhalb der

Ökotypen verringern sich. Proben aus dem Willamette-Tal (S09, S14) sowie aus dem nördlichen Küstengebiet zeigen geringe Abstände untereinander, während andere Proben aus dem zentralen Küstenabschnitt auf deutlich höherem Abstandsniveau zu den übrigen Küstendouglasien separat gruppiert werden.

Sobald man den Datensatz erweitert, im vorliegenden Fall werden die Daten der Vergleichsproben aus Versuchsanbauten in Baden-Württemberg eingefügt, ändern sich selbstverständlich einige Abstände zwischen den Gruppen. Das Beispiel der Abbildung A.I-11 zeigt, daß sich der Abstand zwischen S05 und S11 durch das Einfügen von K06 und K09 vergrößert. Ein Blick auf Abbildung 5-34 erklärt dies u.A. mit der Ähnlichkeit der allelischen Strukturen am Genort 6-PGDH-A. Innerhalb der Küstendouglasie werden die Vertreter von Vancouver Island in einer Gruppe auf ebensolchem Abstandsniveau angefügt, wie die Übergangsguppe aus dem östlichen Oregon. Die Gruppe mit dem ersten Abstand wird um ein Glied aus dem nördlichen Küstenabschnitt erweitert. Die Vertreter des zentralen Küstenabschnittes präsentieren sich auch jetzt als zwei Gruppierungen auf niedrigem Abstandsniveau. Nun hat der Datensatz mehr Übergewicht bezüglich der Küstendouglasie und die hinzugefügten Stichproben erhöhen die Heterogenität innerhalb der Küstenform, ohne zu einer besseren Strukturierung beitragen zu können. Allerdings sind hier auch nur zwei Küstenökotypen, der aus dem zentralen sowie der aus dem nördlichen Küstenvorkommen, in einer sinnvollen Anzahl getestet worden. Sowohl der eine Vertreter der südlichen Küstendouglasie als auch die von der Campbell-Gruppe reichen offensichtlich nicht aus, um die Abstände zwischen den Populationsvektoren der Küstenökotypen zuverlässig beschreiben zu können.

5.4.2. Populationsdifferenzierung

Wie bereits mehrfach betont, umfaßt der Datensatz des Handelsaatgutes zwar Stichproben aus weiten Teilen des gesamten Douglasienareals, jedoch sind einige der hier unterschiedenen Ökotypen nur schwach vertreten (z.B.: nördliche Inlandsform, südlicher Küstenökotyp), andere gar nicht (z.B. Sierra Nevada, Queen Charlotte Sound). Trotzdem soll im folgenden eine erste Abschätzung der Variation zwischen den Populationen der Douglasie auf der Basis der Populationsdifferenzierung D_j (GREGORIUS & ROBERDS 1986) erfolgen. Das besondere an diesem Maß ist der Vergleich der Einzelpopulation zum jeweiligen Komplement (δ), das ist im vorliegenden Fall, streng genommen, der gewichtete Durchschnitt der vorliegenden Stichproben¹²⁰. Die Einzeldaten können aus Tabelle A.II-17 entnommen werden.

Die Abbildung 5-43 zeigt die übliche Darstellung sogenannter Differenzierungsschnecken, in welcher die einzelnen Populationen als Kreissegmente erscheinen, deren Radius dem Wert D_j entsprechen. Ein durchgezogener Kreis gibt im gleichen Maßstab den jeweiligen Mittelwert δ an. Um die Charakteristika der einzelnen Ökotypen sichtbar zu machen wurden die Kreissegmente angefübt. Es gelten folgende Farbzusordnungen:

Küste-Nord (hellgrün)

Küste-Mitte (dunkelgrün)

Küste-Süd (gelb)

Blue Mountains (violett)

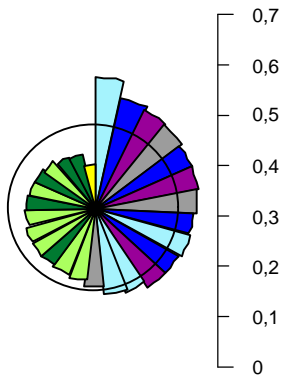
Inland-Nord (grau)

Inland-Süd / Rest (hellblau)

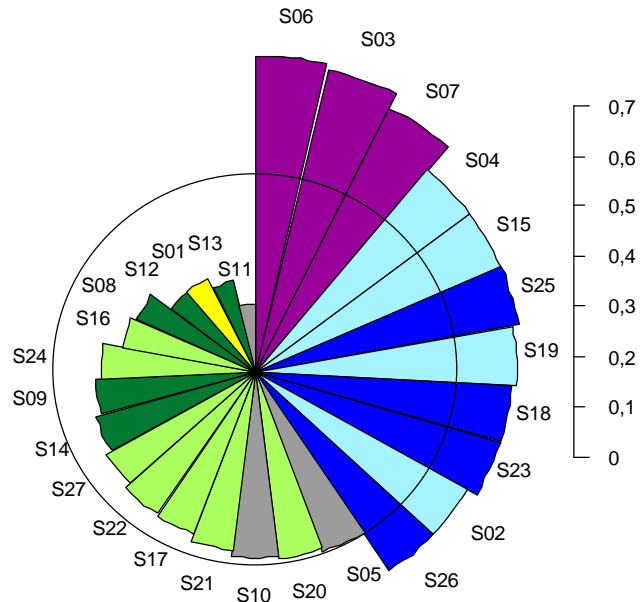
Inland-Süd / "Arizona" (dunkelblau)

¹²⁰ Der vorliegende Datensatz aus Handelsaatgut umfaßt nicht alle Ökotypen der Art und weist unterschiedliche Stichprobenzahlen auf.

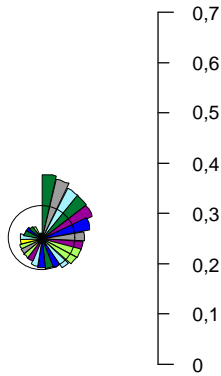
Genpool ($\delta = .164$)



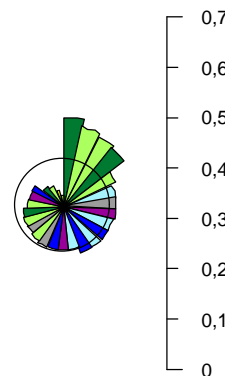
AMP-A ($\delta = .390$)



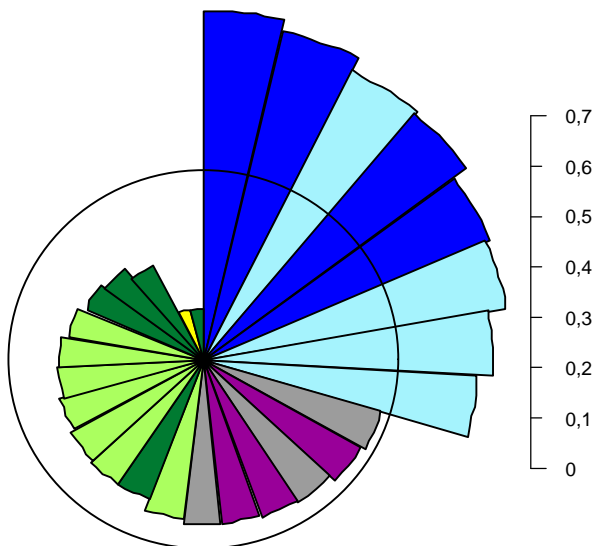
GOT-B ($\delta = .063$)



IDH ($\delta = .100$)



SKDH ($\delta = .379$)



6-PGDH-A ($\delta = .247$)

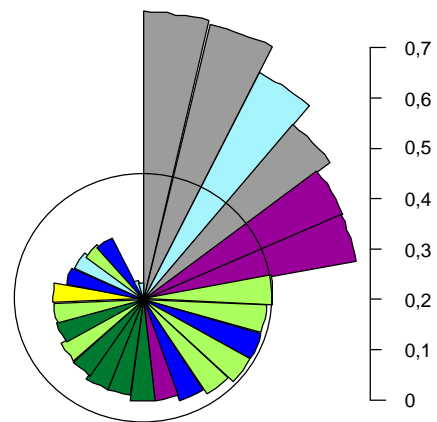


Abb. 5-43: Populationsdifferenzierung der Douglasie im Genpool sowie für ausgewählte Genorte. Erläuterungen im Text.

Betrachtet man die Populationsdifferenzierung für den Genpool, so ist nicht zu übersehen, daß die Inlandsformen sowie der Ökotyp aus den Blue Mountains überdurchschnittlich differenziert sind. Unterdurchschnittlich differenziert sind die Populationen aus dem zentralen Küstengebiet, sowie der eine Vertreter der südlichen Küstendouglasie (S01). Nahezu durchschnittlich differenziert sind die Populationen aus dem nördlichen Küstenabschnitt. Mit 16,4% ist die Douglasie offensichtlich stärker differenziert, als etwa die heimische Tanne oder gar die als schwach differenziert bekannte Fichte (Bergmann 1991). Selbst auf größere Arealteile der Fichte bezogen, etwa für die Schweiz (4,3%: MÜLLER-STARCK 1995) oder für Mitteleuropa (5,2%: LIESEBACH 1994) gilt diese Relation. Die Arbeit von LEINEMANN (1998) an Stichproben der Douglasie aus dem nördlichen Arealteil ergab über 15 Genorte im Vergleich zu Fichte und Tanne eine hohe Größenordnung von 12,3%, die jedoch deutlich unter dem Wert der vorliegenden Arbeit bleibt.

Die ebenfalls gebräuchlichen Maße D_{ST} bzw. G_{ST} von NEI (1973 bzw. 1975) sind methodisch nicht direkt vergleichbar (vgl. GREGORIUS & ROBERDS 1986). Es ergeben beispielsweise G_{ST} -Werte einer Untersuchung an mittel- und osteuropäischen Fichtenpopulationen einen Differenzierungswert für den Genpool dieses Teilareals der Fichte von 5,2% (LAGERCRANTZ & RYMANN 1990) und an *Pinus monticola* konnte ein arealweiter G_{ST} -Wert von 14,8% festgestellt werden (STEINHOFF et al. 1983). Für die arealweite Studie von LI & ADAMS (1989) läßt sich aus den Angaben für D_{ST} ein arealweites Differenzierungsausmaß von 24,1% für die Douglasie errechnen, das somit erheblich höher liegt als in der vorliegenden Untersuchung. Der Grund liegt offensichtlich in der intensiven Stichprobennahme, welche das gesamte Areal abdeckt und so alle 10 in der vorliegenden Arbeit unterschiedenen Ökotypen und Formen berücksichtigt. Obwohl der Datensatz aus Handelssaatgut immerhin sechs davon berücksichtigt, erreicht er den Wert der amerikanischen Studie nicht, liegt jedoch konsequenterweise über dem Wert von LEINEMANN (1998) für Stichproben der Küsten- und Inlandsdouglasie. Insgesamt kann festgestellt werden, daß die Douglasie zu den Baumarten gehört, welche über die höchste Populationsdifferenzierung verfügen.

Der vorstehende Überblick ermöglicht es, Arbeiten mit geringen Stichprobenzahlen besser einzuordnen. Die Studie von AAGAARD und Kollegen (1998a) zeigt die Grenzen einer groben Beprobung indem die Differenzierung auf der Artebene mit 29% hoffnungslos überschätzt wird. Derartige Arbeiten können nur entsprechend grobe Anhaltspunkte liefern, jedoch keine Detailinformation. Weitaus fraglicher wird die Situation, wenn keine klaren Vorstellungen über Teilarealgrenzen herrschen. El-Kassaby (1991) hat das Problem der Stichprobengröße und das der Labortechnik beim Vergleich unterschiedlicher Arbeiten zwar diskutiert, die gravierende Bedeutung eines planmäßigen und bewußt gewählten Stichprobendesigns bezüglich Ökotypen jedoch nicht erkannt! Ein erneuter Blick auf die Tabelle 2-4 der vorliegenden Arbeit verdeutlicht dies: die Ergebnisse der Arbeiten von MERKLE & ADAMS (1987) sowie von MORAN & ADAMS (1989) bezüglich Interpopulationsdifferenzierung sind folglich mit in der vorliegenden Arbeit bestätigten unterdurchschnittlichen Werten des südlichen bzw. zentralen Küstentyps zu erklären.

Unter den verwendeten Genorten ragen AMP-A, SKDH und 6-PGDH-A heraus, an welchen die Populationen der Douglasie auf ungewöhnlich hohem Niveau differenziert sind. In der Untersuchung von LEINEMANN (1998) für die Douglasie war dies, mit Ausnahme von SKDH-B, auch der Fall: an letztgenanntem Genort sind die Populationen aus dem nördlichen Arealteil offensichtlich gleichmäßig, und zwar durchschnittlich, differenziert. Interessant ist wiederum der Vergleich mit Tanne und Fichte. Bei erstgenannter tragen die Genloci AMP-A, GOT-B, IDH-A und 6-PGDH-A stark zur Differenzierung des Genpools bei, während bei der Fichte ein Genort der AMP und zwei Genorte des Enzymsystemes 6-PGDH überdurchschnittlich differenziert sind (BERGMANN 1991, LIESEBACH 1994). Sobald SKDH bei

der Fichte untersucht wird, zeigen sich die Populationen an einem Genort dieses Enzymsystemes ebenfalls überdurchschnittlich differenziert (MÜLLER-STARCK 1995).

Im einzelnen sind die Differenzierungen der Populationen am Genort AMP-A offensichtlich repräsentativ für die Differenzierung des Genpools, während sich am Genort SKDH-B die Unterschiede der weitgehend dort fixierten Populationen der südlichen Inlandsdouglasie zu den restlichen Ökotypen manifestieren. Ob an SKDH-B außerdem die Ökotypen aus dem südlichen sowie zentralen Küstenabschnitt größtenteils unterdurchschnittlich differenziert sind, müssen künftige Untersuchungen zeigen. Während am Genort GOT-B keine Trends der Differenzierung für die einzelnen Ökotypen ablesbar sind, können am Genort IDH durchschnittliche Differenzierungen der Inlandsformen sowie des Übergangstypes festgestellt werden. Hier zeigen sich die Küstenformen völlig heterogen mit unter-, überdurchschnittlichen und auch durchschnittlichen Werten. Am Genort 6-PGDH-A schließlich, zeigen hauptsächlich die nördliche Inlandsform sowie der Ökotyp aus den blauen Bergen eine extrem überdurchschnittliche Differenzierung, während die übrigen Ökotypen unterdurchschnittlich bis durchschnittlich differenziert sind. Letzteres ist nicht zuletzt durch die Besonderheit des hier eingesetzten Trennpuffersystemes zu erklären, welches zu nur scheinbar hohen Anteilen des Alleles 6-PGDH-A4 auch in den Populationen der südlichen Inlandsdouglasie führt und dadurch Ökotyp sowie Varietät aus dem nordöstlichen Arealteil durch den Besitz des Alleles A6 übermäßig diskriminiert (vgl. Abb. 5-34). Bei Anwendung des Morpholin-Citrat Trennsystemes wäre hier eine bessere Abstufung zwischen den drei Varietäten der Douglasie auf Grund des jeweils charakterisierenden Alleles zu erwarten.

5.4.3. Schlußfolgerungen

Die obigen Ausführungen führen den Wert der einzelnen Genorte bezüglich arealspezifischer Variation deutlich vor Augen. Während AMP-A durchaus auch als alleiniger Indikator Verwendung finden kann, scheinen an SKDH-B hauptsächlich südliche Ökotypen von nördlichen differenziert zu sein, wobei die südlichen und zentralen Küstenpopulationen vorwiegend unterdurchschnittlich und die südlichen Inlandspopulationen überdurchschnittlich unterschiedlich sind. Am Genort GOT-B sind die Trends so uneinheitlich, daß die vollständigen allelischen Strukturen an diesem Genort wohl kaum für Fragestellungen geographischer Variation in Frage kommt. Hier zeigen sich die Determinanten der Referenzstrukturen weniger anfällig, da durch sie die Anwesenheit aller übrigen Allele einer allelischen Struktur rein theoretisch auf ein "künstliches" Allel reduziert wird! Wie in Kapitel 5.3. ausgeführt, ergeben sich dann sehr wohl Unterschiede zwischen den Ökotypen.

Die extrem niedrige Genpool-Differenzierung der südlichen Population S01 bietet einen weiteren Baustein im Verständnis der nacheiszeitlichen Entwicklung: das Gebiet der Klamath und Siskiyou Berge an der Grenze zwischen Kalifornien und Oregon ist für seinen ungewöhnlichen Artenreichtum in Fauna und Flora bekannt bzw. gilt sogar als artenreichste Region bezüglich Koniferen weltweit (UNKRIG 1988). Bislang war dies u.A. als Beweis für ein Eiszeitrefugium gesehen worden. Tatsächlich sind jedoch ausgedehnte Gletscherbildungen im Bereich der Kaskaden und der Sierra Nevada aus der Wisconsinvereinsung bekannt (MacDONALD 1998). Wahrscheinlicher ist daher die Tatsache, daß die hohe Vielfalt unterschiedlicher Standorte (beachte: Konservatismus ökologischer Nischen!) den postglazial wandernden Arten unüberschaubare Möglichkeiten zum Überleben geboten hat. Da diese Berge die in Nord-Süd Richtung verlaufenden Täler des Willamette und des Sacramento unterbrechen, stellen sie außerdem eine Art Landbrücke dar (UNKRIG 1988), welche Wanderbewegungen erheblich erleichtert hat. Es ist daher nicht auszuschließen, daß die ausbalancierten Populationen des Refugiums auf dem nahen Küstensockel

im Zuge der Erwärmungen während des Holozäns ohne "Ausbreitungsstress" den neuen Standort erreichen konnten.

In diesem Zusammenhang scheint die Population S14 eine nahezu ungestörte nacheiszeitliche Entwicklung erlebt zu haben. Am Ausgang des Willamette-Tales hingegen, am Osthang der Coast Range bei Population S09 beginnen sich die vielfältigen Einflüsse von Genfluß und Zoochorie (Nähe zum Pacific Flyway!) auszuwirken.

5.5. Aufbau und Anwendung von Modellen zur Ursprungsidentifikation

Das folgende Kapitel behandelt die Problemstellung von Identifikationen für Deme unbekanntem Ursprunges. Unter dem Eindruck der Ergebnisse von Kapitel 5.3. muß der Frage der seltenen Allele besondere Beachtung geschenkt werden. Wie weiter oben gezeigt werden konnte, prägt deren Auftreten die Referenzstrukturen der einzelnen Ökotypen in charakteristischer Weise, auch wenn teilweise äußerst geringe Häufigkeiten von unter 1% angenommen werden müssen. An dieser Stelle bleiben sämtliche Erklärungshypothesen für das Auftreten solcher Allele außer Betracht, ganz gleich ob phylogenetischer oder genetischer Art. Übersichten zu diesem Hintergrund finden sich u.A. bei KOEHN et al. 1983, FINKELDEY 1993, GREGORIUS & BERGMANN 1995, HEY 1998. Entscheidend ist einzig und alleine die Tatsache, daß in den einzelnen Ökotypen mehr oder weniger stark unterschiedliche Referenzstrukturen vorhanden sind. Da die Anwesenheit der seltenen Allele nur mit unwirtschaftlich großen Stichproben annähernd genau geschätzt werden kann, werden Vergleiche sinnvollerweise auf der Basis häufiger Allele aus hinreichend großen Stichproben durchgeführt werden. Durchführungen von Homogenitätstests für allelische Strukturen sind für die Fragestellungen von Identifikationen bei *a priori* Zuordnung von Objekten unbekannter Abstammung solange vorsichtig zu beurteilen, solange nicht über eine ausreichende Zahl und Größe von Stichproben die genetische Variation einer Baumart in ihrem gesamten Areal vollständig bekannt ist (vgl. HATTEMER & ZIEHE 1996) und das Auftreten ähnlicher Strukturen in anderen Arealteilen ausgeschlossen werden kann (vgl. Beispiel Blue Mountains und Queen Charlotte Sound, Abb. 5-40). Spezialfälle, wie die Überprüfung behaupteter Gleichheit von Saatgut- oder Pflanzenpartien (z.B. KONNERT 1994a), können hier ebenfalls ausgeklammert werden.

Eine davon zu unterscheidende Problemstellung ist das offensichtliche Fehlen einiger Allele in bestimmten Ökotypen, das ebenfalls unter dem Gesichtspunkt des Stichprobendesigns zu relativieren ist. So muss beispielsweise die Arealspezifität der Allele GOT-A1 und A3 (KLUMPP 1995) insofern als eine relative gesehen werden, als daß nach über 15 Jahren Isoenzymanalyse an Douglasie erstmals Berichte (HOFFMANN 1994, LEINEMANN 1998) von A3 - Funden in Provenienzen entlang des Pacific Flyway nördlich des 46 ° n.B. vorliegen (s.o.), auch wenn beide mit Material aus Provenienzversuchen (Verwechslungsgefahr!) belegt sind. Im Parallelschluß aus den Beobachtungen am Genlocus 6-PGDH-A, kann sogar eine Gegenwart des für nördliche Ökotypen der Douglasie kennzeichnenden Alleles A1 zumindest in den Relikten der in der vorliegenden Arbeit postulierten Ursprungspopulationen in Colorado nicht ausgeschlossen werden.

Da die Determinanten der Referenzvektoren so gewählt wurden, daß sie zumindest in einem Teilareal häufig sind, lassen sie für das Stichprobenkonzept der vorliegenden Arbeit zuverlässige Aussagen zu. Mit Hilfe der Referenzvektoren wird daher zuerst eine Hypothese über mögliche Zuordnungen zwischen den badischen Altbeständen und den Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii* aufgestellt, ehe diese weiter überprüft wird.

5.5.1 Vergleich mit Referenzvektoren

Zunächst werden die Populationsvektoren der in vorliegender Arbeit behandelten badischen Altbestände mit den Referenzvektoren von drei Küstenökotypen verglichen (Abb. 5-44). Selbstverständlich kann selbst im Optimalfall nur eine Übereinstimmung der Dimension zwischen Referenzvektor und Populationsvektor erwartet werden. Hier zeigt sich der Vorteil einer Berücksichtigung der jeweiligen Standard-

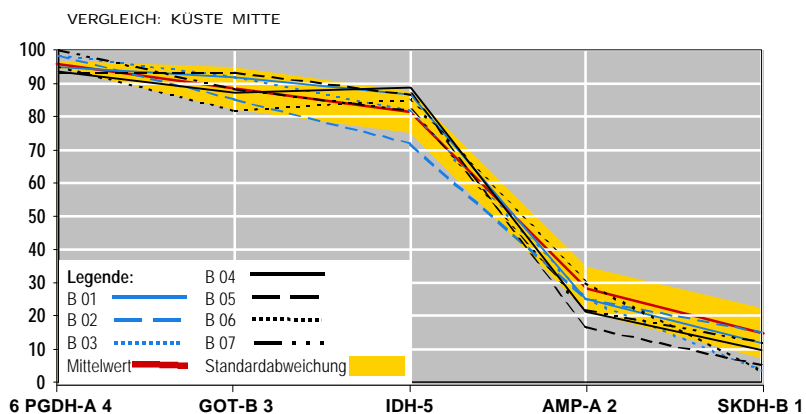
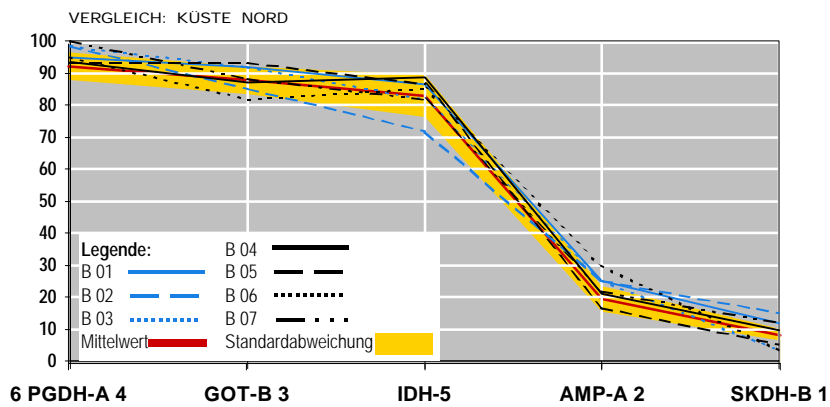
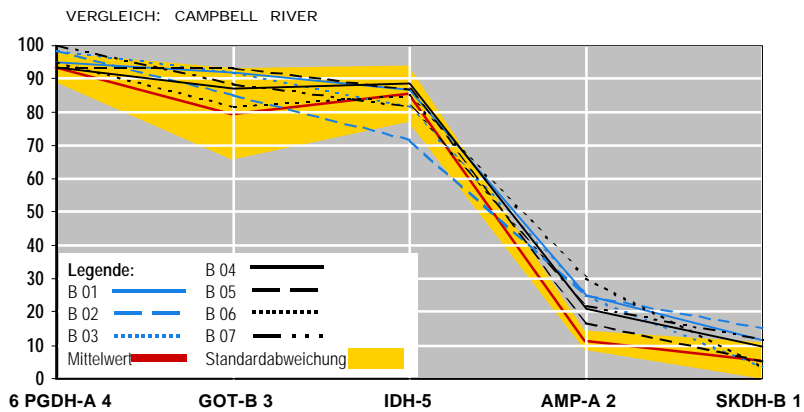


Abb.5-44: Vergleich von Referenzvektoren dreier Ökotypen mit Populationsvektoren badischer Altbestände.
Erläuterungen im Text.

abweichung (gelbes Band), welche es ermöglicht, die Streuung um den Mittelwert (rote Linie) als typisch einzuschätzen.

Im Vergleich zum Referenzvektor für das zentrale Küstengebiet (Abb. 5-44 unten) zeigen vier Bestände sehr weitgehend übereinstimmende Populationsvektoren: B01, B02, B04 und B07. Während die Determinanten von B01 sehr eng um die Werte des Referenzvektors streuen, liegt B04 mit vier Determinanten im Randbereich der ermittelten Streuung. Der Populationsvektor von B02 liegt mit einer Determinanten, IDH-5, unter dem Niveau des Referenzvektors für das zentrale Küstengebiet und zeigt damit den typischen Verlauf, wie er im Datensatz von LI & ADAMS (1989) aufscheint (vgl. Abb. 5-37, S. 171). Der Populationsvektor von B07 gleicht in seiner Gestalt dem Referenzvektor mit Ausnahme der Determinante AMP-A, wo er einen Wert aus dem extremen Streubereich einnimmt. Die Determinanten der übrigen Populationsvektoren zeigen besonders für SKDH-B1 extrem niedrige Werte, was auf eine bessere Übereinstimmung mit einem der nördlichen Küstenökotypen hindeutet.

Sobald man die Populationsvektoren der badischen Bestände mit dem Referenzvektor für die nördliche Küstendouglasie zur Deckung bringt (Abb. 5-44 Mitte), zeichnet sich ab, daß B01 mit zwei Determinanten knapp außerhalb des Streubereiches dieses Referenzvektors liegt und B02 mit zweien tatsächlich außerhalb. Eine vorläufige Zuordnung zum zentralen Küstenökotyp scheint daher empfehlenswert. Die Populationsvektoren B04 und B07 hingegen liegen innerhalb des engen Streubereiches um den Referenzvektor. Ihrer vorläufige Zuordnung zum nördlichen Küstentyp kann nicht widersprochen werden. Von den übrigen Populationsvektoren liegt B06 mit drei Determinanten außerhalb des Streubereiches des nördlichen Küstenvektors, wobei zwei hiervon, GOT-B3 sowie SKDH-B1 auf Grund ihrer niedrigen Werte auf eine Zugehörigkeit zum Campbell-River-Ökotyp deuten. Der Populationsvektor von B05 liegt mit zwei Determinanten im extremen Streubereich und mit einer sogar darunter (SKDH-B1), auch hier scheint eine Zuordnung zum Campbell-River-Ökotyp plausibler als die zum nördlichen Küstenökotyp. Da der Populationsvektor von B03 nur bezüglich der Determinanten SKDH-B1 außerhalb des Streubereiches des nördlichen Küstenreferenzvektors liegt, erfolgt die vorläufige Zuordnung zu diesem Ökotyp.

Der Vergleich von Populationsvektoren fraglicher Bestände mit dem Referenzvektor des Campbell-River-Ökotypes verdeutlicht den Grenzfall der Zuordnung von B03 (Abb. 5-44 oben). Bis auf die Werte von AMP-A liegen alle übrigen Determinanten im Streubereich um den Referenzvektor der Campbell-Gruppe. Da ihre Streuung um den Referenzvektor für das zentrale Küstengebiet jedoch in Relation zu den übrigen Vergleichen am geringsten ausfällt, wird die vorläufige Zuordnung geändert und B03 dem zentralen Küstenökotyp zugeschlagen. Die Populationsvektoren von B06 und B05 liegen bis auf AMP-A2 im engeren Bereich des Referenzvektors, so daß nun deren vorläufige Zuordnung erfolgen kann. B06 zeigt überdies den typischen Knick in der Form des Vektors an der Determinanten GOT-B3.

Die weitgehende Übereinstimmung in den Determinanten zwischen Referenzvektoren und den Populationsvektoren badischer Altbestände läßt den potentiellen Verdacht vorliegender Mischungen von Ökotypen in den Hintergrund treten, einzig bei den Populationen B05 und B06 kann dies auf Grund des hohen Wertes für AMP-A2 im Vergleich zum in Frage kommenden Referenzvektor nicht ausgeschlossen werden.

5.5.2. Zuordnung mittels Clusteranalyse

Es liegt nahe, die oben durchgeführten logischen Zuordnungen durch eine Clusteranalyse zu wiederholen. Um weiterhin ohne den mathematisch störenden Einfluß seltener Allele arbeiten zu können wird erneut mit dem Datensatz der Determinanten für die Referenzvektoren gearbeitet. Auf Grund des oben erwähnten relativen Charakters der Clusteranalyse, sollte eine Zuordnung von Elementen unbekannter Zugehörigkeit stets in einzelnen Rechenschritten erfolgen, da durch die neuen Glieder im Datensatz die Mittelwertbildung beeinflusst wird. Durch den Vergleich der Populationsvektoren mit den jeweiligen Referenzvektoren konnte jedoch der Verdacht von Mischungen weitgehend ausgeschlossen werden, so daß offensichtlich Populationsvektoren zum Vergleich anstehen, welche weitgehend denen im natürlichen Habitat entsprechen und eine Verzerrung der Clusterung nicht zu befürchten ist. Die Abbildung 5-45 zeigt das Ergebnis der Tschebyscheff-Clusterbildung als Dendrogramm. Dunkelgrün eingefärbt sind die Kurzbezeichnungen der Stichproben aus dem zentralen Küstengebiet. Überraschend wenig ändert sich am Aufbau des Clusters im Vergleich zu Abb. A.II-11. Die Gruppierungen mit größeren Abständen unter den Gliedern bleiben unbeeinträchtigt. Auch beiden Gruppierungen der zentralen Küstendouglasie werden nicht aufgelöst sondern durch die Bestände ergänzt, welche schon im Vektorvergleich als zentrale Küsten-ökotypen erkennbar waren. Damit kann der vorsichtige Schluß gezogen werden, der Bestand B01 (Sulzburg I.24) wurde mit Saatgut aus dem Willamette-Tal begründet und der Bestand B02 (Kandern I.3) stamme aus dem südlichen Oregon. Ferner zeigt die Population B07 einen engen Abstand zu einer nun neu geformten Gruppe mit Populationen des nördlichen Küstenökotypes, drei hiervon stammen aus den Kaskaden, eine von der Insel Vancouver. Der Bestand B04 hat offensichtlich größere Ähnlichkeit mit S16 als mit Probe K01, welche nun auf dem nächst größeren Abstands-niveau mit der geographisch entfernt vergleichbaren Provenienz S12 clustert. Die Gruppe von S17 und K03 (vgl Abb. A.II-11) wird aufgelöst, S17 clustert mit B05 und auf größerem Abstand mit S20. K03 wiederum clustert mit B06 und bestätigt damit auch rechnerisch die Nähe zum Campbell-River-Typ. B03 schließlich findet sich auf deutlichem Abstand in der Obergruppe mit den Gruppierungen aus dem Willamette-Tal und von den Kaskaden. Die nachstehende Tabelle 5-32 faßt die bisher beschriebenen Zuordnungsmöglichkeiten zusammen:

Tab. 5-32: Zuordnungsmöglichkeiten zu Ökotypen der Douglasie für badische Altbestände

Altbestand	Verfahren		Bemerkung
	Vektorvergleich	Clusteranalyse	
B01	zentraler Küstenökotyp	zentraler Küstenökotyp	Willamette-Tal ?
B02	zentraler Küstenökotyp	zentraler Küstenökotyp	südliches Oregon ?
B03	zentraler Küstenökotyp	nördlicher Küstenökotyp	südwestliches Washington ?
B04	nördlicher Küstenökotyp	nördlicher Küstenökotyp	
B05	Campbell-River-Typ	nördlicher Küstenökotyp	Kaskaden ?
B06	Campbell-River-Typ	Campbell-River-Typ	
B07	nördlicher Küstenökotyp	nördlicher Küstenökotyp	

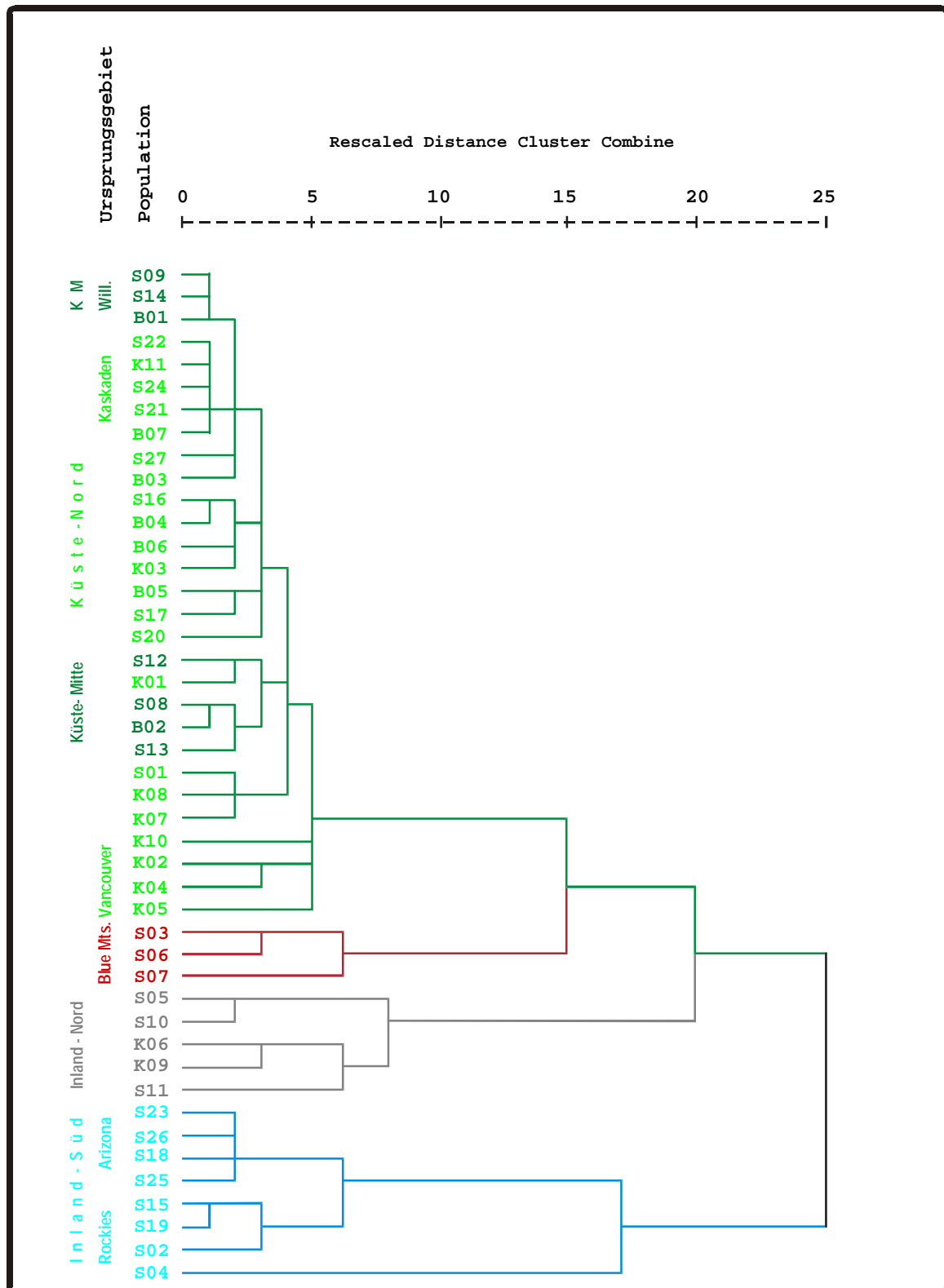


Abb. 5-45: Dendrogramm der Tschebyscheff-Clustering auf der Basis von Häufigkeitswerten der Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte

Erläuterungen: S01-S27 Handelsaatgut, K01-K11 Versuchsanbauten in B.-W.
B01-B07 badische Altbestände

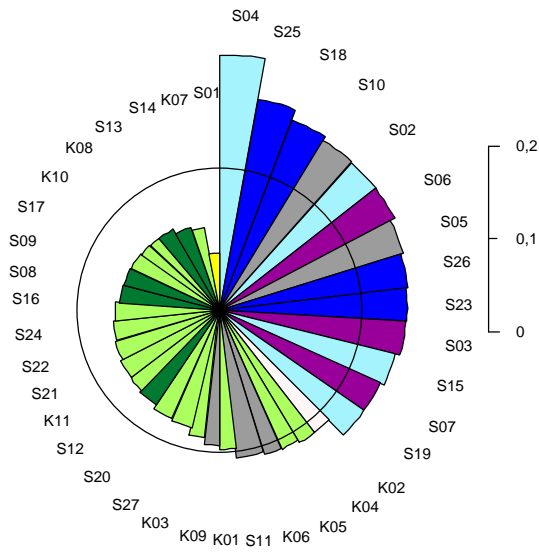
5.5.3. Hypothesenprüfung mittels Populationsdifferenzierung Dj

Die Populationsdifferenzierung (GREGORIUS & ROBERDS 1986) wurde bislang eingesetzt, um beispielsweise Unterschiedlichkeiten zwischen Plantagen- und Bestandesbeerntungen zu demonstrieren (MÜLLER-STARCK & GREGORIUS 1986), um räumliche und zeitliche Unterschiedlichkeiten der sexuellen Reproduktion innerhalb eines Bestandes sichtbar zu machen (GREGORIUS et al. 1986), oder schlicht, um solche Genloci zu identifizieren, welche eine Unterscheidungen zwischen Saatgutproben einer Region zu lassen (MÜLLER-STARCK 1987). Bei Prüfungen angeblicher Identität von Vermehrungsgut wurde dieser Parameter eingesetzt, um eventuelle Unterschiede an einzelnen Genloci aufzudecken (z.B. HÖPPNER DE RIZO 1992) oder im Falle eines Jungbestandes zweifelhafter Abstammung, um Indizien für dessen Nichtzugehörigkeit zu der als autochthon vermuteten Population der Umgebung bzw. zu deren Bestände zu finden (HATTEMER & ZIEHE 1996).

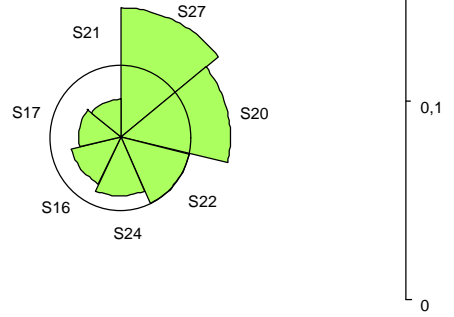
Nachdem die Arbeit von LI & ADAMS (1989) bereits eine Abstufung der Differenzierung zwischen den Populationen für die drei Varietäten der Douglasie bewiesen hat, kann nach den hier vorliegenden Ergebnissen sogar von einer Abstufung der Populationsdifferenzierung von Ökotyp zu Ökotyp ausgegangen werden (vgl. Kap. 5.4.2.), wobei die Inlandsökotypen überdurchschnittliche Werte aufweisen und die Küstenökotypen unterdurchschnittliche bezogen auf die Artebene. Es liegt daher Nahe, die besonderen Vorzüge von Dj für eine Ursprungsrekonstruktion auszunutzen. Schließlich drückt dieses Maß die Unterschiedlichkeit einer Demes zum jeweiligen Rest der Population aus, d.h. jeder Vergleich einer unbekanntes Stichprobe mit einer bekannten Population, wird die Differenzierung der Deme dann besonders stark verändern, wenn es sich um eine populationsfremde Stichprobe handelt. Hier gilt es außerdem den Stichprobeneffekt in der Form zu berücksichtigen, daß bei gegebener Vergleichbarkeit der Stichprobengrößen sich die Änderungen aller Werte dann übermäßig bemerkbar machen wird, wenn es sich um kleine Stichprobenzahlen handelt. Bei großen Stichprobenzahlen werden sich zumindest die Schwankung des gewogenen Mittels δ in Grenzen halten. Für den Fall, daß eine abgestufte, arealweite Variation dieses Maßes bekannt ist, wird eine unbekanntes Stichprobe dann zu der Population gehörig erkannt werden, wenn ihr eigener Differenzierungswert keine extreme Position im Datensatz einnimmt und wenn sie ferner einen für die Population nachgewiesenermaßen charakteristischen Mittelwert δ nicht gravierend verändert. Sobald Änderungen des gewogenen Mittels δ nach hinzufügen der unbekanntes Stichprobe festgestellt werden, sollte der Differenzierungswert der unbekanntes Probe jedoch im Mittelfeld des Datensatzes liegen, um als zugehörig erkannt zu werden. In einem solchen Falle ist zu prüfen, ob der bisher als charakteristisch geltende Wert δ des Ökotypes aus einer ausreichenden Zahl an Stichproben ermittelt wurde bzw. ob dessen Grenzen sinnvoll definiert sind. Alle anderen Fälle sind unter oben genannter Voraussetzung als Beweis einer Nichtzugehörigkeit zu werten.

Wie im Falle der Clusteranalyse (vgl. Kap. 5.4.1) wird zuerst der Einfluß einer Änderung eines Datensatzes demonstriert, bevor einzelne Abstammungshypothesen für die badischen Altbestände überprüft werden. Welchen Einfluß hat das Hinzufügen des Datensatzes aus Versuchsanbauten zum Datensatz aus Handelssaatgut? Die Abbildung 5-46a zeigt die Differenzierungsschnecke für den neuen Datensatz ("Saat & Versuch"). Interessanterweise verringert sich der gewogene Mittelwert δ von 16,4% auf 15,5%, was mit dem Übergewicht von Stichproben der Küstendouglasie in diesem Datensatz erklärt werden kann. Innerhalb der überdurchschnittlich differenzierten Gruppierung der Inlandsvarietäten ergeben sich im Vergleich zum Datensatz aus Handelssaatgut geringfügige Umreihungen (Abb. 5-43) und die Stichproben der nördlichen Inlandsdouglasie aus Versuchsanbauten werden im Rang um die Popu-

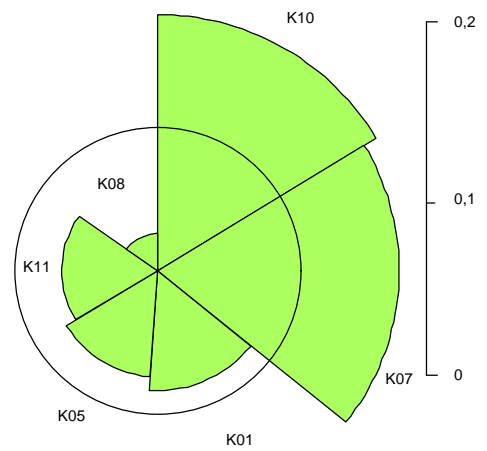
Genpool: Saat & Versuch (.155)



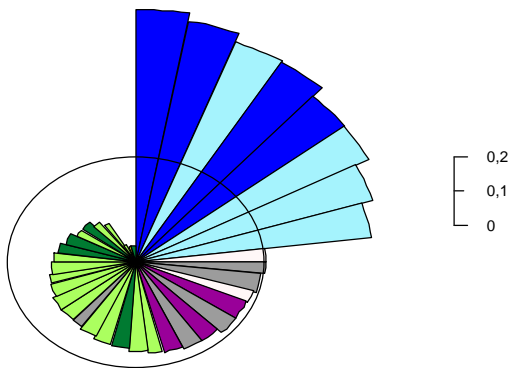
SKDH-B: KN Saat (.037)



SKDH-B: KN Versuch (.083)



SKDH: Saat & Versuch (.321)



SKDH-B: KN (.064)

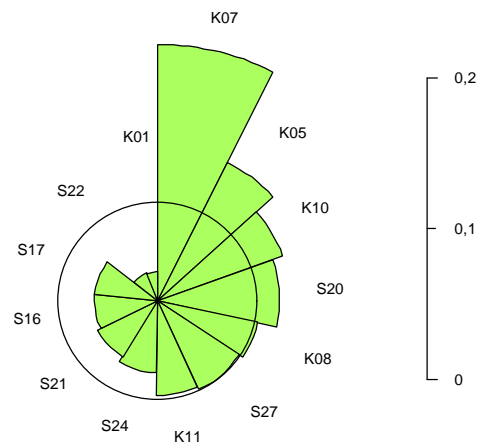
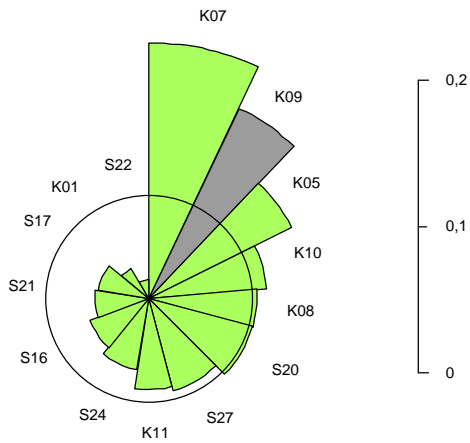
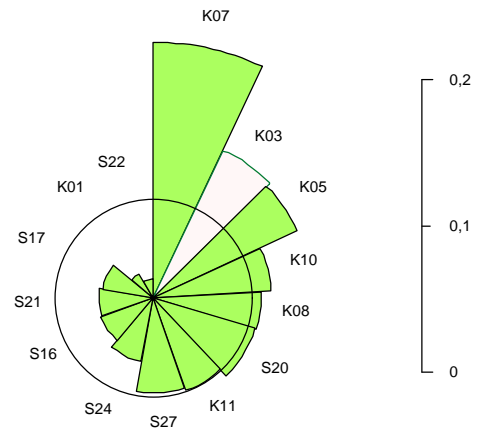


Abb. 5-46: Populationsdifferenzierung im Genpool sowie am Genort SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp. Erläuterungen im Text. Datensätze: Handelssaatgut (Saat) und Versuchsanbauten (Versuch)

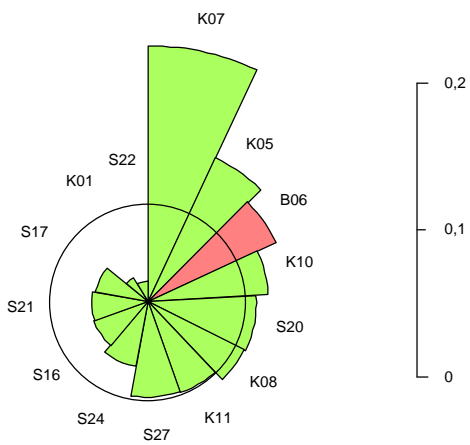
SKDH-B: IN/KN (.066)



SKDH-B: CB/KN (.064)



SKDH-B: B06/KN (.064)



SKDH-B: B05/KN (.063)

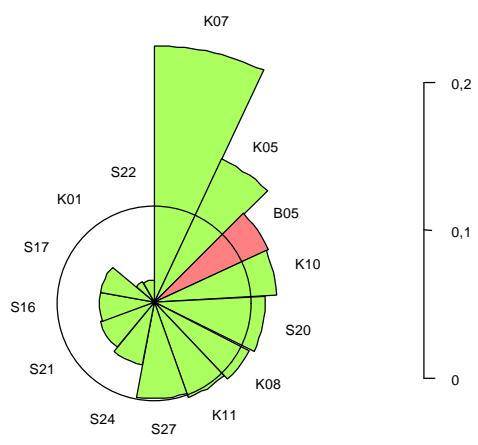
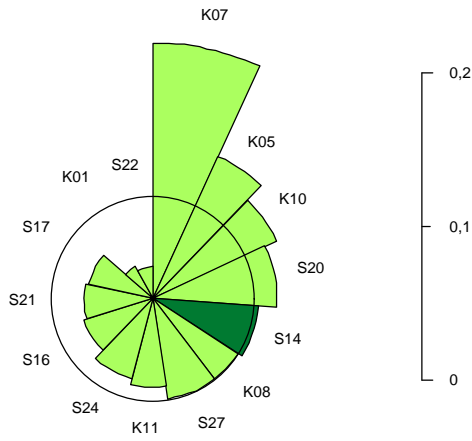
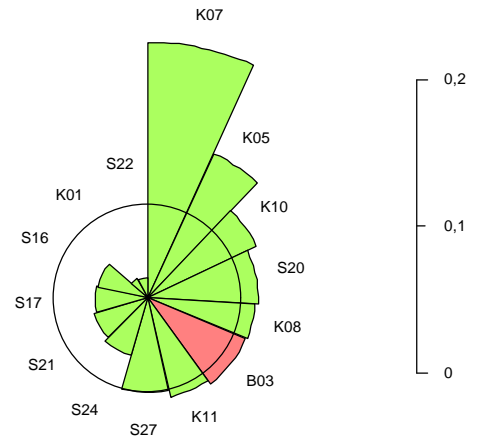


Abb. 5-47: Populationsdifferenzierung am Genlocus SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp und unterschiedlichen Testpopulationen. Erläuterungen im Text.

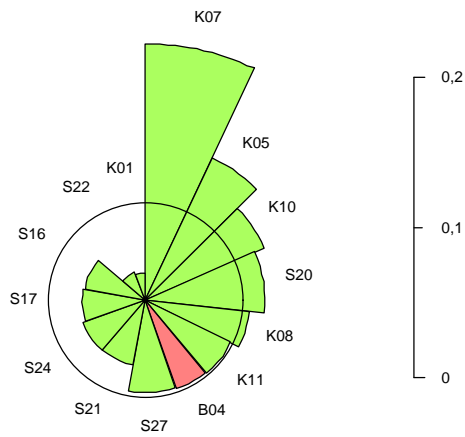
SKDH-B: KM/KN (.065)



SKDH-B: B03/KN (.062)



SKDH-B: B04/KN (.063)



SKDH-B: B07/KN (.062)

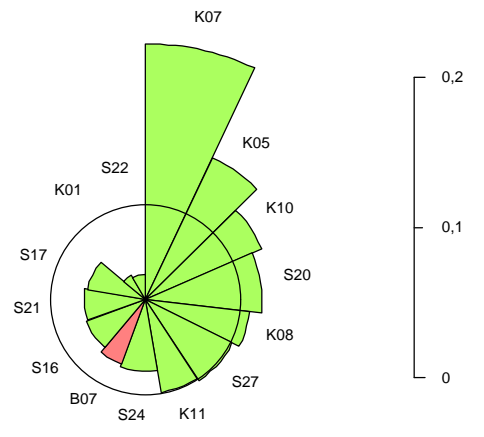


Abb. 5-48: Populationsdifferenzierung am Genlocus SKDH-B für den nördlichen Küstenökotyp und unterschiedliche Testpopulationen. Erläuterungen im Text.

lation S11 auf durchschnittlichem Differenzierungsniveau unmittelbar umrahmt von den Deme des Campbell-Ökotypes eingeordnet. Als Ausnahmen von den übrigen Ökotypen der Küstendouglasie sind die Populationen K01 und K05 ebenfalls durchschnittlich differenziert. Der zentrale Küstenökotyp zeigt sich erneut deutlich unterdurchschnittlich differenziert, ebenso wie der Vertreter der südlichen Küstendouglasie. Die Deme der nördlichen Küstendouglasie zeigen sich leicht uneinheitlich mit deutlichem Schwerpunkt im schwach unterdurchschnittlich differenzierten Bereich (Abb. 5-46a). Bereits im Datensatz aus Handelssaatgut wurde eine relativ eindeutige Abstufung im Niveau der Populationsdifferenzierung für die Deme der jeweiligen Ökotypen gefunden (Abb. 5-43). Im erweiterten Datensatz ist dies bestätigt, der Campbell-Ökotyp wird mit durchschnittlichen Differenzierungswerten vor den Deme der nördlichen Inlandsdouglasie bzw. der Blue Mountains eingeordnet. Aufgrund der geringen Streuung der Differenzierungswerte bzw. der sichtbaren Abstufung auf der Artebene, kann die Populationsdifferenzierung am Genort SKDH-B zur Überprüfung von Abstammungshypothesen herangezogen werden.

Als nächster Schritt wird die Auswirkung der Kombination beider Datensätze am Genort SKDH-B für das Beispiel des nördlichen Küstenökotypes betrachtet (Abb. 5-46 c-d), die einzelnen Daten hierzu finden sich im Anhang (Tab. A.II-18a,b). Die Stichproben des Handelssaatgutes (KN Saat) zeigen sich gering differenziert (.037), diejenigen aus Versuchsanbauten (KN Versuch) doppelt so stark unterschiedlich untereinander (.083). Selbstverständlich können ontogenetisch bedingte Steigerungen nicht ausgeschlossen werden, ein solch hoher Wertunterschied läßt jedoch bei den betroffenen Populationen K07 und K10 andere Gründe, wie Drift oder Selektion, in den Vordergrund treten. Die Relativität des Verfahrens wird deutlich im neuen Datensatz (KN), wo die Provenienzen K07 und K05 sich mit mehr als 10% bzw. 17% ihrer Gene von den zusammengefaßten Strukturen der restlichen Deme unterscheiden und K10 nun nur leicht überdurchschnittlich differenziert ist (Abb. 5-46d)!

Ein weiterer Schritt besteht nun im Einfügen bekannter Stichproben als Testpopulationen. Aus Abbildung 5-47 ist ersichtlich, daß Deme der nördlichen Inlandsform (Bsp.: K09) ebenso wie Deme der Campbell-Gruppe (Bsp.: K03) stets einen extremen Rang in der Differenzierung einnehmen und teilweise das gewogenen Mittel δ des großen Datensatzes verändern! Da das Einfügen der badischen Altbestände B05 und B06 eine vergleichbare Auswirkung zeigt (Abb. 5-47c,d), liegt ein weiteres Indiz für deren Zuordnung zum Campbell-Ökotyp vor. Auch das Einfügen eines Vertreters des zentralen Küstenökotypes (S14) in den Datensatz bewirkt eine Veränderung von δ sowie eine Position im oberen Drittel aller Stichproben. Eine nahezu identische Wirkung ruft das Einfügen von B03 hervor; die Population wird, leicht überdurchschnittlich differenziert, im Mittelfeld der Deme am Rand zum oberen Drittel positioniert (Abb. 5-48a,b). Relativ eindeutig hingegen erfolgt das Einfügen der badischen Altbestände B04 und B07 in den Datensatz, bei dem beide Populationen entweder durchschnittlich oder sogar unterdurchschnittlich verschieden sind von den übrigen Deme des nördlichen Küstenökotypes (Abb. 5-48c,d). Der Bestand B07 zeigt eine vergleichbare Populationsdifferenzierung wie die Stichproben S16, S21 und S24, was den Verdacht auf eine Abstammung aus dem Gebiet der Kaskaden Washingtons bestätigt, ohne weitere Klarheit zu verschaffen.

Der wesentlich kleinere Datensatz für den zentralen Küstenökotyp zeigt ebenfalls eine extreme Rangordnung in der Populationsdifferenzierung auf der Ebene des Genpools für eine eingefügte Testpopulation aus dem nördlichen Küstenbereich (Bsp.: S27), wie Tabelle 5-33a verdeutlicht. Auf der Ebene des Genortes SKDH-B wird dies noch deutlicher bezüglich des gewogenen Mittels δ . Während die Einordnung der Altbestände B01 und B02 auf der Ebene des Genpools nicht positiv zu bewerten ist, fällt sie auf der Ebene des Genortes SKDH-B eindeutig als Indiz einer Zugehörigkeit beider Bestände zum zentralen Küstenökotyp aus (Tab. 5-33b). Anders hingegen wirkt sich das Hinzufügen der Populatio-

Tab. 5-33: Test über Zugehörigkeit zum zentralen Küstenökotyp (KM) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj:

a) im Genpool

Datensatz	Deme						Test-Population	δ
	S08	S09	S12	S13	S14			
KM	.051	.048	.059	.095	.060		.063	
KN → KM	.048	.047	.060	.097	.059	S27: 0.069	.063	
B01 → KM	.048	.047	.060	.099	.056	B01: 0.083	.064	
B02 → KM	.051	.051	.059	.096	.060	B02: 0.081	.066	
B03 → KM	.054	.056	.056	.096	.068	B03: 0.117	.075	
B04 → KM	.051	.045	.058	.104	.054	B04: 0.103	.067	
B07 → KM	.051	.049	.060	.100	.058	B07: 0.082	.066	

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße

c) am Genort SKDH-B

Datensatz	Deme						Test-Population	δ
	S08	S09	S12	S13	S14			
KM	.072	.067	.131	.178	.047		.099	
KN → KM	.071	.047	.104	.191	.053	S27: 0.104	.095	
B01 → KM	.069	.062	.123	.176	.044	B01: 0.057	.090	
B02 → KM	.076	.074	.135	.164	.043	B02: 0.066	.095	
B03 → KM	.062	.041	.099	.196	.054	B03: 0.129	.097	
B04 → KM	.069	.049	.110	.189	.052	B04: 0.113	.096	
B07 → KM	.071	.060	.121	.179	.042	B07: 0.090	.094	

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

nen B03, B04 und B07 aus: Auf der Ebene des Genpools sind Zugehörigkeiten nicht ersichtlich, wohl aber auf der Ebene des Genortes SKDH-B, wo auch die Altbestände B03, B04 und B07 auf Grund des Ranges in der stärker differenzierten Hälfte der Deme als nicht zugehörig eingestuft werden müssen (Tab. 5-33a,b). Der Datensatz demonstriert unübersehbar seine kleine Dimension, indem das Hinzufügen jeder Test-Stichprobe zu einer Verringerung von δ führt. Da B01 einen benachbarten Rang in der Populationsdifferenzierung am Genort SKDH-B einnimmt wie die Provenienzen aus dem Willamette -

Tal, scheint eine Abstammung von Populationen jener Region äußerst wahrscheinlich. Ebenso kann die Abstammung für den Bestand B02 mit dem nämlichen Argument im Bereich der Coast Range von Oregon angenommen werden.

Tab. 5-34: Test über Zugehörigkeit zum Campbell-River-Ökotyp (CB) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj:

a) im Genpool

Datensatz	Deme				δ
	K02	K03	K04	Test-Population	
CB	.099	.115	.096		.103
KN → CB	.098	.109	.079	S27: 0.076	.089
KM → CB	.099	.102	.089	S14: 0.094	.096
IN → CB	.123	.094	.129	K09: 0.202	.135
B05 → CB	.109	.090	.101	B05: 0.100	.100
B06 → CB	.101	.098	.088	B06: 0.076	.091

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße

c) am Genort SKDH-B

Datensatz	Deme				δ
	K02	K03	K04	Test-Population	
CB	.125	.058	.100		.094
KN → CB	.112	.093	.110	S27: 0.100	.103
KM → CB	.064	.088	.133	S14: 0.111	.101
IN → CB	.099	.043	.110	K09: 0.122	.093
B05 → CB	.122	.050	.078	B05: 0.033	.071
B06 → CB	.111	.044	.089	B06: 0.022	.076

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße
Zu den Abkürzungen siehe Verzeichnis S. VIII

Auch bei dem extrem kleinen Datensatz der Campbell-Gruppe (Tab. 5-34a,b) zeigt das Hinzufügen von Testpopulationen eine Verringerung des gewogenen Mittels δ auf der Ebene des Genpools, mit Ausnahme der Population K09, welche eine stärkere Unterschiedlichkeit innerhalb der Gruppe hervorruft. Außerdem ändert sich die Rangfolge der Deme bei der Eingabe neuer Testpopulationen. Auf der Ebene des Genpools kann über eine Zugehörigkeit nicht entschieden werden, wohl aber am Genort SKDH-B, wo

eine deutliche Absenkung der Verschiedenheit (δ) innerhalb der Gruppe von 9,4% auf 7,1 bzw. 7,6% durch das Zufügen der Altbestände zum Datensatz erreicht werden kann.

Damit kann eine Zuordnung der badischen Altbestände zu folgenden Ökotypen der Douglasie auf der Basis der Populationsdifferenzierung erfolgen, wie in Tabelle 5-35 zusammengefaßt.

Tab. 5-35: Übersicht der Zuordnungsmöglichkeiten zu Ökotypen der Douglasie für badische Altbestände

Altbestand	Verfahren: Dj			Verfahren		
	CB	KN	KM	Vektor	Cluster	Bemerkung
B01			X	KM	KM	Willamette-Tal
B02			X	KM	KM	Oregon: Coast Range nicht eindeutig
B03		(X)		KM	KN	
B04		X		KN	KN	
B05	X			CB	KN	
B06	X			CB	CB	
B07		X		KN	KN	Kaskaden ?

Zu den Abkürzungen: s. Verzeichnis S. VIII. Weitere Erläuterungen im Text.

5.5.4. Diskussion

Bislang wurden selten Arealunterteilungen bei Baumarten auf der Basis von Isoenzymuntersuchungen vorgenommen. Wenn dies bisher geschah, dann stets unter Berechnung genischer Distanzen, etwa bei der heimischen Weißtanne (KONNERT & BERGMANN 1995, KONNERT 1993) oder bei nordamerikanischen Baumarten (WHEELER & GURIES 1982, STEINHOFF et al. 1983). Aus derlei Ergebnissen wurden dann auch Schlußfolgerungen auf die Phylogenese der untersuchten Arten vorgenommen, obwohl die Distanzmaße auf Grund der paarweisen Berechnung *a priori* vom Komplement aus den restlichen Stichproben eines Datensatzes unabhängig sind (vgl. HATTEMER et al. 1993, S.), so stellt eine Clusteranalyse genau jene Verbindung zum Komplement her, die vielfach unterschätzt wird. Es ist daher kein Wunder, wenn das Hinzufügen neuer Stichproben zu bestimmten Datensätzen für Umgruppierungen innerhalb von Clustern sorgen, wie das in Kapitel 5.4. demonstriert wurde. STAUFFER & ADAMS (1993) berichten von einer solchen Umgruppierung einer Stichprobe (ibid. 1993: Nr. 35), bei näherer Betrachtung werden jedoch eine ganze Reihe von Umgruppierungen für den im Vergleich zu der früheren Arbeit von LI & ADAMS 1989 verkleinerten Datensatz der Küstendouglasie vorgenommen, in welchen überdies drei Schweizer Stichproben eingebaut werden. Im Gegensatz zu den Analysen der vorliegenden Arbeit bleibt die Gruppe der Schweizer Douglasienbestände im Dendrogramm von STAUFFER & ADAMS (1993, S. 256) isoliert, was nach der hier vertretenen Auffassung vermutlich auf Drifteffekte im nur bedingt zu Abstammungsanalysen tauglichen Material¹²¹ jener Arbeit zurückgeführt werden muß.

¹²¹ Es handelte sich um Beerntungen weniger Mutterbäume aus Sprengmast. vgl. Kap. 5.2.3.2.

Generell sind Clusteranalysen schwierig zu interpretieren und liefern wenig Hinweise auf mögliche Gruppierungsursachen.

Ganz anders hingegen die Populationsdifferenzierung D_j . Hier zeigen bekanntlich kleine Werte eine hohe Ähnlichkeit zwischen den betrachteten Stichproben an (GREGORIUS & ROBERDS 1986) und die speziellen Eigenschaften können ebenfalls als bekannt vorausgesetzt werden, wie etwa der unzulässige Schluß aus gleichen D_j -Werten auf gleiche allelelische Strukturen zweier Stichproben (HATTMER et al. 1993). Die Information aus der Populationsdifferenzierung ist vielschichtig: einmal zeigen kleine Werte eines betrachteten Demes an, daß es selbst in hohem Ausmaß gleiche Gene besitzt wie der zusammengefaßte Rest der übrigen Population, zum zweiten kann diese Eigenschaft stets im Verhältnis zum gewogenen Mittel aller Populationen eingeschätzt werden und zum dritten kann bei Änderungen des Datensatzes die Wirkung des neuen Gliedes am gewogenen Mittel δ , am eigenen Wert des neuen Gliedes sowie an der Rangfolge der übrigen Glieder ausgelotet werden. Dieser mehrschichtige Respons macht die Populationsdifferenzierung wertvoll für eine Abgrenzung von Ökotypen oder Topodeme, wie die obigen Ausführungen zeigen. Solange man die Ebene der Art betrachtet, zeigen letztlich kleine Werte eine größtmögliche Übereinstimmung mit dem jeweiligen Komplement an und liefern damit Hinweise auf Refugien oder Evolutionszentren. So muß im vorliegenden Fall (Abb. 5-46), davon ausgegangen werden, daß nicht nur der zentrale Küstenökotyp sondern auch der südliche Küstenökotyp (Population S01) Teile alter Refugialpopulationen präsentieren.

Da erstmals die Populationsdifferenzierung auf der Artebene aus einem größeren Datensatz ermittelt wurde, können die Abstufungen, welche bereits mit Hilfe des G_{ST} Wertes nach (NEI 1973) in der Arbeit

Tab. 5-36: Differenzierung zwischen Populationen der Douglasie

Zu den Abkürzungen: s. Verzeichnis S. VIII. Weitere Erläuterungen im Text.

Ökotyp	Populationsdifferenzierung		
	G_{ST} (LI & ADAMS 1989)	D_j (gew. Mittel) Ebene: Art	δ Ebene: Ökotyp
IN	.043	.229	.083
IS	.122	.242	.054
Ü		.201	.081
KS		.062	-
KM	.071	.106	.063
KN		.119	.069
CB		.156	.103
Genpool (Art)	.241	.155	-

von LI & ADAMS (1989) ermittelt wurden, bestätigt werden, allerdings in erheblich feineren Abstufungen von Ökotyp zu Ökotyp. Wie die Tabelle 5-36 verdeutlicht, findet die Abstufung der G_{ST} -Werte (LI & ADAMS 1989) ihre Entsprechung in den stark abgestuften, gewogenen Mittelwerten der Populationsdifferenzierung auf der Artebene. Tatsächlich zeigen die D_j Werte eine Unterschiedlichkeit der südlichen Inlandsdouglasie von durchschnittlich 24,2% (gewogenes Mittel). Das Ausmaß der Differenzierung

nimmt dann stetig ab, über die nördliche Inlandsdouglasie, die Übergangsgruppe aus den Blue Mountains, die Campbell-Gruppe bis zur zentralen Küstendouglasie. Berechnet man die Differenzierung nur innerhalb des jeweiligen Ökotypes, so ist das Niveau der einzelnen Küstenökotypen ähnlich (Tab. 5-36), lediglich die Campbell-Gruppe zeigt eine höhere Heterogenität (10,3%) der einzelnen Deme an, was durch die junge Entwicklung erklärt werden kann. Letzteres gilt auch für die nördliche Inlandsdouglasie (8,3%), die nahezu ihr komplettes Areal nach der Eiszeit wiederbesiedeln mußte. Die Übergangsgruppe, die auch heute wieder dem Einfluß der Küsten- wie der nördlichen Inlandsvarietät ausgesetzt ist, verfügt über einen ähnlich hohen Wert. Die südliche Inlandsform hingegen unterscheidet sich zwar in beträchtlichem Ausmaß von den übrigen Ökotypen, innerhalb der Varietät findet sich jedoch ein hohes Maß an Ähnlichkeit. Im Durchschnitt teilt ein Dem 94,8% aller Gene mit dem zusammengefaßten Rest der übrigen Deme, was rasch mit dem hohen Anteil nahezu fixierter Genloci erklärt ist. Dadurch kommt die oben diskutierte, lange Isolation der südlichen Inlandsvarietät während des Pleistozän deutlich zum Ausdruck!

Da die δ -Werte einzelnen Ökotypen somit stets unter dem Wert von δ für die Artebene von 0,155 bleiben, bilden sie einen weiteren Hinweis auf eine sinnvolle Abgrenzung der einzelnen Ökotypen. Ein Einsatz zur Abstammungsrekonstruktion ist möglich, da die Abstufung der D_j -Werte deutlich ausfällt, auch wenn die Ökotypen der Küstendouglasie hier eine überlappende Streuung zeigen (Abb. 5-46). Die Ökotypen aus dem nördlichen Arealteil zeigen eine ähnliche Dimension von δ , wie sie von LEINEMANN (1998) für entsprechende Stichproben ermittelt worden sind. Der *ex silentio* seines Datenmaterials gezogene Schluß auf die Rassen der Douglasie (LEINEMANN 1998) muß auch an dieser Stelle in seiner Gültigkeit auf die nördlichen Ökotypen dieser Baumart eingeschränkt werden.

Ein letzter Punkt, der hier Beachtung verdient, ist die Frage, warum einige Stichproben durch extrem überdurchschnittliche Differenzierungswerte auffallen. So besitzt beispielsweise K05 innerhalb der Gruppe der nördlichen Küstendouglasie einen fast doppelt so hohen Differenzierungswert, wie das gewogene Mittel der ganzen Gruppe (Tab. A.II-18). In Verbindung mit niedrigen Diversitätswerten v bzw. einer niedrigen Intrapopulationsdifferenzierung δ_T kann dies als Hinweis auf Drift gewertet werden¹²². Tatsächlich sind die entsprechenden Werte von K05 im Mittelfeld des Datensatzes aus Versuchsanbauten (Tab. 5-14) zu finden. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, daß die übliche, systematische Durchforstung bereits in diesem Alter der Versuchsfläche Steinheim (vgl. Tab. 3-2) zu ersten Drifteffekten bei den Provenienzen führt. Vor diesem Hintergrund ist auch die Problematik der Einordnung des Altbestandes B03 mittels Populationsdifferenzierung zu sehen, der bei der Einordnung in den Datensatz des zentralen Küstenökotypes einen extremen Rang einnimmt und sich gleichzeitig bei der Einordnung in den Datensatz der nördlichen Küstendouglasie wie eine Provenienz des zentralen Küstenökotypes verhält. Von allen in der vorliegenden Arbeit untersuchten badischen Altbeständen besitzt B03 die geringste Diversität bzw. Intrapopulationsdifferenzierung (Tab. 5-15). Es kann daher auch in diesem Fall das Vorliegen von Drift nicht ausgeschlossen werden, wo von den einst in Kultur gebrachten 1570 Douglasienpflanzen im Jahre 1988 noch etwas mehr als 100 übrig waren¹²³.

Trotz des kleinen Datensatzes, welcher für die Analyse morphologischer Strukturen zur Verfügung stand (vgl. Kap. 4), kann eine Übereinstimmung der Ergebnisse aus beiden Methoden für die Bestände B02 und B07 festgestellt werden. Bei den Beständen B03, B05 und B06 stimmt zumindest die Tendenz der Zuordnung überein, während bei den Beständen B01 und B04 die morphologischen Merkmalsstrukturen zu gegensätzlichen Abstammungsschlüssen führen. Hier werden Folgestudien zeigen müssen,

¹²² Pers. Mitteilung Prof. Hattemer, Göttingen, Oktober 1999.

¹²³ vgl. Kap.5.2.3.1.

ob eine bessere Übereinstimmung beider Methoden durch verbesserte Arbeitsabläufe der morphologischen Analysen möglich sind.

Zieht man die Ergebnisse des Trennmethodevergleiches für das Enzymsystem 6-PGDH (Kap. 5.3.1.4.) mit zur Urteilsfindung über das Vorliegen möglicher Mischungen heran, so deutet das Auftreten des bislang ausschließlich in der Inlandsrasse nachgewiesenen Alleles A2' (vgl. S. 163) in der Probe B06 zweifelsfrei auf die Gegenwart von Individuen der nördlichen Inlandsrasse in der Population des Bestandes Heidelberg I.25. Da alle Merkmalsträger mischerbig für diese Allelkombination sind, kann der Anteil von Vertretern der nördlichen Inlandsform im Bestand B06 mit mindestens 5% angegeben werden. Betroffen sind zumindest die Probebäume 12, 24 und 26 des genannten Bestandes.

5.5.5. Schlußfolgerungen

Die Populationsdifferenzierung nach GREGORIUS & ROBERDS (1986) ist ein empfindliches Maß, welches neben den bisher bekannten Verwendungsmöglichkeiten in der Lage ist, die Differenzierung zwischen den Populationen auf der Artebene sowie auf der Ebene von Ökotypen zu beschreiben. Sie gestattet vielfältige Schlußfolgerungen über die Evolution einer Art, die Identifikation von Rückzugsgebieten oder von Entwicklungszentren, die Identifikation von Ökotypen sowie über die Isolation von Varietäten. Bei der Abstammungsrekonstruktion kann die Populationsdifferenzierung an einzelnen Genloci eine Zuordnung fraglicher Stichproben zu Ökotypen, in Sonderfällen zu den Populationen einer engeren Region erleichtern, sofern eine umfassende Kenntnis der arealweiten Variation der betreffenden Art vorliegt. Auf der Ebene des Genpools ist mit Verzerrung arealspezifischer Effekte durch das zufällige Auftreten seltener Allele zu rechnen.

Referenzvektoren gestatten eine Zuordnung fraglicher Stichproben zu Ökotypen sowohl über graphische Vergleiche als auch über Clusteranalysen auf der Basis von Populationsvektoren der sie repräsentierenden Populationen. Gegenüber genischen Distanzen zeigen sich Referenzvektoren konstruktionsbedingt unempfindlich bezüglich Verzerrungen durch das zufällige Auftreten seltener Allele in Abhängigkeit der gewählten Stichprobengröße.

Mit Ausnahme des Altbestandes B03 können die badischen Altbestände zweifelsfrei zu drei verschiedenen Ökotypen der Küstendouglasie zugeordnet werden: Die Bestände B01 und B02 werden dem zentralen Küstenökotyp zugeordnet, die Bestände B05 und B06 dem Campbell-Ökotyp. Die Populationen B04 und B07 werden als nördlicher Küstenökotyp eingestuft. In zwei Fällen (B05, B06) kann die Problematik von Mischungen unterschiedlicher Varietäten nicht ausgeschlossen werden. Die Verwendung des biochemischen Trennmethodevergleiches gibt für den Bestand B06 den eindeutigen Hinweis auf Vorliegen einer Beimengung der nördlichen Inlandsdouglasie im Ausmaß von 5%.

6. Schlußbetrachtungen

Die Stichprobennahme entscheidet über die Aussagemöglichkeit von Untersuchungen. Dieser Umstand findet oft nur scheinbare Beachtung, indem statistische Tests durchgeführt und Vertrauensintervalle angegeben werden. Das eigentliche Objekt der Untersuchung, etwa eine Baumart, wird selten ihren Eigenheiten entsprechend beprobt. Im vorliegenden Fall einer genökologischen Studie war die Probennahme nicht arealdeckend möglich, deshalb kann aus dem eigenen Datensatz auch keine Aussage über *Pseudotsuga menziesii* im gesamten Areal, sondern nur in den beprobten Arealteilen getroffen werden. Die Analyse des Datensatzes der arealweiten Studie von LI & ADAMS (1998) gestattet allerdings zu einem großen Teil wechselseitige Ergänzungen in den möglichen Schlußfolgerungen. Eine ganze Reihe von vordergründigen Unterschieden in den Ergebnissen der Isoenzymanalyse an der Douglasie aus zurückliegenden Jahren (vgl. Tab. 2-4), wie sie u.a. von EL-KASSABY (1991) diskutiert worden sind, haben ihre Ursache in geographisch unterschiedlichen Orten der Probennahme und können durch die in vorliegender Arbeit getroffenen Abgrenzung von Ökotypen relativiert werden. Insofern war beispielsweise der Ansatz von MERKLE & ADAMS (1987), die genetische Variation metrischer Merkmale mittels Isoenzymanalyse in einem als durch heterogene Standortsverhältnisse geprägten und als eventuelles Eiszeitrefugium bekannten Gebiet (UNKRIG 1988) nachzuvollziehen, von vorne herein zum Scheitern verurteilt. Wenn es sich um ein Eiszeitrefugium handelt, wären weitgehende Ähnlichkeiten genetischer Strukturen der Populationen *a priori* zu erwarten (q.e.d. MERKLE & ADAMS 1987) oder wenn eine Anpassung an den Standort vorliegt, dann reichten bloße Unterscheidungen von Höhenstufen bei weitem nicht aus, um die Vergleichbarkeit von Stichproben zu belegen. Die besonderen ökologischen Herausforderungen einer Waldpflege im Gebirge erfordern bekanntlich die Berücksichtigung einer Reihe von Faktoren. Schließlich und letztlich müssen aus der Vielzahl der bereitstehenden Isozymenmarker diejenigen herausgegriffen werden, die auf Grund der Bandbreite ihrer Variation überhaupt die Chance bieten, geographische Variation oder gar die Variation des Standortes zu erfassen. Die massenhafte Analyse von Genloci hingegen verdeckt die wenigen nachweisbaren Zusammenhänge.

Im vorliegenden Fall der geographischen Variation der Douglasie scheint die Geschichte dieser Baumart, d.h. ihre Evolution seit dem Pliozän die genetische Variation mehr geprägt zu haben, als der Standort. Die Ausbreitung erfolgte stets in passende Räume. Der letzte Vorstoß der Küstendouglasie nach Norden vor etwa 4500 Jahren (s.o.), dessen Deme heute die Campbell-Gruppe bilden, gibt hierfür ein Beispiel. Insoweit scheint die Suche nach Standortsrassen eine vergebliche Mühe und die teilweise vorzufindenden Widersprüche in Provenienzversuchen (WHITE & CHING 1985) finden ihre Erklärung in den Topodemen einer Region. Die Anpassung an den Standort erfolgte im wesentlichen schrittweise während der Isolation in den jeweiligen Refugien über Millionen von Jahren, so daß die heute vorhandenen Ökotypen letztlich mit bestimmten Klimaräumen in Verbindung gebracht werden können. Insoweit ist der Gebrauch des Begriffes Ökotyp gerechtfertigt, auch wenn er nicht der ursprünglichen Intention von TURESSON (1923) voll entspricht.

Die Referenzstrukturen der Ökotypen erweisen sich als stabile Merkmale, welche auch beim Anbau in geographischer Entfernung zum natürlichen Habitat erhalten bleiben. Selbst in den badischen Altbeständen sind sie nachweisbar, eine überraschend detaillierte Abstammungsrekonstruktion ist möglich. Die von LEINEMANN (1998) zu recht aufgeworfenen Frage der Mischung von Rassen im Verkehr mit forstlichem Vermehrungsgut sollte zumindest für die Begründung der Altbestände relativiert werden. Zum einen wurde zu Beginn des Jahrhunderts das Saatgut der Douglasie überwiegend aus den Exploitationsgebieten in Oregon und Washington später aus British Columbia bezogen, ohne daß der Wert irgendwelcher Provenienzen auf dem Saatgutmarkt bekannt war. Der finanzielle Anreiz absichtlicher Mischungen fehlte also. Zum anderen zeigen forstgeschichtliche Arbeiten, daß auch das Nachbesse-

rungsprozent der frühen Douglasienkulturen als extrem gering einzustufen ist (KLUMPP & GÜRTH 1987). Somit bleiben als Vermischungsmöglichkeit lediglich die Transportzusammenstellung bei den Baumschulen, besonders wenn diese das Material von bäuerlichen Subunternehmern übernahmen, oder eine schrittweise Verjüngung der Bestände über lange Zeiträume. Mit steigender Bedeutung der Provenienzforschung und steigender Wirtschaftskraft nimmt dann die Gefahr von Vermengungen unterschiedlicher Provenienzen erst in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts zu.

In einem völlig anderen Licht erscheint nun die Differenzierung in die drei Formen: grüne, graue und blaue Douglasie. Sowohl die Referenzstrukturen als auch die genetische Variations- und Distanzmaße wie genetische Diversität, Intrapopulationsdifferenzierung, Populationsdifferenzierung etc. belegen den Sinn einer solchen Unterscheidung, auch wenn die systematische Botanik zu Beginn unseres Jahrhunderts krampfhaft und vergeblich nach dem jeweils einen trennenden Merkmal gesucht hat. Mag die Unterscheidung von nur zwei Varietäten, einer Inlands- und einer Küstenform, im Holzhandel gerechtfertigt sein, dem Verständnis der Ökologie von *Pseudotsuga menziesii* hilft sie genauso wenig wie sie der unterschiedlichen Entwicklungsgeschichte gerecht wird. Wie in Kapitel 5.1 ausgeführt, lassen sich sehr wohl typische Bandbreiten einer Variation morphologischer Merkmale bei Knospen nachweisen. Die Summe der vorgelegten Erkenntnisse aus Genetik, Biochemie und Dendrologie lassen im Zusammenhang mit Erkenntnissen aus der Provenienzforschung den Schluß zu, hier von drei Unterarten zu sprechen, welche ihrerseits wiederum auf Grund der postglazialen Rückwanderungsgeschichte in Ökotypen zu gliedern sind. Dabei wird nicht ausgeschlossen, daß nach künftigen, intensiven Studien weitere Ökotypen beispielsweise im Bereich der nördlichen Inlandsdouglasie beschrieben werden können.

Der frühe Nachweis, den intermediären Phänotyp der nördlichen Inlandsdouglasie durch Kreuzung von südlicher Inlandsform mit der Küstenform künstlich herstellen zu können (EKLUNDH 1943) verstellte den Blick auf die Entwicklung der Douglasie vor dem Pleistozän. In der Folge wurden die Ergebnisse unterschiedlicher Disziplinen stets an die Theorie von HALLIDAY & BROWN (1943) angelehnt, die eine postglaziale Rückwanderung aus zwei Refugien postulierte und damit nur der Küstenform und der südlichen Inlandsform den Rang einer Varietät eingestand, während die nördliche Inlandsform meist als das Hybridisierungsprodukt aus den beiden Erstgenannten gesehen wurde. Tatsächlich bietet eine nüchterne Betrachtung der Ergebnisse der Paläontologie eine Vielzahl an Hinweisen auf verschiedenen Refugien (s.o.), teilweise aus unterschiedlichen erdgeschichtlichen Epochen, die sich mit den Ergebnissen der geographischen Variation der Isozymmarker decken.

Auch wenn nicht jeweils eine Nadelfarbe als charakteristisches phänotypisches Merkmal belegt ist, sondern eher von unterschiedlichen Bandbreiten der Merkmalsvariation auszugehen ist (vgl. SCHENCK 1939), so sollte dennoch der bereits eingeführte, an die Nadelfarbe erinnernde Name der Varietäten beibehalten werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde mehrfach der Vergleich zwischen der Douglasie und den heimischen Nadelbaumarten *Abies alba* sowie *Picea abies* bezüglich genetischer Variations- und Differenzierungsparameter bemüht. BERGMANN (1991) diskutiert den Unterschied der beiden Baumarten Fichte und Tanne aus der Sicht anthropogener Einflüsse sowie aus der Sicht der nacheiszeitlichen Entwicklung. Tatsächlich öffnen die vorliegenden Ergebnisse über die Douglasie eine weitere Perspektive: die der synökologischen Strategie: Während die Fichte eine Klimaxbaumart mit Pioniereigenschaften ist, tendiert die Tanne eher zum Mischbestand mit Laubholz oder zumindest zum Fruchtwechsel mit Fichte bzw. Buche (GÜRTH 1982). Ein berühmtes Beispiel hierfür und von Naturschützern selten verstanden ist u.a. der Bannwald „Große Tannen“ bei Freudensstadt in Baden-Württemberg, welcher derzeit fast ausschließlich in Buchenverjüngung steht. Die Douglasie hat ihre phylogenetischen Wurzeln ebenfalls in

derartigen Mischwäldern mit Laubholz, wie die asiatischen Vorkommen belegen (ANONYMUS 1972, NIOU 1990), und kommt heute noch in Mixed-Evergreen-Gesellschaften (Klamath Range: UNKRIG 1988) oder der mediterran getönten "Coastal Douglas-fir Zone" der Insel Vancouver (KLINKA et al. 1984) vor. Untersuchungen bzw. Vergleiche von Kronenarchitektur, Regenerationsreaktivität und Wurzelsystem bei den drei Baumarten belegen nicht nur die ausgeprägte Reaktionsvermögen der Douglasie auf Umwelteinflüsse, sondern es scheint, als ob die Douglasie von den übrigen Baumarten die jeweils vorteilhafteste Eigenschaft auf eine Art vereint (GRUBER 1994, GRUBER & SOWITZKI 1995). Im Gegensatz zur Tanne ist die Palette ökologischer Überlebensmöglichkeiten ungleich größer, ebenso der Trend, phasenweise die Waldgesellschaften Nordamerikas zu dominieren. In letztgenannter Eigenschaft erinnert sie an die Fichte in der montanen Höhenstufe Europas. Die Flexibilität der Douglasie in Syn- und Autökologie findet ihre Erklärung in der hohen Populationsdifferenzierung ebenso, wie in den Unterschieden zwischen den Populationen der Refugialgebiete im Nordwesten und den Inselvorkommen im Südosten, welche durch langanhaltende Isolation stärker geschädigt sind, als dies regionale Untersuchungen (SCHNABEL et al. 1993) deutlich machen können.

Die aktuelle Genökologie der Douglasie präsentiert sich als komplexes Zusammenspiel zwischen Evolution, Aut- und Synökologie, wobei Häherarten eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen. An großflächige natürliche Katastrophen, beispielsweise in den Chaparrals Nordamerikas, gewöhnt, hat die Douglasie offenbar die flächigen Exploitationen des 19. Jahrhunderts gut überstanden. Andernfalls wären die Ökotypen nicht mehr nachweisbar gewesen. Es ist jedoch kaum zu übersehen, welche Folgen die intensive Holzentnahme auch kleinster Stammdimensionen (JOSZA 1998) kombiniert mit der Aufforstung unterschiedlichsten Materials in der Zeit nach dem 2. Weltkrieg auf die genetische Nachhaltigkeit der nordamerikanischen Waldökosysteme haben wird. Wieweit die Ausweisung von Genreservaten (WILSON 1990) zu spät kommt, weiß niemand abzuschätzen.

Wenn sich am Ende des zweiten Jahrtausends durch den Einsatz biochemischer Marker neue Perspektiven für das Verständnis der Genökologie der Douglasie auftun, dann bleibt der tiefe Respekt vor den Wissenschaftlern, die zu Beginn unseres Jahrhunderts mit einfachen Mitteln die Grundstruktur der geographischen Variation der Douglasie ebenso erkannten (FROTHINGHAM 1909, SCHENCK 1939), wie die Tatsache, daß ihre intraspezifischen, morphologischen Unterschiede nicht in einer Merkmalsausprägung selbst, sondern in der Bandbreite (SCHENCK 1939) solcher Merkmale zu suchen sind.

7. Zusammenfassung

Die Douglasie, *Pseudotsuga menziesii*, hat, 170 Jahre nach dem der erste Samen dieser Baumart in Deutschland ausgesät wurde, eine weitreichende forstliche Bedeutung in Europa erlangt und gilt weltweit als eines der wichtigsten Nutzhölzer. Am Südwestabfall des Schwarzwaldes in Baden-Württemberg finden sich heute Altbestände, welche nicht nur ob ihres äußeren Erscheinungsbildes vielfältiger Mischungsformen mit dem umgebenden montanen Fichten-Tannen-Buchenwald sondern auch ob ihres wirtschaftlichen Wertes Bewunderung finden. Nachkommenschaften dieser Bestände schneiden bei Provenienzversuchen nicht selten hervorragend ab. Die Abstammung der badischen Altbestände konnte bislang nur in mosaikhaften Bruchstücken rekonstruiert werden. Für weitergehende Planungen des Importes von Saatgut sowie für die Behandlung der Bestände wäre eine Kenntnis der Ursprungsregionen jedoch hilfreich. Die vorliegende Arbeit befaßt sich daher mit der Frage, ob sich im natürlichen Areal der Douglasie Topodeme, hier Ökotypen genannt, mit Hilfe von Isoenzymgenmarkern unterscheiden lassen. Ferner wird die Frage bearbeitet, inwieweit eventuelle Charakteristika der Ökotypen, wie spezifische Allele oder spezifische, allelische Strukturen, auch nach einem Anbau außerhalb des natürlichen Areals nachweisbar bleiben. Als letzte Fragestellung werden ausgewählte badischer Altbestände mittels Isoenzymanalyse untersucht, um Vergleiche mit Populationen aus dem natürlichen Habitat anzustellen und um Abstammungsrekonstruktionen durchzuführen.

Zunächst werden in einer Literaturübersicht (Kapitel 2) grundlegende Begriffe der Populationsgenetik und biochemische Untersuchungsmethoden vorgestellt um die Basis für Ergebnisvergleiche herzustellen. Außerdem werden Funktion und Bau der in der vorliegenden Arbeit herangezogenen Enzymsysteme vorgestellt. Damit wird der vielfach vernachlässigte Informationsvorteil gegenüber molekularen Markern ausgeschöpft und die nötige Hintergrundinformation für den Vergleich von Labormethoden hergestellt. Theoretische Aspekte der Identifikation von forstlichem Vermehrungsgut werden in einem separaten Unterkapitel behandelt. Der zweite Schwerpunkt der Literaturübersicht liegt in der Darstellung bisheriger Bemühungen, *Pseudotsuga menziesii* taxonomisch zu untergliedern, und ist in drei Unterkapitel aufgeteilt. Das erste beschäftigt sich mit allgemeinen botanischen Studien morphologischer Merkmale und behandelt die Unterschiede einer Abgrenzung von zwei bzw. drei Varietäten durch amerikanische bzw. europäische Dendrologen. Im zweiten Unterkapitel wird versucht, nicht nur die Ergebnisse von Terpenanalysen zu dieser Problemstellung darzulegen, sondern auch die Hintergrundinformation über deren Zustandekommen aufzubereiten. Das dritte Unterkapitel ist den bisherigen Arbeiten an amerikanischen und europäischen Douglasienbeständen auf der Basis der Isoenzymanalyse gewidmet. Neben einer Übersicht über den gegenwärtigen Kenntnisstand sowie der Aufbereitung von Hintergrundinformation wird versucht, Ergebnisunterschiede durch eine Gliederung der Publikationen nach Untersuchungsobjekten, wie etwa kleinräumige Studien oder Bestandesanalysen, zu erklären. Hierzu wird eine tabellarische Übersicht bereitgestellt.

Das verfügbare Material sowie die angewandten Methoden werden im dritten Kapitel vorgestellt. Für die eigenen Laboranalysen standen 27 Stichproben aus Handelssaatgut bereit, welche weite Teile des natürlichen Areals der Douglasie abdeckten. Zur Überprüfung der Auswirkungen einer Verfrachtung auf die genetischen Strukturen von Stichproben bekannter Abstammung konnte auf Versuchsanlagen der Forstlichen Versuchsanstalt Freiburg zurückgegriffen werden, wo 11 Proben entnommen wurden. Einzelbaumnachkommenschaften standen von sieben Bäumen aus einem Altbestand zur Verfügung. Darüberhinaus wurde von den Kollegen Li und Adams von der Oregon State University der Datensatz allelischer Strukturen von 104 Populationen aus einer arealweiten Studie bereitgestellt. Als Labormethode wurde die Isoenzymanalyse mittels horizontaler Stärkegelelektrophorese angewandt.

Der methodische Ansatz berücksichtigt fünf Enzymsysteme als Genmarker, von welchen teilweise beträchtliche Schwankungen in den Frequenzen häufiger Allele bekannt waren. Die eigenen Datensätze sowie der Datensatz aus Corvallis werden als zwei unabhängig durchgeführte stratifizierte Stichproben behandelt, welche gegenseitig auf Plausibilität geprüft werden können. Hierzu wurden gesonderte Laborexperimente durchgeführt und Listen erarbeitet, welche für jeden Genlocus die Identifikation einander entsprechender Allele trotz physikochemisch unterschiedlicher Bedingungen gestattet. Durch iterative Gruppierung ähnlicher allelischer Strukturen werden Abgrenzungen zwischen den Stichproben vorgenommen und nach geographischer Zusammengehörigkeit überprüft. Anschließend werden genetische Variations- und Differenzierungsparameter berechnet, Mittelwerte für die jeweiligen Gruppierungen von Populationen berechnet und auf signifikante Unterschiede statistisch getestet. Die Mittelwerte allelischer Strukturen solcher Gruppierungen werden **Referenzstrukturen** genannt, zu welchen die Angabe der Standardabweichung als Streuungsmaß gehört. Wenn die Gruppierungen regional abgegrenzt werden können und charakteristische Eigenschaften besitzen, werden sie Ökotypen genannt, welche über Referenzstrukturen beschrieben werden. Aus den Referenzstrukturen werden Referenzvektoren abgeleitet. Das bereits eingeführte Verfahren der Referenzvektoren wird auf drei Ebenen ausgebaut. Zum ersten wird der Aufbau zu Beginn des Verfahrens frei gewählt, um unverwechselbare Formen über alle Ökotypen einer Art garantieren zu können. Zum zweiten finden nur häufige Allele Berücksichtigung, um mit wirtschaftlichen Stichprobengrößen arbeiten zu können. Zum dritten schließlich findet die Standardabweichung Berücksichtigung bei graphischen Darstellungen, um bei Vergleichen die Entscheidung über Ähnlichkeiten von Vektorverläufen zu erleichtern. Den Referenzvektoren des Ökotypes oder einer Varietät entsprechen die Populationsvektoren der sie repräsentierenden Populationen. Ferner wird die Clusteranalyse erstmals eingesetzt, um Stichproben auf der Basis ihrer jeweiligen Populationsvektoren zu gruppieren und so die getroffene Entscheidung der Ökotypenabgrenzung zu überprüfen. Das genetische Distanzmaß wird eingesetzt, um die Wirksamkeit der Wahl der Enzymgenloci für die Untersuchung des Problems geographischer Variation zu demonstrieren. Bei der Abstammungsrekonstruktion werden aus Vektorvergleich und Clusteranalyse von Populationsvektoren erste Abstammungshypothesen aufgestellt, welche anschließend mittels Populationsdifferenzierung D_j überprüft wird. Als Voraussetzung für eine solche Anwendung von D_j werden erstmals ökotypenspezifische Populationsdifferenzierungswerte \bar{a} für die Douglasie aus dem verfügbaren Datensatz abgeleitet.

In einer Nebenuntersuchung wird die Gestalt der Knospen auf mögliche Ökotypen-spezifische Variationsmuster untersucht. Hierzu werden drei Haupttypen der Form sowie vier Farbtypen unterschieden. Untersuchungsobjekte sind die Endknospen von Zweigen erster und zweiter Ordnung aus dem Stichprobenmaterial baden-württembergischer Versuchsanbauten. Die Daten werden als **Merkmalsstrukturen**, in prozentualen Häufigkeiten also, beschrieben und mit Methoden der multivariaten Statistik, Faktor- und Clusteranalyse, weiter untersucht.

In Kapitel vier werden die Ergebnisse morphologischer Studien mitgeteilt und diskutiert. Zunächst werden die Merkmalsstrukturen für Form und Farbe der Endknospen aus dem Material baden-württembergischer Versuchsanbauten vorgestellt. Die Beschreibung der Knospenform berücksichtigt neben drei Merkmalsklassen „gedrungen“, „eiförmig-spitz“ und „kegelförmig“ noch sechs Zwischenmerkmale, welche bei der Auswertung den Merkmalsklassen zugeschlagen werden. Alle Merkmale finden sich gleichzeitig in den untersuchten Provenienzen, jedoch lassen sich regional unterschiedliche Häufigkeitsstrukturen beschreiben. Die Populationen aus dem nördlichen Inland zeigen die höchsten Anteile gedrungener Formen, diejenigen von der Insel Vancouver bzw. von den Kaskaden die höchsten Anteile eiförmig-spitzer Knospen und diejenigen von der Pazifikküste die höchsten Anteile kegelförmiger Knospen. Auch die Farbgestaltung variiert in offensichtlich typischen Häufigkeitsstrukturen. So zeichnen sich Provenienzen aus dem nördlichen Inland durch überwiegend dunkelbraune Knospen, die-

jenigen von der Insel Vancouver durch schwankende Häufigkeiten hellrotbrauner und dunkelbrauner Farbtöne aus. In den Stichproben von der Cascade Range dominieren braune Farbtöne und in denen von der Pazifikküste hellrotbraune Farbtöne. Wiederum sind auch die jeweils restlichen Farbtöne in unterschiedlichen Anteilen in den Häufigkeitsstrukturen der untersuchten Populationen vertreten. In den Stichproben aus badischen Altbeständen lassen sich ähnliche Bandbreiten der Variation für die Merkmale Form und Farbe feststellen, mit einer Ausnahme: in den Beständen B02, B03 und B04 sind geringe Anteile hellbrauner Farbtöne zu registrieren. Eine Faktoranalyse, bei welcher die Merkmalsklassen als Variablen eingesetzt werden, wird jeweils getrennt für den Datensatz aus Vergleichsmaterial sowie für den kombinierten Datensatz aus Vergleichsmaterial und den badischen Altbeständen durchgeführt. Es werden vier bzw. fünf Faktoren ausgeschieden, die typische Merkmalsstrukturen einerseits für die geographischen Bereiche der Pazifikküste bzw. für British Columbia sowie andererseits generelle Merkmalsunterschiede zwischen der Inlands- und der Küstenvarietät beschreiben. Im kombinierten Datensatz wird außerdem ein Faktor gebildet, der hoch auf die Variable „hellbraun“ lädt und so vorläufig als „südlicher Küstenfaktor“ bezeichnet wird. Die Bezeichnung erfolgt im Parallelschluß aus Beobachtungen an der südlichen Inlandsdouglasie in Arboreten, wo hellbraune Knospen häufig zu finden sind. Die nachfolgende Clusteranalyse gruppiert den Datensatz entsprechend den Regionen, aus welcher das Material stammt und der kombinierte Datensatz erfährt keine wesentlichen Änderungen im Aufbau des Dendrogrammes. Die badischen Altbestände werden hauptsächlich den Küstenprovenienzen zugeteilt, der Bestand B06 den nördlichen Inlandspopulationen. Die Bestände B02, B03 und B04 werden auf Grund des geringen Anteiles hellbrauner Knospen in einer separaten Gruppe zusammengefaßt. Aus den Ergebnissen wird gefolgert, daß Häufigkeitsstrukturen morphologischer Merkmale durchaus eine Möglichkeit darstellen, Ökotypen der Douglasie abzugrenzen und Abstammungsrekonstruktionen durchzuführen. Der Ausbau des Verfahrens unter Einsatz von Farbtafeln sowie unter Berücksichtigung arealumspannender Stichproben wird empfohlen.

Die Ergebnisse biochemisch-genetischer Studien werden in Kapitel fünf dargelegt. Es ist in fünf Unterkapitel gegliedert. In Kapitel 5.1. werden die Auswirkungen von Entwicklungsstadium, Gewebetyp sowie unterschiedlicher physikochemischer Versuchsbedingungen auf die Enzymdarstellung ausführlich beschrieben und diskutiert. Für die Enzymsysteme GOT, IDH, LAP, 6-PGDH und SKDH werden Übersetzungshilfen in Listenform erarbeitet, welche für die international gebräuchlichsten Trennmethode eine Identifikation der Allele ermöglicht. Gesonderte Untersuchungen werden für einzelne Fragestellungen bei den Enzymsystemen GOT, LAP und 6-PGDH beschrieben. Das dimere Enzymsystem GOT zeigt am Genort GOT-C Bandentriplets auch im haploiden Gewebe. Analysen der Farbtintensität der drei Zonen dieses Triplets mittels Laserextinktion erbrachten den Nachweis untereinander unabhängiger Variation, welche sich im Laufe des Entwicklungsstadiums der Keimlinge ändert. Hieraus wurde der Schluß auf das Vorliegen eines Mendelgens gezogen, wobei das Produkt eines Strukturgens offensichtlich durch posttranslationale Modifikation weiter verändert wird.

Die Gruppe der Aminopeptidase-Genmarker wurde ebenfalls näher untersucht und Tests mit insgesamt acht Substraten durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, daß eine für makrogametophytisches Gewebe typische, schnell wandernde Zone bei Färbungen mit Alanin regelmäßiger dargestellt werden kann, als mit Leucin. Ferner zeigt der bisher als LAP-A bezeichnete Genort nicht nur für Leucin sondern auch für Methionin eine ausgeprägte Farbreaktion, während die bisher als Produkt des Genortes LAP-B bekannte Zone stärkste Farbreaktionen nach Applikation von Alanin oder Arginin zeigte. Unter Berücksichtigung der international üblichen Nomenklatur wird daher eine Bezeichnungsänderung in AMP-A bzw. AMP-C vorgeschlagen.

Am Genort 6-PGDH-A konnte ein methodenspezifischer Unterschied nachgewiesen werden, welcher im Tris-Citrat-Trennsystem das Erkennen eines regional häufigen Alleles A2' nicht ermöglicht und daher zu teilweise erheblich unterschiedlichen Resultaten führt. Da das Allel A2' bislang nur im Bereich der Inlandsform der Douglassie nachgewiesen werden konnte, wird der Einsatz der vergleichenden Trennanalytik mit dem Trennsystem Morpholin-Citrat für den Einsatz bei Abstammungsrekonstruktionen auch am Markt für Vermehrungsgut vorgeschlagen.

Die Variation genetischer Parameter für Vielfalt und Diversität in den unterschiedlichen Datensätzen der eigenen Laboranalysen werden im Unterkapitel 5.2. vorgestellt. Dabei wird bereits auf die in Unterkapitel 5.3. erläuterte Abgrenzung von Ökotypen Rücksicht genommen. Die Schilderung von zwei Nebenuntersuchungen, bei welchen die Auswirkung einer späten Durchforstung bzw. eine Nachkommenschaft aus Sprengmast näher untersucht werden, runden das Bild ab. Als Ergebnis kann eine unterschiedliche Ausprägung der Parameter für Vielfalt und Diversität in den einzelnen Ökotypen festgehalten werden, wobei die Populationen aus dem zentralen Küstenvorkommen im westlichen Oregon höchste Vielfalts- und Diversitätswerte zeigen und die der südlichen Inlandsdouglassie die kleinsten Werte. Im Vergleich mit den Versuchsanbauten aus Baden-Württemberg kann gezeigt werden, daß derartige Wertestufen auch nach der Verfrachtung auf einen anderen Kontinent nachweisbar sind. Ferner können im Zusammenhang mit den Nebenuntersuchungen der Nachkommenschaft eines badischen Altbestandes stadienspezifische Ausprägungen dieser Parameter nachgewiesen werden, die teilweise, etwa für Heterozygotie, auch für andere Baumarten bekannt sind. Eine Überprüfung der Stichproben aus Handelssaatgut auf das Vorliegen von Inzucht ergibt keine Hinweise, eine Stichprobe von den weiteren Untersuchungen auszuschließen. Die Diskussion offenbart, daß die Unterschiedlichkeit von Ergebnissen in einigen Literaturstellen zu einem nicht unerheblichen Teil auf die Probenahme in bestimmten Regionen zurückzuführen ist, was gleichzeitig die Allgemeingültigkeit der vorliegenden Befunde bzw. der Abgrenzung von Ökotypen belegt.

In Kapitel 5.3. werden Referenzstrukturen für insgesamt 10 verschiedene Ökotypen bzw. Formen der Douglassie aus den Datensatz des Handelssaatgutes sowie aus dem Datensatz der Kollegen Li & Adams aus Oregon abgeleitet, wobei durch die Vergleichsexperimente der Labormethode und durch Vorliegen des Laborprotokolles die entsprechenden Bezeichnungen der Allele gewährleistet ist. Die Werte der häufigsten Allele in den Referenzstrukturen, es handelt sich um Mittelwerte, werden auf Signifikanz der gegenseitigen Unterschiede zwischen den Ökotypen getestet, wobei wechselnd, je nach Genort, nicht signifikante Unterschiede zwischen den Formen der Inlandsdouglassie bzw. zwischen den Ökotypen der Küstendouglassie gefunden werden. Das Auftreten von sehr seltenen Allelen kann mit Hilfe der stratifizierten Stichproben auf Häufigkeiten von teilweise unter 1% geschätzt werden, wobei dieser Befund in der Literatur am Beispiel einer umfangreichen Studie über Nachkommenschaften aus natürlichen Beständen und Samenplantagen seine Bestätigung findet. Erneut zeigt die Diskussion der Befunde gleichlautende Ergebnisse allelischer Strukturen in der Literatur auf, sofern die getroffene geographische Abgrenzung der Ökotypen berücksichtigt wird, was als weiterer Hinweis auf die Gültigkeit vorliegender Befunde gewertet wird. Der Vergleich der Referenzstrukturen aus dem eigenen Datensatz mit denen aus dem amerikanischen Datensatz belegt die Vergleichbarkeit bis auf einen Punkt: am Genort GOT-B ergeben sich signifikante Unterschiede für die südliche Inlandsdouglassie, was mit unterschiedlichen Schwerpunkten der Probenahme erklärt werden kann. Anschließend werden die Ergebnisse der Analysen allelischer Strukturen zusammengefaßt, in dem für fünf Genorte jeweils ein charakteristisches Allel als Determinante für Referenzvektoren herausgegriffen wird. Im Falle von 6-PGDH-A findet der über zwei Allele, A2 und A4 zusammengefaßte Wert Ax Berücksichtigung als Determinante. Die Gegenüberstellung der Referenzvektoren aus dem eigenen sowie aus dem amerikanischen Datensatz zeigen konsequenterweise Übereinstimmung, so daß die vorläufigen Grenzen der Ökotypen angegeben werden.

Im einzelnen werden unterschieden: eine nördliche sowie eine südliche Inlandsdouglasie, ein Ökotyp aus den Blauen Bergen Oregons, einer von der Sierra Nevada, eine südliche Küstendouglasie in Kalifornien, ein zentraler Küstenökotyp, ein nördlicher Küstenökotyp, ein Campbell-Ökotyp, ein Ökotyp vom Queen Charlotte Sound sowie ein Ökotyp vom Kamm der Kaskaden-Nordausläufer. Die Diskussion klimatologischer, paläontologischer und ornithologischer Aspekte dieser Befunde offenbart ein komplexes Zusammenspiel zwischen drei Hähnerarten und einer Reihe von Koniferen, darunter *Pinus albicaulis*, *Pinus contorta* und *Pinus ponderosa*. Im Wechsel zwischen Eiszeiten und Interglazial spielte Zoochorie offensichtlich eine bedeutende Rolle für die Wanderungen der Baumarten sowie den Genaustausch zwischen einzelnen Populationen. Aus vergleichbaren Habitatabgrenzungen für Unterarten von *Cyanocitta stelleri* und den Ökotypen der Douglasie wird auf eine gemeinsame Entwicklung geschlossen, welche durch identische Eiszeitrefugien geprägt wurde. Indizien einer ehemaligen Introgessionszone zwischen Küstendouglasie und nördlicher Inlandsdouglasie, welche von den Queen Charlotte Inseln im Norden über die Blue Mountains im östlichen Oregon bis zur Sierra Nevada im Süden reichte, werden aus Referenzvektoren abgeleitet. Paläontologische Befunde sowie die mit Teilarealen der Douglasie deckungsgleiche Arealgliederung der Unterarten von Steller's Jay stützen diese Hypothese, welche auf eine Existenz der umstrittenen drei Varietäten von *Pseudotsuga menziesii* bereits vor dem Pleistozän hindeuten. Die Variation der genetischen Parameter wird dahingehend interpretiert, daß die Ausbreitung der Douglasie, auch die postglaziale, eindeutig durch Nischenkonservatismus geprägt ist, wobei meteorologischen Komponenten eine Schlüsselfunktion zufällt. Ferner wird aus den gefundenen allelischen Strukturen am Genort 6-PGDH-A auf eine Entstehung der Art am Rande zum mexikanischen Hochlandes geschlossen, welche durch Diskussion von Literaturstellen gestützt wird.

Die Unterschiedlichkeit der ausgeschiedenen Ökotypen wird im Unterkapitel 5.4. behandelt. Der genetische Abstand beschreibt die südliche Inlandsdouglasie mit großen Abstand auf die übrigen Varietäten. Hier wie in der nördlichen Inlandform finden sich hohe Abstände auch zwischen den Populationen, was u.a. mit der Verinselung des Areals im Südosten bzw. mit der flächigen Ausdehnung von vermutlich kleinen Refugialpopulationen im Nordosten des Areals erklärt werden kann. Die Küstenvarietät zeigt vergleichsweise geringe Abstände zu dem Übergangsbereich in den Blauen Bergen Oregons, zur nördlichen Inlandform sowie auch innerhalb der Varietät. Paläontologische Arbeiten legen den Schluß nahe, dies sei auf wiederholte Kontakte der nördlichen Varietäten untereinander zurückzuführen. Clusteranalysen auf der Basis von Populationsvektoren bilden ebenfalls die Gliederung der Douglasie in drei Varietäten und mehrere Ökotypen ab, wobei besonders die Populationen des zentralen Küstenökotypes sich deutlich als stabile Gruppierung erweist. Die Populationsdifferenzierung schließlich enthüllt die ökotypenbezogenen Unterschiedlichkeiten überraschend deutlich, besonders an den Genloci SKDH-B und 6-PGDH-A. Arealweit beträgt das gewogene Mittel der Populationsdifferenzierung $\bar{a} = 15,5\%$ für den vorliegenden Datensatz aus Handelssaatgut und Versuchsanbauten, während die südlichen Inlandspopulationen sich im Durchschnitt mit 24,1 % ihrer Gene von den übrigen Demen der Douglasie unterscheiden. Auch wenn sich der letztgenannte Wert mit dem Ergebnis einer anderen Arbeit deckt, so muß betont werden, daß er nur für die Artebene gilt. Die mittlere Populationsdifferenzierung \bar{a} auf der Ebene der einzelnen Ökotypen und Formen ist beträchtlich niedriger und nimmt für die an vielen Genloci weitgehend fixierte südliche Inlandform den niedrigsten Wert mit 5% an. Hohe Werte zeigen die Nördliche Inlandform sowie der Campbell-Ökotyp. Die Populationsdifferenzierung D_j eignet sich daher als Prüfverfahren zur Abstammungsrekonstruktion.

Für die Abstammungsrekonstruktion der badischen Altbestände werden der Vergleich zwischen Populationsvektoren und Referenzvektoren, die Clusteranalyse auf der Basis von Populationsvektoren sowie die Populationsdifferenzierung D_j eingesetzt. Die Ergebnisse legen eine Abstammung der untersuchten badischen Altbestände von Ökotypen der Küstendouglasie nahe. Die Bestände können jeweils einem

Ökotyp zugeordnet werden, wobei die Häufigkeiten am Genort LAP-A in zwei Fällen auf Mischungen mit der nördlichen Inlandsform deuten. In einem Fall hiervon kann durch Anwendung eines Trennmethode-Vergleiches am Genort 6-PGDH-A eine solche Mischung zweifelsfrei belegt werden.

Als Schlußfolgerung ergibt sich, daß die Douglasie mit den angewandten Methoden in mehrere Ökotypen untergliedert werden kann und auch die Auscheidung von drei Varietäten scheint auf Grund der unterschiedlichen Anpassung an bestimmte Klimaräume gerechtfertigt. Ferner ist eine Abstammungsrekonstruktion bei der Douglasie möglich, da ihre geographische Variation genetischer Parameter bekannt ist. Hierfür eignen sich besonders Referenzvektoren bzw. die Methode des Vektorvergleichs sowie die Populationsdifferenzierung Dj. Vor dem Hintergrund der geschilderten, komplizierten Zusammenhänge in den Waldökosystemen Nordamerikas wird dringend empfohlen, der genetischen Nachhaltigkeit in diesen Wäldern mehr Beachtung zu schenken.

8. Literatur

- AAGAARD, J.E., KRUTOVSKII, K.V., STRAUSS, S.H., 1998a: RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity* 81: 69-78.
- AAGAARD, J.E., KRUTOVSKII, K.V., STRAUSS, S.H., 1998b: RAPD markers of mitochondrial origin exhibit lower population diversity and higher differentiation than RAPDs of nuclear origin in Douglas-fir. *Molecular Ecology* 7: 801-812.
- AAS, G., KIRCHER, F. & MAIER, J., 1994: Untersuchungen zur geographischen Variation morphologischer Merkmale von *Abies alba* MILL. S. 11-31 in WOLF, H. (Hrsg.), 1994: Weißtannen-Herkünfte - Neue Resultate zur Provenienzforschung bei *Abies alba* MILL. *Contributions Biologiae Arborum* Nr. 5. Ecomed / Landsberg. 150 S.
- ADAMS, W.T., 1981: Population Genetics and Gene conservation in Pacific Northwest Conifers. PP. 401-415 in: Scudder, GGE. & Reval, J.L. (eds.): *Evolution today, Proceedings of the 2nd Internat. Congr. of System. and Evolutionary Biology*. Hunt Inst. for Bot. Documentation, Carnegie-Mellon University, Pittsburgh, PA. (zit.n. HUSSENDÖRFER 1997)
- ADAMS, W.T., 1983: Application of isozymes in tree breeding. PP 381-400 in: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (eds.), 1983: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Vol. 1A, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. 516 pp.
- ADAMS, W.T. & JOLY, R.J., 1980: Genetics of allozyme variants in loblolly pine. *Journal Heredity* 71, S. 33-40.
- ADAMS, W.T., NEALE, D.B. & LOOPSTRA, C.A., 1988: Verifying controlled crosses in conifer tree improvement programmes. *Silvae Genetica* 37: 147-152.
- ADAMS, W.T., NEALE, D.B., DOERKSEN, A.H. & SMITH, D.B., 1990: Inheritance and linkage of isoenzyme variants from seed and vegetative bud tissues in coastal Douglas-fir [*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (MIRB.) FRANCO]. *Silvae Genetica* 39 (3-4), S. 153- 167.
- ADAMS, W.T., ZUO, J., SHIMIZU, J.Y. & TAPPEINER, J.C., 1998: Impact of alternative regeneration method on genetic diversity in coastal Douglas-fir. *For. Science* 44: 390-396.
- ALDINGER, E., HÜBNER, W., MICHIELS, H.G., MÜHLHÄUßER, G., SCHREINER, M. & WIEBEL, M., 1998: Überarbeitung der standortkundlichen regionalen Gliederung im Südwestdeutschen Standortkundlichen Verfahren. *Mitt. Verein f. Forstl. STOK u. Forstpfl.zücht.* 39: 5-71.
- ALLARD, R.W., KAHLER, A.L., CLEGG, M.T., 1975: Isozymes in plant population genetics. S. 261-272 in: MARKERT, C.L. (ed.): *Isozymes IV - Genetics and evolution*.
- ALTEN, P.v., 1898: Die Einbürgerung fremder Baumarten in Deutschland. Rud. Bechthold & Komp., Wiesbaden. 25 S.
- AMENDA, R., MATSCHKE, J., LEUER, M. & BERGMANN, F., 1996: Enzymtests geben Auskunft über die Herkunft von Koniferensaatgut. *TASPO-Gartenbaummagazin* 5 (11): 37-40.
- ANONYMUS 1972: Die höheren Pflanzen Chinas. Band 1: Bryophyta, Pteridophyta, Gymnospermae u. Angiospermae. (Iconographia cormophytorum sinicorum). Pflanzeninstitut der Akademie der Wissenschaften Chinas. Wissenschaftlicher Verlag Beijing. 1157 S. (pers. Übers.: K. Dang, Yangling)
- ANONYMUS 1984: *Enzyme Nomenclature - Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry*. Academic Press, New York / London. 646 pp.
- ANONYMUS 1998: Freispruch für die Douglasie. *Forst u. Holz* 53: 82-83.
- ARMSTRONG, J.E., CRANDELL, D.R., EASTERBROOK, D.J. & NOBLE, J.B., 1965: Late Pleistocene stratigraphy and chronology in southwestern British Columbia and northwestern Washington. *Geol. Soc. of America Bulletin* 76: 321-330.
- ARNAL, S., 1989: Etude et comparaison de la variabilité génétique dans des populations artificielles et naturelle de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*). Unveröffentlichte Diplomarbeit (Diplome d'agronomie approfondie, spécialisation génétique) der Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, durchgeführt an der Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts / Laboratoire de Génétique des Populations d'Arbres Forestiers (beide in Nancy, Frankreich); 60 S., geheftet.
- ARNO, S.F. & PETERSEN, T.D., 1983: Variation in estimates of fire intervals: a closer look at fire history on the Bitterroot national Forest. Res. Pap. INT-301. Ogden, UT: USDA, Forest Service, Intermountain Forest and Range Experiment Station. 8 p.
- ARUS, P., & SHIELDS, C.R., 1983: Cole Crops. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. S. 339-350.
- ASHTON, G.C. & BRADEN, W.A.H., 1961: Serum β -Globulin polymorphism in mice. *Aust. J. Biol. Sci.* 14: 248-253.
- AXELROD, D.I., 1950: Further studies on the Mount Eden flora, southern California. *Contributions Paleontology* III:75-117, 3 pls. Carnegie Institution of Washington publication 590.
- AXELROD, D.I., 1964: The Miocene Trapper Creek flora of southern Idaho. *University of Cal. Publ. in Geol. Science* 51: 1-148, 16 pls.
- BALDING, D.J. & DONNELLY P., 1994: How convincing is DNA evidence?. *Nature* 368: 285-286.
- BARADAT, Ph. & MARPEAU, A. 1992: Terpene Markers. In: MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M. (eds.) 1992: *Genetic Variation in European Populations of Forest Trees*. S. 40-66.
- BARTELS, H., 1971: Isoenzyme und ihre Bedeutung für Forstpflanzenzüchtung und -genetik. *AFZ* 26: 50-52.
- BECKER, G., & SAUTER, U., 1996: Die Douglasie, eine heimisch gewordene Holzart im Aufwind. *AFZ* 51: 1121-1124.
- BEISSNER, L. - FITSCHEN, J., 1930: *Handbuch der Nadelholzkunde: Systematik, Beschreibung, Verwendung und Kultur der Ginkgoaceen, Freiland-Koniferen und Gnetaceen*. 3. Aufl., Paul Parey, Berlin. 765 S.
- BENSIMON, C.L. & HATTEMER, H.H., 1983: Abstammungsrekonstruktion in der Forstpflanzenzüchtung. S. 87- 93 in ANONYMUS 1983: *Forum Genetik-Wald-Fostwirtschaft: Bericht über die 3. Arbeitstagung, Freiburg 1984*. 104 S., broschiert.

- BERG, E. E. & HAMRICK, J.L., 1997: Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Can.J.For.Res.* 27: 415-424.
- BERGMANN, F., 1971: Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzymidentifizierung. I. Möglichkeiten für genetische Zertifizierung von Saatgut. *AFJZ* 142: 278-280.
- BERGMANN, F., 1973a: Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzym-Identifizierung: II. Genetische Kontrolle von Esterase- u. Leucinaminopeptidase im haploiden Endosperm ruhender Samen. *TAG* 43: 222-225.
- BERGMANN, F., 1973b: Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzym-Identifizierung: III. Geographische Variation an 2 Esterase- und 2 Leucin-aminopeptidase_Loci in der schwedischen Fichtenpopulation. *Silvae Genetica* 22: 63-66.
- BERGMANN, F., 1974: The genetics of some isoenzyme systems in Spruce endosperm (*Picea abies*). *Genetika* 6 (3): 353-360.
- BERGMANN, F., 1975: Herkunfts-Identifizierung von Forstsaatgut auf der Basis von Isoenzym-Genhäufigkeiten. *AFJZ* 146 (10): 191-195.
- BERGMANN, F., 1983: Ein besonderer Fall geographischer Variation an zwei Enzym-Genloci der Fichte (*Picea abies*). S. 8-14 in: ANONYMUS 1983: Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft: Bericht über die 3. Arbeitstagung, Freiburg 1984. 104 S, broschiert.
- BERGMANN, F., 1986a: Genetic means of verifying observance of the law. I. Methodical principles of "provenance identification." S. 64-66 in Muhs, H.J., 1986: Biochemical genetics and legislation of forest reproductive material. Proceedings of the IUFRO Joint Meeting of WP S2.04-05 and S2.03-14 in Grosshansdorf 1985. Mitt. d. BFH Hamburg Nr. 154. Kommissionsverlag M. Wiedebuch, Hamburg. 211 S.
- BERGMANN, F., 1986b: Genetic means of verifying observance of the law. III. Methodical principles of "provenance identification." S. 64-66 in Muhs, H.J., 1986: Biochemical genetics and legislation of forest reproductive material. Proceedings of the IUFRO Joint Meeting of WP S2.04-05 and S2.03-14 in Grosshansdorf 1985. Mitt. d. BFH Hamburg Nr. 154. Kommissionsverlag M. Wiedebuch, Hamburg. 211 S.
- BERGMANN, F., 1988: Untersuchung der genetischen Differenzierung der Fichte in den Seetaler Alpen an Enzym-Genloci. S. 162-172 in: Forstl. Bundesversuchsanstalt Wien (Hrsg.): Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft, Bericht über die 5. Arbeitstagung in Innsbruck (1987). Schriftenreihe der FBVA Nr. 28, Österr. Agrarverlag, Wien 1988.
- BERGMANN, F., 1991: Isozyme gene markers. S. 67-78 in: MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M., 1991: Genetic variation in European populations of forest trees. J.D. Sauerländers Verlag / Frankfurt a.M. 271 S.
- BERGMANN, F., 1991b: Causes and consequences of species-specific genetic variation patterns in European forest tree species. Examples with Norway spruce and Silver fir. S. 192-204 in: MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M., 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländers Verlag / Frankfurt a.M. 271 S.
- BERGMANN, F., 1995: Biochemisch-genetische Methoden zur Identifizierung von Arten, Herkünften und Klonen bei Bäumen und Sträuchern sowie praktische Anwendungsbeispiele. S. 199-206 in: ANONYMUS 1995: Die Erhaltung der genetischen Ressourcen von Bäumen und Sträuchern. Institut für Weiterbildung und Beratung für Umweltschutz e.V., Magdeburg.
- BERGMANN, F. & KOWNATZKI, D., 1988: The genetic variation pattern of Silver fir (*Abies alba*) in Europe monitored from enzyme gene loci. In: Paule, L. & Korpel, S., (eds.) 1988: 5. IUFRO - Tannensymposium, Zvolen (CSSR). S. 21-26.
- BERGMANN, F. & SCHOLZ, F. 1989: Selection effects of air pollution in Norway spruce (*Picea abies*) populations. PP. 143-160 in: SCHOLZ, F., GREGORIUS, H.-R. & RUDIN D. (Eds.): Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer Verlag, Berlin /Heidelberg /New York 1989, 201 pp.
- BERGMANN, F. & GREGORIUS, H.R., 1992: Ecogeographical Distribution and thermostability of Isocitrate Dehydrogenase (IDH) Alloenzymes in european Silver fir (*Abies alba*). *Biochem. Syst. and Ecology* 21: 597-605
- BERGMANN, F. & HOSIUS, B., 1996: Genetische Variation innerhalb und zwischen Waldbaumarten: Biochemische und populationsgenetische Determinanten der Isoenzym polymorphismen." S. 26- 37 in: MÜLLER-STARCK, G. (Hrsg.), 1996: Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft. Ecomed / Landsberg, 340 S.
- BERGMANN, F. & GILLET, E., 1997: Phylogenetic relationships among *Pinus* species (*Pinaceae*) inferred from different numbers of 6-PGDH loci. *Pl.Syst.Evol.* 208: 25-34.
- BERGMANN, F., GREGORIUS, H.-R. & SCHOLZ, F. 1989: Isoenzymes, indicators of environmental impacts on plants or environmentally stable gene markers? PP. 17-25 in: SCHOLZ, F., GREGORIUS, H.-R. & RUDIN D. (Eds.): Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer Verlag, Berlin /Heidelberg /New York 1989; 201 pp.
- BERGMANN, F., LARSEN, J.B. & GREGORIUS, H.-R. 1990: Genetische Variation in verschiedenen Arealen der Weißtanne *Abies alba* MILL. S. 130 - 140 in HATTEMER, H.-H., 1990: Erhaltung forstlicher Genressourcen. Schriftenreihe d. Forstl. Fak. Uni. Göttingen Band 98. J.D. Sauerländer's / Frankfurt. 180 S.
- BERGMEYER, H.U., 1983: Methods of Enzymatic Analysis. 3rd Ed., Vol. III. (Enzymes 1: Oxidoreductases, Transferases), Verlag Chemie, Weinheim.
- BERGMEYER, H.U., 1988: Methods of Enzymatic Analysis. 3rd Ed., Vol. V. (Enzymes 3: Peptidases, proteinases and their inhibitors), Verlag Chemie, Weinheim.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M., 1994: Seeds - Physiology of Development and Germination. 2nd Ed. (1st ed. 1985) Plenum Publishing Corp. New York. 445 pp.
- BIRKS, J.S. & KANOWSKI, P.J., 1988: Interpretation of the Composition of Coniferous Resin. *Silvae Genetica* 37 (1): 29-39.
- BIRKS, J.S. & KANOWSKI, P.J., 1995: Resin compositional data: issues and analysis. PP 29 - 40 in: BARADAT, PH., ADAMS, W.T. & MÜLLER-STARCK, G. (eds.): Population Genetics and Genetic Conservation of Forest Trees. SPB Academic Publishers bv, Amsterdam. 479 pp.
- BOMMER, S., WEIHS, U., & BEUKE, H., 1999: Möglichkeiten zur Einschätzung und waldbaulichen Beeinflussung der Konkurrenzsituation in Buchen-Douglasien-Jungbeständen. *Forst u. Holz* 54: 8-14.
- BOOTH, J., 1877: Die Douglasfichte und einige andere Nadelhölzer. Julius Springer, Berlin. 92 S.

- BOOTH, J., 1882: Die Naturalisation ausländischer Waldbäume in Deutschland. Julius Springer, Berlin. 168 S.
- BOUCHER, D. H., 1982: The ecology of mutualism. *Ann.Rev.Ecol.Syst.* 13: 315-347.
- BOUSQUET, J., CHELIAK, W.M., & LALONDE, M., 1988: Allozyme Variation within and among mature populations of Speckled Alder (*Alnus rugosa*) and relationships with green alder (*A. crispa*). *Am.J.Bot.* Vol. 75, S.1678-1686.
- BOYLE, T.J.B. & MORGENSTERN, E.K., (1985): Inheritance and linkage relationships of some isozymes of black spruce in New Brunswick. *Can.J.For.Res.* 15:992-996.
- BRANDL, H., 1992: Die Entwicklung der Durchforstung in der deutschen Forstwirtschaft. *AFJZ* 163: 61-70.
- BREITENBACH, M., KONNERT, M., PINSKER, W., STRALINGER, F. & GEBUREK, T., 1997: The contact zone between two migration routes of Silver fir, *Abies alba* (*Pinaceae*), revealed by allozyme studies. *Plant Syst. and Evolution* 206: 259-272.
- BRONSTEIN, I.N. & SEMENDEJAJEV, K.A., 1989: Taschenbuch zur Mathematik. 24. Aufl. Harri Deutsch, Thun. 840 S.
- BROWN, A.H.D., 1983: Barley. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/New York. S. 55-78.
- BROWN, A.H.D. & MARSHALL, D.R., 1995: A basic sampling strategy: theory and practice. PP. 75-91 in Guarino, L., Rao, R. & Reid, R. (eds) 1995: Collecting Plant genetic diversity - Technical guidelines. CAB International, Wallingford. 748 S.
- BÜHL, A. & ZÖFEL, P., 1996: SPSS für Windows Version 6.1 - Praxisorientierte Einführung in die Datenanalyse. 3. Aufl. Addison-Wesley, Bonn / New York. 670 S.
- BUNN, H.F., FORGET, B.G. and RANNEY, H.M., 1977: Human hemoglobins. W.B. Saunders Company, Philadelphia / London. 355 pp.
- BURGBACHER, H., 1996: Waldwirtschaft im Wandel gesellschaftlicher Anforderungen: Der Stadtwald Freiburg. *AFZ* 51:1094-1099.
- BURGBACHER, H. & GREVE, P., 1996: 100 Jahre Douglasienanbau im Stadtwald Freiburg. *AFZ* 51: 1109-1111.
- BURSCHEL, P. & HUSS, J., 1997: Grundriß des Waldbaues, 2. Aufl. (1. Aufl. 1986, Pareys Studentexte 49). Parey, Berlin. 487 S.
- CAMPBELL, R.K., 1979: Genecology of Douglas-fir in a watershed in the Oregon Cascades. *Ecology* 60: 1036-1050.
- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A., 1984a: Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Petawawa National Forestry Institute, Information Report PI-X-42, 49 S.
- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A., 1984b: Genetic control of allozyme variants in mature tissues of White spruce trees. *Journal Heredity* 75, S.34-40
- CHELIAK, W.M., MURRAY, G., PITEL, J.A., 1988: Genetic effects of phenotypic selection in White spruce". *For.Ecol.Manag.* 24, S.139-149.
- CHELIAK, W.M., WANG, J., PITEL, J.A., 1988: Population structure and genic diversity in tamarack, *Larix laricina* (DuRoi) K. KOCH. *Can.J.For.Res.* 18, S.1318-1324.
- CIESLAR, A., 1907: Die Bedeutung klimatischer Varietäten unserer Holzarten für den Waldbau. *Cbl.ges.Fw.* 33: 1-19 und 49-62. (Loc.cit. S.2).
- COLLET, G., & PARDE, J., 1996: Les Douglas du Queenneuc (Morbihan). *Rev.For.Fr.* XLVIII: 341-347.
- CONKLE, M.T., 1992: Genetic diversity - seeing the forest through the trees. *New Forests* 6: 5-22.
- COPESE, D.L., 1975: Isoenzyme study of dwarf and normal Douglas-fir trees. *Bot. Gaz.* 136: 437-352.
- COPESE, D.L., 1978: Isoenzyme activities differ in compatible and incompatible Douglas-fir graft unions. *Forest Sci.* 24 (2): 297-303.
- COPESE, D.L., 1979: A genetic analysis of aminopeptidase and peroxidase isoenzymes in Douglas-fir parent trees and seedling progeny. *Can.J.For.Res.* 9, S.189-192.
- COURT, A., 1974: The climate of the conterminous United States. pp.193-343 in: BRYSON, R.A. & HARE, F.K., 1974: Climates of North America. Vol. 11 of: LANDSBERG, H.E. (ed.): World Survey of Climatology. Elsevier, Amsterdam / New York.
- CRITCHFIELD, W.B., 1984: Impact of Pleistocene on the genetic structure of North American conifers. pp. 70-118 in LANNER, R.M., (ed.) 1984: Proceedings of the 8th North American Forest Biology Workshop. Logan, Utah. (cit. n. Millar, C., 1998)
- CURRY-LINDAHL, K., 1982: Das große Buch vom Vogelzug. Paul Parey, Berlin / Hamburg. 208 S.
- DAVIS, M., 1981: Habitat diversity and its effects on the genetic and ecological structures of two successional populations of Douglas-fir." Ph.D.thesis, University of Colorado, 97 pp.
- DEGEN, B., GREGORIUS, H.R. & SCHOLZ, F., 1996: ECO-GENE, a model for simulation studies on the spatial and temporal dynamics of genetic structures of tree populations. *Silvae Genetica* 45: 323-329.
- DEUTSCHER NORMENAUSCHUSS FARBE, 1980: DIN 6164, Teil I-III.
- DIXON, M., WEBB, E.C., TORNE, C.J.R., TIPTON, K.F., 1979: Enzymes. Longman, London.
- DRAKE, J.W., CHARLESWORTH, B., CHARLESWORTH, D., CROW, J.F., 1998: Rates of spontaneous Mutation. *Genetics* 148: 1667-1686.
- DUVIK, D.N., 1997: Utilization of biotechnology in US plant breeding. *Biotech. Develop. Monitor* (27): 15-17.
- EHRENDORFER, F., 1991: Systematik und Phylogenetik. S. 519 in Strasburger, E. (Begr.): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 33. Aufl. 1991. Gustav Fischer, Stuttgart / New York. 1032 S.
- EKLUNDH, C., 1943: Artkorsninger inom sl. *Abies*, *Pseudotsuga*, *Picea*, *Larix*, *Pinus* och *Chamaecyparis* tillhörande fam. *Pinaceae*. Svensk Paperstidning Nr. 3,5,6. (zit. n. HERMANN 1981)
- EL-KASSABY, Y.A., 1981: Genetic interpretation of malate dehydrogenase isozymes in some conifer species. *J. Hered.* 72: 451-452.
- EL-KASSABY, Y.A., 1982: Asociations between allozyme genotypes and quantitative traits in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO). *Genetics* 101: 103-115.
- EL-KASSABY, Y.A., 1983: Repeated relation between allozyme variation and a quantitative trait in Douglas-fir." *Egypt. J. Gen. Cytol.* 12: 329-344.

- EL-KASSABY, Y.A., 1991: Genetic variation within and among conifer populations: Review and evaluation of methods. PP 61-76 in: FINESCHI, S., MALVOLI, M. E., CANNATA, F. & HATTEMER, H.H. (eds.): Biochemical markers in population genetics of forest trees. SPB Academic Publishing bv, The Hague, 1991.
- EL-KASSABY, Y.A. & SZIKLAI, O., 1982: Genetic variation of allozyme and quantitative traits in a selected Douglas-fir [*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (MIRB.) FRANCO] population. For. Ecol. Management 4: 115-126.
- EL-KASSABY, Y.A. & SZIKLAI, O., 1983: Effect of sample size on the precision of the estimate of allozyme frequencies in a natural stand of Douglas-fir. Egyptian Journal of Genetics and Cytology (Alexandria)12: 345-360.
- EL-KASSABY, Y.A. & Davidson, R., 1990: Impact of Crop management practices on the seed crop genetic quality in a Douglas-fir seed orchard. Silvae Genetica 39: 230-237.
- EL-KASSABY, Y.A., YEH, F.C. & SZIKLAI, O., 1982: Inheritance of allozyme variants in coastal Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). Can.J.Genet.Cytol. 24, S. 325-335.
- EL-LAKANY, M.H. & SZIKLAI, O., 1971: Intraspezifische variation in nuclear characteristics of Douglas-fir. Advan. Frontiers Plant Sci. 28: 363-378
- EPPLEN, J.T., ZISCHLE, H. & ROEWER, L., 1991: Anwendung des genetischen Fingerabdrucks in der Medizin. Dt. Ärztebl. 88 (7): C-286 - C-290.
- EPPLEN, J.T., 1992: Schlußwort zur Diskussion: Anwendung des genetischen Fingerabdrucks in der Medizin. Dt. Ärztebl. 89 (8): C-346 - C-347
- ERDTMAN, H., 1963: S. 89-126 in SWAIN, T. (ed.): Chemical plant taxonomy. Academic Press, London/New York.
- EREMKO, R.D., EDWARDS, D.G.W. & WALLINGER, D., 1989: A guide to collecting cones of British Columbia conifers. FRDA report, B.C. Ministry of Forests, 114 S.
- ERICKSON, V.J. & ADAMS, W.T., 1989: Mating success in a coastal Douglas-fir seed orchard as affected by distance and floral phenology. Can. J. For. Res. 19: 1248-1255.
- ERNST, S.G., KEATHLEY, D.E. & HANOVER, J.W., 1987: Inheritance of isozymes in seed and bud tissues of blue and Engelmann spruce. Genome 29: 239-246.
- FADY, B. & CONKLE, M.T., 1993: Allozyme variation and possible phylogenetic implications in *Abies cephalonica* LOUDON and some related eastern Mediterranean firs. Silvae genetica 42: 351-359.
- FALCONER, D.S., 1981: Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. Longman, Inc. New York. (zit. n. WOODS & HEAMAN 1989).
- FARRIS, M.A. & MITTON, J.B., 1984: Population density, outcrossing rate, and heterozygote superiority in ponderosa pine. Evolution 38: 1151-1154.
- FERET, P.P., and BERGMANN, F., 1976: Gel Electrophoresis of proteins and enzymes. S. 49-77 in: MIKSCH, J.P. (ed.): Modern methods in forest genetics. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1976.
- FINESCHI, S., GILLET, E., & Malvoti, M.E., 1991: Segregation among fruits from single burrs of sweet chestnut (*Castanea sativa* MILL.). S.31-58 in: FINESCHI, S., MALVOLI, M. E., CANNATA, F. & HATTEMER, H.H. (eds.): Biochemical markers in population genetics of forest trees. SPB Academic Publishing bv, The Hague, 1991.
- FINKELDEY, R., 1993: Die Bedeutung allelischer Profile für die Konservierung genetischer Ressourcen bei Waldbäumen. Göttinger Forstgenet. Berichte Nr. 14, 176 S.
- FINS, L. & LIBBY, W.J., 1982: Population variation in *Sequoiadendron*: Seed and seedling studies, vegetative propagation, and isozyme variation. Silvae Genetica 31: 102-110.
- FITSCHEN, J., 1987: Gehölzflora: ein Buch zum Bestimmen der in Mitteleuropa wildwachsenden und angepflanzten Bäume und Sträucher. 8. Aufl. Quelle & Meyer / Heidelberg.
- FLÖHR, W., 1958: Kennzeichen, Varietäten und Verbreitung der Douglasie. S. 1-17 in: Göhre, K., 1958: Die Douglasie und ihr Holz. Akademie Verlag / Berlin. 595 S.
- FLOSS, H., 1986: The Shikimate pathway - an overview. S. 13 - 55 in: CONN, E.E. (ed.), 1986: Recent advances in phytochemistry (Proceedings of the Phytochemical Society of North America). Vol. 20: The shikimic acid pathway. Plenum Press, New York and London.
- FLOUS, F., 1937: Revision du genre *Pseudotsuga*. Bulletin de Société d'Histoire Naturelle de Toulouse 71: 33-164.
- FOWELLS, H.A., 1965: Silvics of Forest Trees of the United States. US Dept. of Agriculture, Forest Service; Agricultural Handbook No. 271. 762 S.
- FRANKE, A. & KONNERT, M., 1990: Nachkommenschaftsprüfung von Fichtenbeständen des Schwarzwaldes (Herkunftsgebiete 84008 und 84009) mit den Zielen: 1. Verbesserung der Immissionstoleranz 2. Erhaltung der Genresourcen geschädigter Hochlagenbestände ("Genbank"). Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, KfK-PEF 60, Februar 1990, 97 S. Karlsruhe.
- FRIDAY, A. & INGRAM, D.S., 1986: Cambridge Enzyklopädie Biologie: Organismen, Lebensräume, Evolution. Ins Dt. übertragen von BOGENRIEDER, A. et al. VCH, Weinheim / Deerfield Beach, FL. 443 S.
- FROTHINGHAM, E. H., 1909: Die Douglasfichte, ihre Küstenform und Gebirgsform. Mitt. d. DDG 18: 69-95.
- FRÜHWALD, W., 1995: Keine Eingriffe ins menschliche Erbgut! Interview; Süddeutsche Zeitung (München) 8. Dezember 1995, S.11.
- FURNIER, G.R. & ADAMS, W.T., 1986: Geographic patterns of allozyme variation in Jeffrey pine. Amer.J.Bot. 73 (7): 1009-1015.
- FURNIER, G.R., STINE, M., MOHN, C.A. & CLYDE, M.A., 1991: Geographic patterns of variation in allozyme and height growth in White spruce. Can. J. For. Res. 21: 707-712.
- GALOUX, A., 1956: Le Sapin de Douglas et la phytogéographie. Stat. de Rech. Groendall, Trav. - Ser.B., Nr. 20. 131 S. (zit. n. HERMANN 1981)
- GEBUREK, T., SCHOLZ, F., KNABE, W. & VORNWEG, A., 1987: Studies by isozyme gene loci on tolerance and sensitivity in an air polluted *Pinus silvestris* field trial. Silvae genetica 36: 49-53.
- GILLESPIE, J.H. & LANGLEY, C.H., 1974: A general model to account for enzyme variation in natural populations. Genetics 76: 837-884.
- GILLET, E., 1991: Genetic analysis of nuclear DNA restriction fragment patterns. Genome 34: 693-703.

- GILLET, E., 1992: Abhängigkeit populationsgenetischer Schlußfolgerungen von den verwendeten biochemisch-genetischen Markern. S. 43-56 in: Landesanstalt für Forstwirtschaft (Hrsg.), 1992: Biochemische Untersuchungen zur Genetik von Waldbaumpopulationen. 92 S.
- GILLET, E., 1993: Genmarker als Entscheidungshilfen für die Genkonservierung: I. Zweckdienliche Auswahl von Markertypen. AFJZ 164: 30-35.
- GILLET, E., 1994: GSED, Genetic structures from electrophoresis data. Vers.1.1. Abteilung Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Universität Göttingen. 49 S. broschiert.
- GIANNINI, R., MORGANTE, M., and VENDRAMIN, G.G., 1991: A putative gene duplication in Norway spruce for 6-PGD and its phylogenetic implications." S. 23-29 in: Fineschi, S., Malvolti, M. E., Cannata, F. & Hattemer, H.H.: Biochemical markers in population genetics of forest trees. SPB Academic Publishing bv, The Hague, 1991.
- GÖHRE, K., 1958: Die Douglasie und ihr Holz. Akademie Verlag / Berlin. 595 S.
- GOTTLIEB, L.D., 1973: Genetic control of glutamate oxaloacetate transaminase isozymes in the diploid plant *Stephanomeria exigua* and its allotetraploid derivative. Biochem. Genet. 9:97-107.
- GOTTLIEB, L.D., 1981: Electrophoretic evidence and plant populations. Progress in phytochemistry 7:1-46.
- GOODMAN, M.M. & STUBER, C.W. 1983: Maize. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. S. 15-34.
- GOODWIN, D., 1976: Crows of the world. An authoritative guide to all 116 species of the crow family, including jays, magpies, rooks, and the raven. British Museum (Natural History), London. Publication No. 771. George Press, Northamptonshire. 354 p.
- GREGORIUS, H.-R., 1974: Genetischer Abstand zwischen Populationen: 1. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. Silvae Genetica 23 (1-3): 22- 27.
- GREGORIUS, H.-R., 1980: The probability of losing an allele when diploid genotypes are sampled. Biometrics 36: 643-652.
- GREGORIUS, H.-R., 1987: The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. TAG 74: 397-401.
- GREGORIUS, H.-R., 1989: The importance of genetic multiplicity for tolerance of atmospheric pollution. PP. 163-172 in: SCHOLZ, F., GREGORIUS, H.-R. & RUDIN D. (Eds.): Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer Verlag, Berlin /Heidelberg /New York 1989, 201 pp.
- GREGORIUS, H.-R & BERGMANN, F., 1995: Analysis of Isozyme genetic profiles observed in forest tree populations. PP. 79-96 in: BARADAT, PH., ADAMS, W.T. & MÜLLER-STARCK, G. (eds.): Population genetics and genetic conservation of forest trees. SPB Academic Publishers bv, Amsterdam. 479 pp.
- GREGORIUS, H.R. & ROBERDS, J.H., 1986: Measurement of genetical differentiation among subpopulations. TAG 71: 826-834.
- GREGORIUS, H.-R, HATTEMER, H.H. & BERGMANN, F., 1984: Über Erreichtes und kaum Erreichbares bei der Identifikation forstlichen Vermehrungsgutes. AFJZ 155: 201-214. (Loc.cit. S. 212)
- GREGORIUS, H.-R, KRAUHAUSEN, J. & MÜLLER-STARCK, G., 1986: Spatial and temporal genetic differentiation among the seed in a stand of *Fagus sylvatica* L. Heredity 57: 255-262.
- GRIFFIN, J.R., 1964: A new Douglas-fir locality in southern California. For.Sci. 10:317-319.
- GRUBER, F., U., 1994: Kronenarchitektur der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* FRANCO) I. Bauelement und Baueigenschaften. Forstarchiv 65: 79-92.
- GRUBER, F. & SOWITZKI, U., 1995: Kronenarchitektur der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* FRANCO) II. Kronenanalysen und Anatomie der Nadeltrennzonen. Forstarchiv 66: 48-61.
- GÜRTH, P., 1982: Bestandesgechichtliche Untersuchungen im mittleren Schwarzwald. Ein Beitrag zur historischen Methode in Waldbau und Forsteinrichtung. Schriftenreihe d. LFV Baden-Württemberg, Band 57. Selbstverlag LFV, Stuttgart. 247 S.
- GURIES, R.P. & LEDIG, F.T., 1978: Inheritance of some polymorphic isoenzymes in Pitch pine (*Pinus rigida* MILL.). Heredity 40, S. 27-32.
- HAECKER, V., 1921: Allgemeine Vererbungslehre. 3. Aufl. (1. Aufl. 1911), Vohweg & Sohn / Braunschweig. 444 S.
- HALLIDAY, W.E.C., & BROWN, A.W.A., 1943: The distribution of some important forest trees un Canada. Ecology 24: 353-373.
- HAMRICK, J.L. & GODT, M.J.W., 1989: Allozyme diversity in plant species. PP. 43 - 63 in: BROWN, A.H.D., CLEGG, M.T., KAHLER, A. L. & WEIR, B. S., 1989: Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sinauer Ass. / Sunderland MA. PP 449.
- HAMRICK, J.L., MARY, J.W., GODT, M.J.W. & SHERMAN-BROYLES, S.L., 1992: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests 6: 95-124.
- HANCOCK, W.V. & SWAN, E.P., 1965: Phytochemistry 4:791.
- HANSON, H. & FROHNE, M. 1976: Crystalline Leucine Aminopeptidase from Lens (A-Aminoacyl-Peptide Hydrolase; EC 3.4.11.1). In: Colowick, S.P. & Kaplan, N.O. (eds.) 1976: Methods in Enzymology. Vol. XLV, Academic Press, New York. S. 504-521. Loc. cit. S. 508.
- HANOVER, J.W. & FURNISS, M.M., 1966: Second genetics workshop of Soc. of Amer. Foresters and the 7th Lake Forest Tree Improv. Conf. (1965), Research paper NC-6, U.S.Dept. of Agr., Forest service (1966).
- HARE, F. K. & HAY, J.E., 1974: The climate of Canada and Alaska. pp.49-192 in: BRYSON, R.A. & HARE, F.K., 1974: Climates of North America. Vol. 11 of: LANDSBERG, H.E. (ed.): World Survey of Climatology. Elsevier, Amsterdam / New York.
- HARRY, D.E., 1986: Inheritance and linkage of isozyme variants in incense-cedar. The Journal of Heredity 77: 261-266.
- HART, G.E., 1983: Hexaploide Wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell)". In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. S. 35-54.
- HASEL, K., 1985: Forstgeschichte - ein Grundriß für Studium und Praxis. Pareys Studentexte 48. Paul Parey, Hamburg / Berlin. 258 S. Loc. cit S. 202.

- HARTUNG, J. & ELPELT, B., 1989: Multivariate Statistik, Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik. 3 Aufl. R. Oldenbourg, München / Wien. 815 S.
- HATTEMER, H.H., 1991a: Genetic analysis and population genetics." S. 5-22 in: Fineschi, S., Malvolti, M. E., Cannata, F. & Hattemer, H.H.: Biochemical Markers in Population Genetics of Forest Trees. SPB Academic Publishing bv, The Hague, 1991.
- HATTEMER, H.H., 1991b: Measuring genetic variation. PP. 2-19 in: Müller-Starck, G. & Ziehe, M., 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees." J.D. Sauerländer's Verlag / Frankfurt a.M. 271 S.
- HATTEMER, H.H., 1994: Die Genetische Variation und ihre Bedeutung für Wald und Waldbäume. Schweiz. Z. Forstwes. 145 (12): 953-975.
- HATTEMER, H.H. & BERGMANN, F., 1987: Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaften. 1. Aufl., J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a.M., 268 S.
- 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 (5-6): 276-283.
- HATTEMER, H.H., BERGMANN, F. und ZIEHE, M., 1993: "Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaften." 2. Aufl., J.D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt a.M., 492 S.
- HATTEMER, H.H., BERGMANN, F., KIM, Z.S., GREGORIUS, H.R. & MÜLLER-STARCK, G., 1981: "Über genetische Merkmale von Ausgangsmaterial, Saatgut und Pflanzgut von Waldbäumen." *AFZ* 36: 190-193.
- HAWKSWORTH, F.G., 1995: *Pinus edulis*. In: SCHÜTT, P., SCHUCK, H. J., LANG, U. M. & ROLOFF, A. L.: Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie. 1. Aufl. 1994; 1. Erg. Lfg. 3/1995. Ecomed, Landsberg.
- HEINZE, B., 1994: Genetische Marker zur Beurteilung der genetischen Variation von Waldbäumen. S. 49-75 in: Geburek, Th., Müller, F. & Schulze, U., 1994: Klimaänderung in Österreich - Herausforderung an Forstgenetik und Waldbau. FBVA Berichte Nr. 81; Eigenverlag Forstliche Bundesversuchsanstalt / Wien. 113 S.
- HERMANN, R.K. 1981: Die Gattung *Pseudotsuga* - Ein Abriß ihrer Systematik, Geschichte und heutigen Verbreitung. *Forstarchiv* 52 (6), S. 204-212.
- HERMANN, R.K. 1985: The genus *Pseudotsuga*: historical records and nomenclature. *For. Res Lab., Oregon State University, Corvallis. Spec. publication 2a.* 29 S.
- HERMANN, R.K. 1985b: The genus *Pseudotsuga*: ancestral history and past distribution. *For. Res Lab., Oregon State University, Corvallis. Spec. publication 2b.* 32 S.
- HERMANN, R.K. 1987: North American tree species in Europe. Transplanted species offer good growth potential on suitable sites. *Journal of Forestry* 85: 27-32.
- HERMANN, R.K., 1996: Die Auswirkungen des Konflikts zwischen Naturschutz und Forstwirtschaft auf die waldbauliche Praxis im Pazifischen Nordwesten der USA. *Forst und Holz* 67: 219-226.
- HERMANN, R.K., 1999: *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO, 1950. 18 S. in: SCHÜTT, P., SCHUCK H.J., LANG, U.M., ROLOFF, A. (eds.): Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie. 15. Erg. Lfg. 3/99 (1. Aufl. Grundwerk 1994), Abt. III-1 *Pseudotsuga menziesii*.
- HERTEL, H., 1997: Biochemisch-genetische Untersuchungen bei Kiefer (*Pinus sylvestris* L.) - Anleitung zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. *Mitt. BFH Hamburg Nr. 186. Kommissionsverl. M. Wiedebusch, Hamburg.* 59 S.
- HERTEL, H. & WEISER, F., 1994: Identifizierung von zwei Herkünften der Europäischen Lärche. *AFZ* 49 (5): 227-228.
- HERTEL, H. & DEGEN, B., 1998: Stieleiche von Traubeneiche mit Hilfe von Isoenzymanalysen unterscheiden. *AFZ* 53 (5): 246-247.
- HEß, R., 1895: Die Holzarten. 2. Aufl. (1. Aufl. 1883). Paul Parey / Berlin. 238 S.
- HEY, J., 1998: Selfish genes, pleiotropie and the origin of recombination. *Genetics* 149: 2089-2097.
- HEYBROEK, H.M., 1990: Genetische Vielfalt, genetische Anpassung und die Forstflanzenzüchtung. S. 33-56 in: STEPHAN, B.R. (Hrsg.) 1990: Erhaltung forstlicher Genressourcen. *Mitt. BFH Hamburg Nr. 164.* (Übersetzung aus: *Ned. Bosbouw tijds*, 58 (4): 91-98). *Loc. cit.* S. 37 ff.
- HILLMANN, M., 1997: Inventur des Privatwaldes im Bereich der Lanwirtschaftskammer Hannover. *AFZ/ Der Wald* 52: 1323-1325.
- HÖPPNER DE RIZO, M., 1991: Genetische Differenzierung von Douglasienpflanzgut. Unveröff. Diplomarbeit, Universität Göttingen, 48 S.
- HOEY, M.T. & PARKS, C.R., 1994: Isozyme inheritance in the genus *Liquidambar* L. *Journal Heredity* 81: 393-397.
- HOFFMANN, CH., 1994: Populationsgenetische Vergleiche von Autochthonen Douglasienbeständen mit künstlichen deutschen Douglasienpopulationen. Dissertation am Forstwissenschaftlichen Fachbereich der Georg-August-Universität Göttingen. 83 S.
- HOFFMANN, CH. & GEBUREK, TH., 1995: Allozyme variation of indigenous Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO) populations and their descendants in Germany. *Silvae Genetica* 44 (5-6): 222-225.
- HONG, Y.P., PONOY, B. & CARLSON, J.E., 1995: Genetic diversity and phylogeny in Douglas-fir based on RFLP and RADF analyses of nuclear, chloroplast, and mitochondrial genomes." PP 247 - 266 in: BARADAT, PH., ADAMS, W.T. & MÜLLER-STARCK, G. (eds.): *Population Genetics and Genetic Conservation of Forest Trees.* SPB Academic Publishers bv, Amsterdam. 479 pp.
- HOLZER, K., 1975: Zur Identifizierung von Fichtenherkünften (*Picea abies* (L.) KARST). *Silvae Genetica* 24 (5-6): 169-175.
- HOLZER, K. & NATHER, J., 1974: Die Identifizierung von forstlichem Vermehrungsgut. S 13 -42 in ANONYMUS 1974: 100 Jahre Forstliche Versuchsanstalt. FBVA, Wien. Eigenverlag.

- HOLZER, K. & NATHER, J., 1988: Wachstum von Fichtenpopulationen aus verschiedenen Höhenlagen im Fostgarten. S. 117-128 in ANONYMUS 1988: Forum Genetik-Wald-Fostwirtschaft: Bericht über die 5.Arbeitstagung, Innsbruck 1987. FBVA Berichte Nr. 28, Eigenverlag der FBVA, Wien, 192 S.
- HOLZER, K., SCHIELER, K. & SCHULTZE, U., 1989: Die Ausscheidung regionaler Fichtenherkunftsgruppen aufgrund von Frühstestuntersuchungen. S. 75-86 in: HATTEMER, H.H. (Hrsg.): Erhaltung forstlicher Genressourcen. Schriftenreihe d. Forstl. Fak. Uni. Göttingen Band 98. J.D. Sauerländer's / Frankfurt. 180 S.
- HOSIUS, B., 1993: Wird die genetische Struktur eines Fichtenbestandes von Durchforstungeingriffen beeinflusst? Forst u. Holz 48: 306-308.
- HOSIUS, B., HENKEL, W., BERGMANN, F. & HATTEMER, H.H., 1996: Erkennung von Verstößen gegen das Gesetz über forstliches Saat- und Pflanzgut. AFZ 51 (26): 1450-1451.
- HOWE, G.T., STRAUSS, S.H., DOERKSEN, A.H. & PALMER, J.D., 1988: Gene and restriction site maps of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) and radiata pine (*Pinus radiata* D. DON) chloroplast genomes. S. 54- 66 in CHELIAK, W.M. & YAPA, A.C.: Molecular genetics of forest trees. Petawawa National Forestry Institute information report PI-X-80, 95 S.
- HUEHNS, E.R., DANCE, N., BEAVEN, G.H., HECHT, F. and MOTULSKY, A.G. 1964: Human embryonic hemoglobins. Cold Sp. Harb. Symp. 29:327-331.
- HUSS, J., 1992: Was ist Waldbau auf ökologischer Grundlage? AFZ 47: 56-64. (loc.cit. S. 63)
- HUSS, J., 1996: Die Douglasie als Mischbaumrt. AFZ: 51: 1112-1116.
- HUSSENDÖRFER, E., 1996: Wird Biodiversität durch eine künstliche Bestandesbegründung beeinflusst? S. 160-176 in: MÜLLER-STARCK, G. (Hrsg.), 1996: Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft." Ecomed / Landsberg, 340 S.
- HUSSENDÖRFER, E., 1997: Untersuchungen über die genetische Variation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) unter dem Aspekt der in situ Erhaltung genetischer Ressourcen in der Schweiz. Beih. Nr. 83 Schw.Z.Forstwes. 151 S. broschiert.
- JAASKA, V., 1983: Rye and Triticale. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. S. 79-102.
- JAASKA, V., & JAASKA, V. 1990: Isoenzyme Variation in Asian Beans. Bot.Acta 103, S.281-290.
- JACOB, F. & MONOD, J., 1961: On the regulation of gene activity. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 26: 193-211. Zit. nach HATTEMER et al. 1993, S. 74 ff.
- JAHN, G., 1954: Standörtliche Grundlagen für den Anbau der grünen Douglasie unter besonderer Berücksichtigung des nordwestdeutschen Mittelgebirges. Schriftenreihe d. Forstl. Fakultät d. U. Göttingen Bnd. 11, Sauerländer's Verlag, Frankfurt a. M. 112 S.
- JAHN, G., MÜHLHÄUBER, G., HÜBNER, W., & BÜCKING, W., 1990: Zur Frage der Veränderung der natürlichen Waldgesellschaften am Beispiel der montanen und hochmontanen Höhenstufe des westlichen Nordschwarzwaldes. Mitt. Ver. Forstl. Standortkunde und Forstpflanzenzücht. (Freiburg) Nr. 35: 15-25.
- JESTAEDT, M., 1980: Untersuchungen über die Jugendentwicklung von Douglasienprovenienzen in Hessen. Mitt. Hess. Landesforstverwaltung, Bd. 16, J.D.Sauerländer's Verlag, Frankfurt a.M. 106 S.
- JOSZA, L., 1998: Matching trees with end products. lecture given at the joint meeting of the North American Forest Biology Workshop (NAFB) and the Western Forest Genetics Association (WFGA) in Vancouver, June 1998.
- JUO, P.-S. & STOTZKY, G., 1973: Electrophoretic analysis of isozymes from seeds of *Pinus*, *Abies*, and *Pseudotsuga*. Can. J. Bot. 51: 2201-2205.
- KÄRKKÄINEN, K. & SAVOLAINEN, O., 1993: The degree of early inbreeding depression determines the selfing rate at the seed stage: model and results from *Pinus sylvestris* (Scots pine). Heredity 71: 160-165.
- KAISER, TH. & PURPS, J., 1991: Der Anbau fremdländischer Baumarten aus der Sicht des Naturschutzes - diskutiert am Beispiel der Douglasie. Forst u. Holz. 46: 304-305.
- KAURISCH, P., THROLL, M., GRUPPE, W., KÖHLER, W. (1991): Enzym polymorphismen bei Süß- (*Prunus avium*) und Sauerkirschen (*P. cerasus*): Kultursortendifferenzierung. Angew. Bot. 65, S. 35-43.
- KARLSON, P., 1988: Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 13. Aufl., Georg Thieme, Stuttgart /New York. 490 S.
- KAVECKI, T.J. & STEARNS, S.C., 1993: Evol. Ecol. 7: 155 (zit. n. PETERSON et al. 1999)
- KENK, G., & THREN, M., 1984a: Ergebnisse verschiedener Douglasienprovenienzversuche in Baden-Württemberg. I. Der internationale Douglasienprovenienzversuch von 1958. AFJZ 155: 165-184.
- KENK, G., & THREN, M., 1984b: Ergebnisse verschiedener Douglasienprovenienzversuche in Baden-Württemberg. II. Die Versuche Kirchzarten, Aalen/Schwarzach, Steinheim und Heidelberg/Ettenheim/Kandern. AFJZ 155: 221-240.
- KENK, G., & EHRING, A., 1995: Naturnähe bei der Baumartenwahl: Tanne-Fichte-Buche oder Douglasie? AFZ 50: 567-569.
- KIANG, Y.T., & GORMAN, M.B. 1983: "Soybean". In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. S. 295-328.
- KINDL, H. & WÖBER, G., 1975: Biochemie der Pflanzen. Springer, Berlin /Heidelberg /New York. 364 S.
- KINDL, H. 1987: Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl. Springer, Berlin /Heidelberg /New York. 379 S.
- KING, J.N., & DANCIC, B.P., 1983: Inheritance and linkage of isozymes in White spruce (*Picea glauca*)." Can. J. Genet. Cytol. 25: 430-436.
- KIRSCHFELD, P., 1967: Baden-Württemberg. S. 27-45 in: Anonymus 1967: Wertvolle Herkünfte forstlicher Baumarten in der Bundesrepublik Deutschland. BLV, München /Wien. 268 S.
- KLEINIG, H., & SITTE, P., 1986: Zellbiologie. 2. Aufl. Gustav Fischer, Stuttgart /New York. 528 S.
- KLEINSCHMIT, J., 1974: Geschichtliche Entwicklung, Stand und zukünftige Aufgaben forstlicher Herkunftsforschung. AFJZ 145: 197-205.
- KLEINSCHMIT, J., 1984: Neuere Ergebnisse der Douglasien-Provenienzforschung und -Züchtung in der Bundesrepublik Deutschland. Schweiz.Z.Forstwes. 135 (8): 655-679.
- KLEINSCHMIT, J., RACZ, J., WEISGERBER, H., DIETZE, W., DIETERICH, H., & DIMPFLMEIER, R., 1974: Ergebnisse aus dem internationalen Douglasien-Herkunftsforschung von 1970 in der Bundesrepublik Deutschland. Silvae Genetica 23 (6): 167-176.

- KLINKA, K., GREEN, R.N., COURTIN, P.J., NUSZDORFER, F.C., 1984: Site diagnosis, tree species selection, and slashburning guidelines for the Vancouver forest region., British Columbia. Land management report No. 25, Ministry of Forests British Columbia, Informations services branch. 180 pp.
- KLUMPP, R., 1995: Area-specific variations of isozyme gene markers in Douglas-fir. pp.193-198 in in: BARADAT, PH., ADAMS, W.T. & MÜLLER-STARCK, G. (eds.): Population Genetics and Genetic Conservation of Forest Trees. SPB Academic Publishers bv, Amsterdam. 479 pp.
- KLUMPP, R. & LEIST, N., 1991: Über Möglichkeiten der Identifikation forstlichen Vermehrungsgutes mittels Isoenzym-Genmarkern. S. 347-352 in: ZARGES, A. (Hrsg.): Kongreßband 1991 zum 103. VDLUFA Kongreß in Ulm. Schriftenreihe des VDLUFA Nr. 33, Darmstadt.
- KOEHN, R.K., ZERA, A.J. & HALL, J.G., 1983: Enzyme polymorphism and natural selection. PP. 115-136 in NEI, M. & KOEHN, R.K., (eds.) 1983: Evolution of genes and proteins. Sinauer Ass. / Sunderland, Mass. 331 pp.
- KONNERT, M., 1991a: Die Fichte (*Picea abies* [L.] KARST.) im Schwarzwald: Genetische Variation und Korrelationen. FwCbl. 110: 84-94.
- KONNERT, M., 1991c: Vergleich der genetischen Strukturen verschiedener Generationen zweier natürlich verjüngter Fichtenbestände des Schwarzwaldes. *Silvae Genetica* 40: 61-65.
- KONNERT, M. 1992: Genetische Untersuchungen an geschädigten Weißtannenbeständen (*Abies alba* MILL.) Südwestdeutschlands. Mitt. d. Forstl. Versuchs- u. Forschungsanstalt Bad.-Württ. Band 167. 119 S.
- KONNERT, M. 1993: Untersuchungen über die genetischen Variation der Weißtanne (*Abies alba* MILL.) in Bayern. AFJZ 164: 162-169.
- KONNERT, M. 1994a: Überprüfung der Anzucht von Pflanzgut mit Hilfe der Isoenzymanalyse. AFZ 49 (5): 225-227.
- KONNERT, M. 1994b: Untersuchungen zur genetischen Variation der Weißtanne (*Abies alba* MILL.) in Baden-Württemberg. S. 79-95 in: Wolf, H. (Hrsg.): Weißtannenherkünfte. Ecomed, Landsberg /Lech. 150 S.
- KONNERT, M. 1995: Isoenzymuntersuchungen bei der Fichte (*Picea abies* (L.) KARST.) und Weißtanne (*Abies alba* MILL.) - Anleitung zur Trennmethodik und Auswertung der Zymogramme. Bayerische LASP, Teisendorf (Selbstverlag). 74 S., broschiert.
- KONNERT, M. & BERGMANN, F., 1995: The geographical distribution of genetic variation of Silver fir (*Abies alba*, *Pinaceae*) in relation to its migration history. *Pl.Syst.Evol.* 196: 19-30.
- KONNERT, M. & SPIECKER, H., 1996: Beeinflussen Nutzungen einzelner Bäume die genetische Struktur von Beständen? AFZ/DER WALD 51: 1284-1291.
- KOHL, A. & NATHER, J., 1993: Die Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*). ÖFZ 104 (4): 31-34.
- KÖHLER, W., SCHACHTEL, G. & VOLESKE, P., 1992: Biostatistik - Einführung in die Biometrie für Biologen und Agrarwissenschaftler. Springer; Berlin / Heidelberg / New York. 255 S.
- KREIKE, J., BURG, K., ZECHMEISTER, M., HAIDER, T. & GLÖSSEL, J., 1991: DNA-fingerprint and RFLP analysis as tools to study genetic diversity in populations of fir, spruce and oak. S. 95-107 in: Müller-Starck, G. & Ziehe, M., (eds.) 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländer's, Frankfurt a.M., 271 S.
- KREMENETZKI, C.V., LIU, K. & MacDONALD, G.M., 1998: The late quaternary dynamics of pines in northern Asia. pp 95-106 in : RICHARDSON, D.M., (ed.), 1998: Ecology and biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press, 527 S.
- KREMER, A., PETIT, R., ZANETTO, A., FOUGERE, V., DUCOUSSO, A., WAGNER, D. & CHAUVIN, C., 1991: Nuclear and Organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea*. PP.: 141-166 in: MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M., 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J.D. Sauerländers Verlag / Frankfurt a.M. 271 S.
- KRUEGER, S.K. & KNAPP, S.J., 1990: Genetics of allozyme variation in *Cuphea laminuligera* und *C. lutea*. *Journal Heredity* 81, S. 351-358.
- KRÜSSMANN, G., 1972: Handbuch der Nadelgehölze. Paul Parey, Berlin /Hamburg. 366 S.
- LAGERCRANTZ, U., & RYMANN, N., 1990: Genetic structure of Norway spruce (*Picea abies*): concordance of morphological and allozymic variation. *Evolution* 44: 38-53
- LANDE, R., 1996: The meaning of quantitative genetic variation in evolution and conservation. S. 27-40 in: SZARO, R.C. & JOHNSTON, D.W. (eds.) 1996: Biodiversity in managed landscapes - theory and practice. Oxford University Press, Oxford / New York. 778 S.
- LANG, G., 1994: Quartäre Vegetationsgeschichte Europas - Methoden und Ergebnisse. Gustav Fischer, Jena / Stuttgart. 462 S.
- LANNER, R. M., 1996: Made for each other. A symbiosis of birds and pines. Oxford University Press, New York. 160 p.
- LANNER, R. M., 1998: Seed dispersal in *Pinus*. pp. 281-295 in: RICHARDSON, D.M., (ed.), 1998: Ecology and Biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press, 527 S.
- LANNER, R. M. & VAN DEVENDER, Th. R., 1998: The recent history of pinyon pines in the American Southwest. pp. 171-190 in: RICHARDSON, D.M., (ed.), 1998: Ecology and biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press, 527 S.
- LARSEN, J.B., 1989: Waldbauliche Probleme und Genökologie der Weißtanne (*Abies alba* MILL.). AFJZ 160 (2/3): 39 - 43.
- LAVENDER, D.P., PARISH, R., JOHNSON, C.M., MONTGOMERY, G., VYSE, A., WILLIS, R.A. and WINSTON, D. (eds.), 1994: Regenerating British Columbia's Forests. Unveränderter Nachdruck d. 1.Aufl. 1990. UBC Press, Vancouver. 372 S.
- LEDIG, F.T., 1986: Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. PP. 77-104 in: SOULE, M.E. (ed.), 1986: Conservation Biology. Sinauer Ass. / Sunderland, MA.
- LEDIG, F.T., GURIES, R.P. & BONEFELD, B. A., 1983: The relation of growth to heterozygosity in pitch pine. *Evolution* 37: 1227-1238.
- LEHNINGER, A.L., 1985: Biochemie. 2.Aufl. - 3. Nachdruck; Verlag Chemie, Weinheim. 919 S.
- LEHNINGER, A. L., 1987: Prinzipien der Biochemie. Walter de Gruyter, Berlin /New York. 1117 S.
- LEINEMANN, L., 1996: Genetic differentiation of damaged and healthy Douglas-fir stands in Rheinland-Pfalz with respect to their origin. *Silvae Genetica* 45: 205-256.

- LEINEMANN, L., 1997: Genetische Strukturen gesunder und geschädigter Douglasienbestände in Rheinland-Pfalz. S. 145-160 in: MAURER, W. & TABEL, U., 1997: Stand der Ursachenforschung zu Douglasienschäden - derzeitige Empfehlung für die Praxis. Mitt. aus d. FVA Rheinland-Pfalz Nr. 41/97. Eigenverlag, Trippstadt. 176 S. broschiert.
- LEINEMANN, L., 1998: Genetische Untersuchungen an Rassen der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO) am Beispiel gesunder und geschädigter Bestände. Göttingen Res. Notes in Forest Genetics Nr. 23. 141 S.
- LEINEMANN, L., & Maurer, W., 1999: Bedeutung von Isoenzymgenmarkern für den Anbau der Douglasie. AFZ/DerWALD 54: 242-243.
- LEWONTIN, R.C., 1985: Population genetics. Ann.Rev.Genet. 19: 81-102.
- LEXER, Ch., STREIFF, R., STEINKELLNER, H. & GLÖSSL, J., 1997: Vaterschaftstests für Bäume mit Makrosatelliten. ÖFZ 108 (6): 43-44.
- LI, P., 1986: Range-wide patterns of allozyme variations in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO)". MS Thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon. 106 p.
- LI, P. & ADAMS, W.T. 1989: Range-wide patterns of allozyme variations in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO). Can.J.For.Res. 19:149-161.
- LI, P. & ADAMS, W.T. 1993: Genetic control of bud phenology in pole-size trees and seedlings of coastal Douglas-fir. Can. J. For. Res. 23:1043-1051.
- LIESEBACH, M., 1994: Untersuchungen an ausgewählten Herkünften des internationalen Fichtenprovenienzversuches 1964/68 über den Zusammenhang zwischen Isoenzymmerkmalen und morphologischen, phänologischen sowie Wachstums-Merkmalen. Dissertation Universität Hamburg, Fachbereich Biologie. 210 S.
- LINHART, Y.B., DAVIS, M.L. & MITTON, J.B., 1981: Genetic control of allozyme of Shikimate Dehydrogenase in ponderosa pine. Biochemical Genetics, 19, S. 641-646.
- LIVINGSTON, G.K., 1971: The morphology and behavior of meiotic chromosomes of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). Silvae Genetica 20: 75-82.
- LUDEWIG, M., HANSON, H., KISELEV, N.A., STEL'MASHCHUK, V.Ya., & TSUPRUN, V.L. 1977: On the quaternary structure of leucine aminopeptidase. Acta biol. med. germ., Band 36, S. 157-165.
- LÜDEMANN, G., 1978: Die Bedeutung privater Forstbaumschulbetriebe für die deutsche Forstwirtschaft. AFZ 33 (37, Sonderbeilage): 3-11.
- LUGINBUHL, R.C., SCHLOTZHAUER, S.D., PARKER, J.C. & INGRAHAM, K.P., 1987: SAS/STAT Guide for Personal Computers, Version 6. Edition. SAS Institute, Gary (NC).
- LUNDKVIST, K., 1974: Inheritance of leucine aminopeptidase isozymes in *Picea abies* K.. Hereditas 76, S. 91-96.
- LUNDKVIST, K., 1979: "Allozyme frequency distributions in four Swedish populations of Norway spruce (*Picea abies* K.). I. Estimations of genetic variation within and among populations, genetic linkage and a mating system parameter". Hereditas 90, S. 127-143.
- LYR, H., FIEDLER, H.-J., TRANQUILLINI, W., 1992: Physiologie und Ökologie der Gehölze. Gustav Fischer, Jena/Stuttgart. 620 S.
- MacDONALD, G.M., Cwynar, L.C. & WHITLOCK, C., 1998: The late quaternary dynamics of pines in northern North America. pp 122-136 in: Richardson, D.M., (ed.), 1998: Ecology and biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press, 527 S.
- MACK, R.N., RUTTER, N.W. & VALASTRO, S., 1983: Holocene vegetational history of the Kootenai river valley, Montana. quaternary Research 20: 177-193.
- MALVOLI, M.E. & FINESCHI, S. 1987: Analysis of enzyme systems in hestnut (*Castanea sativa* MILL.). Genetica Agraria 41, S.243-256.
- MALVOLI, M.E., TEISSIER DU CROS, E., FINESCHI, S. & PACIUCCI, M., 1991: Biochemical markers in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* BARTR.) enzymatic variation in a factorial mating design. S.31-58 in: Fineschi, S., Malvolti, M. E., Cannata, F. & Hattemer, H.H.: Biochemical markers in population genetics of forest trees. SPB Academic Publishing by, The Hague, 1991.
- MARKERT, C.L. & MOLLER, F., 1959: Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 45: 753-763.
- MARSHALL, D.R. & BROWN, A.H.D., 1975: Optimum sampling strategies in genetic conservation. PP. 53-80 in: Frankel, O.H. & Hawkes, J.G. (eds.): Crop genetic resources for today and tomorrow. Cambridge University Press, Cambridge.
- MARTIN, P.S., & MEHRINGER, P.J., 1982: Pleistocene pollen analysis and biogeography of the Southwest. pp. 433-450 in: The Quaternary of the United States. Princeton University Press, Princeton. 922 p. (zit. n. HERMANN 1985b)
- MATTES, H., 1994: Size of pine areas in relation to seed dispersal. pp.172-177 in: in: SCHMIDT, W.C. & HOLTMEIER, F.K., (eds.), 1994: Proceedings - International Workshop on Subalpine Stone Pines and Their Environment: the Status of Our Knowledge. St. Moritz 1992, Switzerland. USDA Intermountain Res. Station Ogden UT, Gen.Tech.Rep. INT-GTR-309. 321 p.
- MAYR, E., 1997: Evolution and diversity of life. Selected essays. 4th edition (1st ed. 1976). The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge (Mas.) / London . 721 p.
- MAYR, E. & PROVINE, W.B., 1998: The evolutionary synthesis. Perspectives from the Unification of Biology. Harvard press, Cambridge / London. 487 S. loc. cit. S. xi)
- MAYR, H., 1901: Kleinere Mitteilungen über Coniferen. Mitt. der DDG 10: 56-58.
- MAYR, H., 1906: Fremdländische Wald- und Parkbäume in Europa. Paul Parey / Berlin. 622 S. und 20 Tafeln.
- McCAUGHEY, W.W., 1994: The regeneration process of whitebark pine. pp. 179-187 in: SCHMIDT, W.C. & HOLTMEIER, F.K., (eds.), 1994: Proceedings - International Workshop on subalpine stone pines and their environment: the status of our knowledge. St. Moritz 1992, Switzerland. USDA Intermountain Res. Station Ogden UT, Gen.Tech.Rep. INT-GTR-309. 321 p.
- McCREARY, D.D., LAVENDER, D.P., & HERMANN, R.K., 1990: Predict global warming and Douglas-fir chilling requirements. Ann.Sci.For. 47: 325-330.

- McLEOD, M.J., SHELDON, I., GUTTMAN, W., ESHBAUGH, W.H., 1983: In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/New York. S. 189-201.
- McMILLIN, D. E., 1983: Plant Isozymes: A historical perspective. PP 3 - 13 in: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1A, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/New York. 516 pp.
- MEHRINGER, P.J., ARNO, S.F. & PETERSEN, K.L., 1977: Postglacial history of Lost Trial Pass bog, Bitterroot Mountains, Montana. Arctic and Alpine Research 9: 345-368.
- MEJNARTOWICZ, L., 1976: Genetic investigations on Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb. Franco) populations. Arboretum Kórnickie, Roznik XXI, 126-187.
- MEJNARTOWICZ, L. & BERGMANN, F., 1977: Variation and genetics of ribonucleases and phosphodiesterases in conifer seeds. Can. J. Bot. 55: 711-717.
- MEJNARTOWICZ, L. & LEWANDOWSKI, A., 1994: Allozyme polymorphism in seeds collected from a IUFRO-68 Douglas-fir test-plantation. Silvae Genetica 43 (4): 181-186.
- MELBYE, S.W. & CARPENTER, F.H., 1971: Leucine Aminopeptidase (Bovine Lens) - Stability, Size, Subunits. J. Biol. Chem., Vol 246, S.2459-2463.
- MERKLE, S.A. & ADAMS, W.T., 1987: Patterns of allozyme variation within and among Douglas-fir breeding zones in southwest Oregon. Can.J.For.Res. 17:402-407.
- MERKLE, S.A., ADAMS, W.T. & CAMPBELL, R.K., 1988: Multivariate analysis of allozyme variation patterns in coastal Douglas-fir from southwest Oregon. Can.J.For.Res. 18:181-187.
- MERZAU, D., GIUSTO, F. di, COMPS, B., THIÉBAUT, B., LETOUZEY, J. & CUGUEN, J., 1989: Genetic control of isozyme systems and heterogeneity of pollen contribution in beech (*Fagus sylvatica* L.)". Silvae Genetica 38, S. 195-201.
- MILLAR, C.I., 1998: Early evolution of pines. pp. 69-91 in: RICHARDSON, D.M., (ed.), 1998: Ecology and biogeography of Pinus. Cambridge University Press, 527 S.
- MILLAR, C.I. & WESTFALL, R.D., 1992: Allozyme markers in forest genetic conservation. New Forests 6: 347-371.
- MIROV, N.T., 1961: Composition of gum turpentines. U.S. Dept. Agric., Forest Service, Technical bulletin No. 1239.
- MIROV, N.T., 1967: The genus *Pinus*. The Ronald Press Company, New York. 602 p.
- MITCHELL, A., 1974: Die Wald- und Parkbäume Europas: Ein Bestimmungsbuch für Dendrologen und Naturfreunde. Übers. u. bearb. v. G. Krüssmann. Paul Parey / Hamburg, Berlin. 419 S.
- MITTON, J.B., 1983: Conifers. PP. 443 - 472 in: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding". Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam /New York. 472 pp.
- MITTON, J.B., 1995: Genetics and the physiological ecology of conifers. PP.1-36 in: SMITH, W.K. & HINCKLEY, T.M., 1995: Ecophysiology of coniferous forests. Academic Press/ New York. PP 338.
- MÖRMANN, P., 1956: Zum Douglasienanbau in Nordbaden. Feststellungen und Erkenntnisse anlässlich der Douglasenzapfenernte 1953. AFJZ 127: 97-102.
- MOHR, H. & SCHOPFER, P., 1992: Pflanzenphysiologie. 4. Aufl. Springer / Berlin, Heidelberg, New York. 659 S.
- MOOSMEYER, H.-U., 1977: Zur Regionalen waldbaulichen Planung in Baden-Württemberg. AFZ 32: 504-509.
- MORAN, G.F. & ADAMS, W.T., 1989: Microgeographical patterns of allozyme differentiation in Douglas-fir from Southwest Oregon. For. Science 35: 3-15.
- MORGENSTERN, E.K., 1996: Geographic Variation in Forest Trees. Genetic basis and application of knowledge in silviculture. UBC-Press, Vancouver. 209 S.
- MOSS, D. W., 1982: Isoenzymes. Chapman & Hall, New York. 204 S.
- MÜLLER, G. 1976: A simple method of estimating rates of self-fertilization by analysing isozymes in tree seeds. Silvae Genetica 25 (1), S. 15-17.
- MÜLLER, J. & STOLLENMAIER, S., 1994: Auswirkungen des Douglasienanbaues auf die Vogelwelt. AFZ 49: 237-239.
- MÜLLER-STARCK, G., 1983: Untersuchungen zur Charakterisierung von Kiefern Saatgut-Mischproben. S. 94-104 in: ANONYMUS 1983: Forum Genetik-Wald-Fostwirtschaft: Bericht über die 3. Arbeitstagung, Freiburg 1984. 104 S., broschiert.
- MÜLLER-STARCK, G., 1985: Reproductive success of genotypes of *Pinus sylvestris* L. in different environments." PP. 118-133 in: Gregorius, H.R. (ed.): Population genetics in forestry. Lecture notes in biomathematics No. 60. Springer, Berlin/ New York. 287 pp.
- MÜLLER-STARCK, G., 1986: Genetic means of verifying observance of the law. II. Genetic characterization of orchard produced seeds. S. 67-74 in: Muhs, H.J., 1986: Biochemical Genetics and Legislation of Forest Reproductive Material. Proceedings of the IUFRO Joint Meeting of WP S2.04-05 and S2.03-14 in Grosshansdorf 1985. Mitt. d. BFH Hamburg Nr. 154. Kommissionsverlag M. Wiedebusch, Hamburg. 211 S.
- MÜLLER-STARCK, G., 1987: Genetic differentiation among seed samples from provenances of *Pinus sylvestris* L. Silvae Genetica 36: 5-6.
- MÜLLER-STARCK, G., 1991: Survey of genetic variation as inferred from enzyme gene markers. PP. 20 -37 in: Müller-Starck, G. & Ziehe, M., 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees." J.D. Sauerländers Verlag / Frankfurt a.M. 271 S.
- MÜLLER-STARCK, G., 1995: Genetic variation in high elevated populations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) KARST) in Switzerland. Silvae Genetica 44: 356-362.
- MÜLLER-STARCK, G. & HÜTTERMANN, A., 1981: Aminopeptidase in seeds of *Picea abies* (L.) KARST.: Characterization of Leucine Aminopeptidase by molecular properties and inhibitors. Biochem. Genetics 19: 1247-1259.
- MÜLLER-STARCK, G., & GREGORIUS, H.R., 1986: Monitoring genetic variation in forest tree populations. S. 589-599 in: Proc. 18th IUFRO World Congress Ljubljana, 1986, Div.2. Vol. II.
- MÜLLER-STARCK, G. & STARKE, R., 1993: Inheritance of isozymes in european beech (*Fagus sylvatica* L.). Journ. Heredity 84: 291-296.

- MÜLLER-STARCK, G., BARADAT, PH. & BERGMANN, F., 1992: "Genetic variation within european tree species." *New Forests* 6: 23-47.
- MÜNCH, E., 1923: Anbauversuche mit Douglasfichten verschiedener Herkunft und anderen Nadelholzarten. *Mitt. d. DDG* 1923: 61-79.
- MUHS, H.-J., 1974: Distinction of Douglas-fir provenances using peroxidase-isoenzyme-patterns of needles. *Silvae Genetica* 23: 71-76.
- MUONA, O. & HARJU, A., 1989: Effective populations sizes, genetic variability, and mating system in natural stands and seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica* 38: 221-228.
- MUONA, O., YAZDANI, R. & LUNDQVIST, G., 1987a: Analysis of linkage in *Picea abies*. *Hereditas* 106, S.31-36.
- MUONA, O., YAZDANI, R. & RUDIN, D., 1987b: Genetic change between life stages in *Pinus sylvestris*: allozyme variation in seeds and planted seedlings. *Silvae Genetica* 36: 39-42.
- MUONA, O., HARJU, A. & KÄRKKÄINEN, K., 1988: Genetic comparison of natural and nursery grown seedlings of *Pinus sylvestris* using allozymes. *Scand. J. For. Res.* 3: 37-46.
- MRAZEK, F., 1999: Für (und wider) die Douglasie. *AFZ/DerWALD* 54: 132-134.
- NATHER, J., 1985: Characterization of seed samples of Douglas-fir by short term investigations on bud set. - A preliminary report. S. 265- 273 in RUETZ, W. & NATHER, J., 1987: Breeding strategy for Douglas-fir as an introduced species. *FBVA Berichte Nr. 21*, Eigenverlag der FBVA, Wien, 300 S.
- NEALE, D.B., 1985: Genetic implications of shelterwood regeneration of Douglas-fir in southwest Oregon. *For. Science* 31: 995-1005.
- NEALE, D.B. & ADAMS, W.T., 1985: The mating system in natural and shelterwood stands of Douglas-fir. *TAG* 71: 201-207.
- NEALE, D.B., WEBER, J.C. & ADAMS, W.T., 1984: Inheritance of needle tissue isozymes in Douglas-fir. *Can. J. Genet. Cytol.* (4) 26: 459-468.
- NEALE, D.B., WHEELER, N.C. & ALLARD, R.W., 1986: Paternal inheritance of chloroplast DNA in Douglas-fir. *Can. J. For. Res.* 16: 1152-1154.
- NEALE, D.B., KIMBERLEY, A.M. & SEDEROFF, R.R., 1988: Inheritance of chloroplast and mitochondrial DNA in conifers. S. 89-100 in: HÄLLGREN, J.-E. (ed.): *Molecular genetics of forest trees. - Proceedings of the Frans Kempe symposium in Umeå 1988*. Swedish University of Agricultural Sciences, Dep. of Forest Genetics and Plant Physiology, Report 8, Umeå 1988, 221 S.
- NEALE, D.B. & SEDEROFF, R.R., 1988: Inheritance and evolution of conifer organelle genomes. S. 251-264 in: Hanover, J.W. & Keathley, D.E. (eds.): *Genetic manipulation of woody plants*. Plenum Press Publ. Corp., New York.
- NEI, M., 1972: Genetic distance between populations. *Amer. Nature* 106: 283-292.
- NEI, M., 1973: Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 70: 3321-3323.
- NEI, M., 1975: *Molecular population genetics and evolution*. North-Holland, Publ. Inc., Amsterdam.
- NEI, M., 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590
- NEI, M. & KOEHN, R.K., 1983: *Evolution of genes and proteins*. Sinauer Ass. / Sunderland, Mass. 331 pp.
- NIOU, Chumshan, 1990: *Dendrologie von Shaanxi (Dendrologia Schensiensis)*. 1. Aufl. Forstwissenschaftlicher Verlag Cinas, Beijing.
- OESCHGER, H.J., 1975: *Douglasienanbau in Baden-Württemberg mit besonderer Berücksichtigung der geschichtlichen Entwicklung*. Schriftenreihe d. LFV Baden-Württemberg, Band 45. Selbstverlag LFV, Stuttgart. 204 S.
- ODUM, E.P. / REICHHOLF, J., 1980: *Ökologie: Grundbegriffe, Verknüpfungen, Perspektiven*. 4. Aufl., BLV, München/ Wien/ Zürich. 208 S. [Amerikanisches Original: *Ecology: the link between the natural and the social sciences*. Holt, Rinehart & Winston, New York 1975.]
- OLIVER, G.St. & WARD, J.M., 1988: *Wörterbuch der Gentechnik*. Fischer, Stuttgart, 221 S.
- OLSTHOORN, A., 1998: *Soil acidification effects on fine root growth of Douglas-fir on sandy soils*. PhD.Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 153 pp.
- ORTON, T.J., 1983: *Celery and Celeriac (Apium graveolens L.)*. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/ New York. S. 351-367.
- OTT, L. & SCANDALIOS, J.G. 1976: Genetically defined peptidases of Maize. I. Biochemical characterization of allelic and nonallelic forms. *Biochem. Genetics* 14: 619-634.
- OTT, L. & SCANDALIOS, J.G. 1978: Genetic control and linkage relationships among aminopeptidases in Maize. *Genetics* 89, S.137-146.
- OTTO, H.-J., 1984: Standortkundliche Aufnahmen und Gliederungen in den wichtigen Herkunftsgebieten der Douglasie des westlichen Washington und Oregon sowie in Südwest-Britisch-Kolumbien. Versuch eines Vergleichs mit den Anbaubedingungen in Nordwest-Deutschland. *Mitt. Niedersächs. LFV "Aus dem Walde"*, Heft 38. Schaper, Hannover. 282 S.
- OTTO, H.-J., 1987: Skizze eines optimalen Douglasienwaldbaues in Nordwestdeutschland. *Forst u. Holz* 42: 515-522.
- OTTO, H.-J., 1998: Gesellschaftliche Akzeptanz einer modernen Forstwirtschaft. *Forst u. Holz* 53: 723-727.
- OVCHINNIKOV, Y.A., EGOROV, C.A., ALDANOVA, N.A., FEIGINA, M.Y., LIPKIN, V.M., ABDULAEV, N.G., GRISHIN, E.V., KISELEV, A.P., MODYANOV, N.N., BRAUNSTEIN, A.E., POLYANOVSKY, O.L., NOSIKOV, V.V., 1973: The complete amino acid sequence of cytoplasmatic Aspartate Aminotransferase from pig heart. *FEBS Lett.* 29, S. 31-34.
- OWENS, J.N. & SIMPSON, S.J., 1982: Further observations on the pollination mechanism and seed production of Douglas -fir. *Can. J. For. Res.* 12: 431-434.
- OWENS, J.N. & MORRIS, S.J., 1988: An ultrastructural study of fertilization in Douglas-fir [*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO]. S. 339-344 in: CRESTI, M., GORI, p. & PACINI, E. (eds.): *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin/ Heidelberg, 1988.
- OWENS, J.N. & MORRIS, S.J., 1991: Cytological basis for cytoplasmic inheritance in *Pseudotsuga menziesii*. II. Fertilization and proembryo development. *Am. J. Bot.* 78 (11): 1515-1527.

- OWSTON, W.P. & STEIN, W.I., 1974: *Pseudotsuga* Carr. - Douglas-fir. S. 674-683 in: SCHOPMEYER, C.S. (ed.), 1974: Seeds of woody plants in the United States. Agriculture Handbook No. 450. Forest Service, U.S. Department of Agriculture Washington, D.C.
- PARDÉ, J., 1985: Die Douglasie in Ostfrankreich. AFZ 40: 62-64.
- PARISH, R. & THOMSON, S., 1994: Tree book. Learning to recognize trees of British Columbia. Canadian Forest Service, Victoria (B.C.). 183 p.
- PAULE, L., 1989: Bibliography: Isozymes and forest trees (1968-1989). Swedish University of Agricultural Sciences, Dep. of Forest Genetics and Plant Physiology, Report 9, Umeå 1990, 82 S.
- PEARSE, M.F., & ROESEMAYER, M.A., 1973: The molecular weight and subunit structure of human erythrocyte 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase. Eur.J.Biochem 42, S. 225-235.
- PETERS, ST., 1998: Stand und Perspektiven der Douglasie in Baden-Württemberg. AFZ 53: 32-34.
- PETERSON, A.T., SOBERÓN, J. & SÁNCHEZ-CORDERO, V., 1999: Conservatism of ecological niches in evolutionary time. Science 285: 1265-1267.
- PETRIDES, G.A. & PETRIDES, O., 1992: A field guide to western trees: Western United States and Canada. The Peterson Field Guides No. 44. Houghton Mifflin, Boston/ New York. 308 S.
- PLESSAS, M.E., & STRAUSS, ST.H., 1986: Allozyme differentiation among populations, stands and cohorts in Monterey pine. Can. J. For. Res. 16: 1155-1164.
- POPPER, K., 1995: Lesebuch: ausgewählte Texte zur erkenntnistheorie, Philosophie der naturwissenschaften, Metaphysik, Sozialphilosophie. UTB für Wissenschaft: Miller, D. [Hrsg.]/ Tübingen. 460 S. (loc. cit. S.112).
- POULIK, M.D., 1957: Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature (New York/ London) 180: 1477-1479.
- POULSEN, H.D., SIMONSEN, V. & WELLENDORF, H., 1983: The inheritance of six isoenzymes in Norway spruce. For. Tree Improvement 16: 12-33.
- PRAT, D., CAQUELARD, TH. & ARNAL, S., 1990: Regime de reproduction et structure génétique de peuplements de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*). Unveröffentlichtes Manuskript des: Laboratoire INRA-ENGREF de recherche en science forestières - Unité de génétique des populations d'arbres forestiers. 6 Seiten.
- PRAT, D. & ARNAL, S. 1994: Allozyme Variation and Mating System in Three Artificial Stands of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO) planted in Europe. Silvae Genetica 43 (4): 199-206.
- PRAT, D. & CAQUELARD, TH., 1995: Mating system in a clonal Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO) seed orchard. I. Gene diversity and structure. Ann. Sciences Forestières 52: 201-211.
- PRAT, D., & BURCZYK, J., 1998: Genetic variation and mating system in a native provenance and the derived seed orchard of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) FRANCO).
- QUIROS, C. F., 1983: Alfalfa, Luzerne. S. 253-294 in: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J., (eds.), 1983: Isozymes in plant genetics and breeding. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/ New York.
- REHFELDT, G. E., 1983: Genetic variability within Douglas-fir populations: Implications for tree improvement. Silvae Genetica 32: 9-14.
- REHFELDT, G. E., 1989: Ecological adaptations in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*): a Synthesis. For. Ecol. and Management 28: 203-215.
- RENSING, K.H. & OWENS, J.N., 1994: Bud and cambial zone phenology of lateral branches from Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. Can.J.For.Res. 24: 286-296.
- RICHMOND, G.M., 1965: Glaciation of the Rocky Mountains. pp. 217-230 in: Anonymus 1965: The quaternary of the United States. Princeton University press, Princeton/ New Jersey. 922 p.
- RICHTER, G., 1988: Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels. 5. Aufl. Thieme, Stuttgart / New York. 639 S.
- RICHTER, J., 1992: Forstwirtschaft und Naturhaushalt. Forst u. Holz 47: 141-144.
- RIEGER, R., MICHAELIS, A. & GREEN, M.M., 1991: Glossary of Genetics, classical and molecular. 5. Aufl. (1. Aufl. 1954) Springer, Heidelberg / New York. 553 S.
- RIPPA, M., SIGNORINI, M., PONTREMOLI, S., 1967: Purification and properties of two forms of 6-Phosphogluconate-Dehydrogenase from *Candida utilis*. Europ. J. Biochem. 01: 170-178.
- ROHMEDER, E., 1972: Das Saatgut in der Forstwirtschaft. Paul Parey, Hamburg/ Berlin. 273 S.
- ROTHER, G. M., 1994: Electrophoresis of Enzymes - Laboratory Methods. Springer, Heidelberg / New York. 307 S.
- ROTHKIRCH, F. V. & STRUTHOFF, B., 1989: Die ältesten Douglasien in Deutschland - 150 Jahre alt. Forst & Holz 44: 499-500.
- RUDIN, D. & EKBERG, I., 1978: Linkage studies in *Pinus sylvestris* L. - using macro gametophyte allozymes. Silvae Genetica 27 (1): 1-12.
- RUDLOFF, E.v., 1972: Chemosystematic studies in the genus *Pseudotsuga*. I. Leaf oil analysis of the coastal and Rocky Mountain varieties of the Douglas-fir. Can. Journ. Bot. 50: 1025-1040.
- RUDLOFF, E.v., 1973a: Chemosystematic studies in the genus *Pseudotsuga*: II. Geographical variation in the terpene composition of the leaf oil of Douglas-fir. Pure and Applied Chemistry 34: 401-410.
- RUDLOFF, E.v., 1973b: Chemosystematic studies in the genus *Pseudotsuga*: III. Population differences in British Columbia as determined by volatile leaf oil analysis. Can.J.For.Res. 3: 443-452.
- RUDLOFF, E.v., 1975: Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. Biochemical Systematics and Ecology 2: 131-167.
- RUDLOFF, E.v. & REHFELDT, G.E., 1980: Chemosystematic studies in the genus *Pseudotsuga*. IV. Inheritance and geographical variation in the leaf oil terpenes of Douglas-fir from the Pacific Northwest." Can.J.Bot. 58: 546-556.
- RUETZ, W., 1981: Douglasien-Herkunftsempfehlungen - ein Vorschlag für Bayern. AFZ 36: 1074-1076.
- SACHS, L., 1969: Angewandte Statistik. 3. Aufl. Springer, Berlin / New York. 649 S.
- SACHS, L., 1992: Angewandte Statistik. 7. Aufl. Springer, Berlin / New York. 849 S.
- SAINT-PAUL, U.v., 1901: *Pseudotsuga Douglasii*, Carrière. Mitt. d. DDG 10: 1-8.

- SAMOLLOW, P.B. & SOULÈ, M.E., 1983: A case of related heterozygote superiority in nature. *Evolution* 37: 646-649.
- SANTI, F. & LEMOINE, M., 1990a: Genetic markers for *Prunus avium* L.: I. Inheritance and linkage of isozyme loci. *Ann. Sci. For.* 47: 131-139.
- SANTI, F. & LEMOINE, M., 1990b: Genetic markers for *Prunus avium* L.: II. Clonal identifications and discrimination from *P. cerasus* and *P. cerasus* x *P. avium*. *Ann. Sci. For.* 47: 219-227.
- SARGENT, C. S., 1898: *The Silva of North America*. Vol. 22 Houghton Mifflin / Boston. 144 p.
- SAUERWEIN, K.-H. & HÖNNEKOP, T., 1991: "SPSS/PC+ - Eine anwendungsorientierte Einführung zur professionellen Datenanalyse". Addison-Wesley, Bonn / Reading (Mass.). 526 S.
- SHELLE, E., 1909: *Die winterharten Nadelhölzer Mitteleuropas - Ein Handbuch für Gärtner und Gartenfreunde*. Eugen Ulmer, Stuttgart. 356 S.
- SCHENCK, C.A., 1939: *Fremdländische Wald- und Parkbäume*. Bnd. 2 Die Nadelhölzer. Paul Parey / Berlin. 645 S.
- SCHMIDT, W., 1935: *Die Rassendiagnose in der Praxis der Waldsamenprüfungsanstalt*. S. 3-15 in ANONYMUS 1935: *Jahrbuch des Hauptausschusses für forstliche Saatgutenerkennung e.V. für 1935*. Potsdam, Eigenverlag.
- SCHMIDT, J., 1995: *Entwicklungslinien der Forsteinrichtungstatistik: Der Körperschaftswald der Forstdirektion Freiburg*. *AFZ/DerWald* 50: 1414-1419.
- SCHNABEL, A., HAMRICK, J.L. & WELLS, P.V., 1993: Influence of quaternary history on the population genetic structure of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in the Great Basin." *Can.J.For.Res.* 23: 1900-1906.
- SCHOTT, P.C., 1907: Rassen der gemeinen Kiefer. *Fw.Cbl.* 51: 199-218 und 262-279.
- SCHOBER, R., KLEINSCHMIT, J., & SVOLBA, J., 1983: Ergebnisse des Douglasienprovenienzversuches von 1958 in Nordwestdeutschland. I.Teil. *AFJZ* 154: 209-236.
- SCHOBER, R., KLEINSCHMIT, J., & SVOLBA, J., 1984: Ergebnisse des Douglasienprovenienzversuches von 1958 in Nordwestdeutschland. II.Teil. *AFJZ* 155: 53-80.
- SCHÜTT, P., 1997: *Pinus albicaulis*, Weißstämmige Zirbelkiefer. In: Schütt, P., Schuck, H.J., Lang, U.M. & Roloff, A. L.; *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*. 1. Aufl. 1994; 7. Erg. Lfg. 3/1997. Ecomed, Landsberg.
- SCHÜTT, P., LANG, K.J., SCHUCK, H.J., 1984: *Nadelhölzer in Mitteleuropa: Bestimmung, Beschreibung, Anbaukriterien*. Gustav Fischer/ Stuttgart, New York. 274 S.
- SCHÜTT, P., SCHUCK, H.J., STIMM, B., 1992: *Lexikon der Forstbotanik - Morphologie, Pathologie, Ökologie und Systematik wichtiger Baum und Straucharten*. Ecomed/ Landsberg. 581 S.
- SCHWERIN, F. v., 1907: *Pseudotsuga Douglasii caesia*. *Mitt. d. DDG* 16: 257.
- SCHWERIN, F. v., 1922: Die Douglasfichte. (Benennung, Formenreichtum, Winterhärte). *Mitt. d. DDG* 32: 53-67.
- SEIBERT, P., 1949: *Die Douglasie im Stadtwald Freiburg*. Dissertation a.d. Naturwiss. Fakultät d. Universität Freiburg, 132 S.
- SHAW, D.V. & ALLARD, R.W., 1982a: Isozyme heterozygosity in adult and open-pollinated embryo samples of Douglas-fir. *Silva Fennica* 16: 115-121.
- SHAW, D.V. & ALLARD, R.W., 1982b: Estimation of outcrossing rates in Douglas-fir using isozyme markers. *TAG* 62: 113-120.
- SILEN, R.R. & WHEAT, J.G. 1979: Progressive tree improvement program in Douglas-fir. *J. For.* 77: 78-83.
- SILVA TAROUCA, E. v. (Hrsg.), 1913: *Unsere Freiland-Nadelhölzer: Anzucht, Pflege und Verwendung aller bekannten in Mitteleuropa im freien kulturfähigen Nadelhölzer*. F.Tempisky, Wien. 301 S.
- SITTE, P., 1991: Morphologie, S. 11-238 in: Strasburger, E. (Begr.): *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*. 33. Aufl. 1991. Gustav Fischer, Stuttgart/ New York. 1032 S. Loc cit. S. 51, 162.
- SLATKIN, M. & TAKAHATA, N., 1985: The average frequency of private alleles in a partially isolated population. *Theoret. Pop. Biology* 28: 314-331.
- SLATKIN, M. & BARTON, N.H., 1989: A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- SNAJBERK, K., LEE, Ch. J. & ZAVARIN, E., 1974: Chemical Composition of Volatiles from Cortical Oleoresin of *Pseudotsuga menziesii*. *Phytochemistry* 13: 185-188.
- SNAJBERK, K. & ZAVARIN, E., 1976: Mono- and sesquiterpenoid differentiation of *Pseudotsuga* of the United States and Canada. *Biochemical Systematics and Ecology* 4: 159-163.
- SORENSEN, F., 1971: Estimate self-fertility in coastal Douglas-fir from inbreeding studies. *Silvae Genetica* 20: 115-120.
- SORENSEN, F. C. & CAMPBELL, R. K., 1997: Near neighbor pollination and plant vigor in coastal Douglas-fir. *For. Genetics* 4: 149-157.
- SOULÈ, M., E., 1979: Heterozygosity and developmental stability: another look. *Evolution* 33: 396-401.
- SOUTHERN, E.M., 1975: Detection of specific sequences among DNA-fragments separated by gel electrophoreses. *J.Mol.Biol.* 98: 503-517.
- SQUILLACE, A.E., 1976: Analysis of monoterpenes of conifers by gas-liquid chromatography. S.120-157 in: MIKSCH, J.P. (ed.): *Modern Methods in Forest Genetics*. Springer, Berlin/ Heidelberg/ New York, 1976.
- SQUILLACE, A.E., SCHREUDER, H.T. & BHATTACHARYYA, H.T., 1980: Identification of seed origin of slash pine plantations. *Silvae Genetica* 29 (3-4): 152-154.
- STAUFFER, A., 1992: *Anbauempfehlung für die Douglasie in der Schweiz: ein Vorschlag*. *Schweiz. Z. Forstwes.* 143: 917-939.
- STAUFFER, A. & ADAMS, W.T., 1993: Allozyme variation and mating system of three Douglas-fir stands in Switzerland. *Silvae Genetica* 42 (4-5): 254-258.
- STERN, K., 1968: Die Bedeutung genetischer Polymorphismen für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung. *AFJZ* 139:199-204.
- STEINHOFF, R. J., JOYCE, D.G., & FINS, L., 1983: Isozyme variation in *Pinus monticola*. *Can. J. For. Res.* 13: 1122-1132.

- STIER, H.E., KIRSTEN, E., WÜHR, W., QUIRIN, H., TRILLMICH, W., CZYBULKA, G., PINNOW, H. & EBELING, H., 1972: Großer Atlas zur Weltgeschichte. 8. Aufl. (1. Aufl. 1956) Braunschweig, Westermann, 78 S.
- STIMM, B. & BÖSWALD, K., 1994: Die Häher im Visier: Zur Ökologie und waldbaulichen Bedeutung der Samen-ausbreitung durch Vögel. Forstw. Cbl. 113: 204-223.
- STRASBURGER, E. (Begr.), 1991: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 33. Aufl. Gustav Fischer, Stuttgart/ New York. 1032 S.
- STRAUSS, S.H. & TSAI, C.-H., 1988: Genetic Polymorphism for nuclear ribosomal gene number in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* [MIRB.] FRANCO)." S. 79 - 84 in CHELIAK, W.M. & YAPA, A.C.: Molecular genetics of forest trees. Petawawa National Forestry Institute information report PI-X-80, 95 S.
- STRAUSS, S.H., NEALE, D.B. & WAGNER, D.B., 1989: Genetics of the chloroplast in conifers. J. For. 87: 11- 17.
- STRAUSS, S.H., DOERKSEN, A. H. & BYRNE, J.R., 1990: Evolutionary relationships of Douglas-fir and its relatives (genus *Pseudotsuga*) from DNA restriction fragment analysis. Can. J. Bot. 68: 1502 - 1510.
- STRAUSS, S.H., BOUSQUET, J., HIPKINS, V.D., & HONG, Y.-P., 1992: Biochemical and molecular genetic markers in biosystematic studies of forest trees. pp. 125- 158 in: Adams, W.T., Strauss, S.H., Copes, D.L. & Griffin, A.R., 1992: Population Genetics of Forest Trees. Kluwer Academic Publ., Dordrecht / London. 420 pp.
- STREHLKE, E.G., 1953: Ein deutscher Pionier der amerikanischen Forstwirtschaft: C.A. Schenck zum 85. Geburtstag. Forstarchiv 24: 86-87.
- STRICKBERGER, M.W., 1988: Genetik. Hanser, München / Wien, 843 S. Dt. Übers. von Strickberger, M.W.: Genetics, Macmillan Publishing Company, New York 1985.
- STRITTMATTER, W., 1974: Ökologische und biologische Studien an der Baumart Douglasie im Zusammenhang mit dem Auftreten von *Phaeocryptopus gäumanni* (ROHDE) PETR. Schriftenreihe d. LFV Baden-Württemberg, Band 43. Selbstverlag LFV, Stuttgart. 72 S.
- SUDWORTH, G.B., 1908: Forest Trees of the Pacific Slope. U.S. Department of Agriculture, Washington. 441 p.
- SUZUKI, D.T., GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H. & LEWONTIN, R.C., 1991: Genetik. VCH, Weinheim/ New York/ Basel/ Cambridge, 695 S. Original: An introduction to genetic analyses, W.H.Freeman and Co., New York. 4th ed. 1989.
- SZMIDT, A.E., 1991: Phylogenetic and applied studies on chloroplast genome in forest conifers. S. 185-196 in: Fineschi, S., Malvolti, M. E., Cannata, F. & Hattemer, H.H.: Biochemical Markers in Population Genetics of Forest Trees". SPB Academic Publishing bv, The Hague, 1991.
- SZMIDT, A.E. & YAZDANI, R., 1984: Electrophoretic studies of genetic polymorphism of shikimate and 6-phosphogluconate dehydrogenase in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Arbor. Kornickie, Band XXIX: 64-71.
- SZMIDT, A.E. & WANG, X.-R., 1991: "DNA-markers in forest genetics." S. 79-94 in: MÜLLER-STARCK, G. & ZIEHE, M., (eds.) 1991: Genetic Variation in European Populations of Forest Trees." J.D. Sauerländer's, Frankfurt a.M., 271 S.
- TANKSLEY, S.D., & KUEHN, G.D., 1985: Genetics, subcellular localisation, and molecular characterization of 6-Phospho-gluconate Dehydrogenase isozymes in Tomato. Biochem. Genet. 23: 441-451.
- TEUFFEL, K.v., & KASTRUP, M., 1998: Die Douglasie in Baden-Württemberg: Situation, waldbauliche Behandlung und Planung im öffentlichen Wald. AFZ53: 283-287.
- TIGERSTEDT, P.M.A., HILTUNEN, R., CHUNG, M.-S., and MORÉN, E., 1979: Inheritance and genetic variation of monoterpenes in *Pinus sylvestris* L. S. 29-39 in: Rudin, D. (ed.): "Biochemical Genetics of Forest Trees. Swedish University of Agricultural Sciences, Dep. of. Forest Genetics and Plant Physiology, Report 1, Umeå 1979, 201 S.
- TOMBACK, D. F., 1994: Effects of seed dispersal by Clark's Nutcracker on early postfire regeneration of whitebark pine. pp. 193-198 in: SCHMIDT, W.C. & HOLTMEIER, F.K., (eds.), 1994: Proceedings - International Workshop on Subalpine Stone pines and their environment: the status of our knowledge. St. Moritz 1992, Switzerland. USDA Intermountain Res. Station Ogden UT, Gen.Tech.Rep. INT-GTR-309. 321 p.
- TOMBACK, D. F. & LINHARD, Y. B., 1990: The evolution of bird dispersed pines. Evolutionary Ecology 4: 185-219.
- TSAI, Ch.-H. & STRAUSS, S.H., 1989: Dispersed repetitive sequences in the chloroplast genome of Douglas-fir. Curr. Genet. 16: 211-218.
- TSUKADA, M., 1982: *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO: Its pollen dispersal and late quaternary history in the Pacific Northwest. Japanese Journal of Ecology 32: 159-187.
- TURESSON, G., 1923: The scope and import of geneecology. Hereditas 4: 46-56.
- UNKRIG, W., 1988: Die Koniferen in Südoregon und Nordkalifornien. Forstarchiv 59: 139-144.
- VANDERPOOL, S.S., WAYNE, J.E. and ESTES, J.R., 1991: Pattern, tempo, and mode of evolutionary and biogeographic divergence in *Oxystylis* and *Wislizenia* (*Capparaceae*). Am. J. Bot. 78 (7): 925-937.
- VANDER WALL, S.B., 1990: Food hoarding in animals. The University of Chicago Press, Chicago / London.
- VANDER WALL, S.B. & BALDA, R. P., 1981: Ecology and evolution of food storage behaviour in conifer-seed-caching Corvids. Zeitschrift für Tierpsychologie 56: 217-242.
- VIDAKOVIC, M., 1991: Conifers: morphology and variation. 2. Aufl. Grafitcki Zavod Hravatske. 754 S.
- VOGEL, F., 1993: Unabsehbarer Gebrauch menschlicher Gene - Die Patentierung von Lebewesen. Dt. Ärztebl. 90 (24): c-1166 - c-1169.
- VOLK, H., & SCHLENSTEDT, J., 1991: Rote Listen und Forstwirtschaft. Der Wald - kein sicherer Schutz für gefährdete Pflanzen? Forst u. Holz 46: 687-693.
- VOLK, H., 1998: Beiträge für eine neue Naturschutzbewertung der Auewälder am Oberrhein. Forstw. Cbl. 117: 298-304.
- VORNAM, B., 1992: Analyse genetischer Strukturen in Buchenpopulationen mittels DNA- und Isoenzym- Markern. S. 31-41 in: Landesanstalt für Forstwirtschaft (Hrsg.), 1992: Biochemische Untersuchungen zur Genetik von Waldbaumpopulationen. 92 S.
- VORNAM, B., 1993: Genmarker als Entscheidungshilfen für die Genkonservierung: III. RFLPs als Genmarker für die Ausweisung forstlicher Genressourcen." AFJZ 164 (9/10): 186-190.
- WAGNER, B. & PETERS, S., 1993: Festkolloquium zu Ehren von Prof. Dr. Sachse: Fremdländeranbau in deutschen Wäldern. AFZ 48: 526-530.

- WANG, X.-R., SHEN, X.-H. & SZMIDT, A.E., 1991: The choice of allozyme markers for studies in conifer seed orchards: the case of *Pinus tabulaeformis* Carr". In: Fineschi, S., Malvolti, M.E., Cannata, F. & Hattemer, H.H., 1991: Biochemical Markers in Population Genetics of Forest Trees. SPB Academic Publishing bv, The Hague. S.173-184.
- WEBBER, J.E., 1987: Increasing seed yield and genetic efficiency in Douglas-fir seed orchards through pollen management. *For. Ecol. Management* 19: 209-218.
- WEBER, E., 1978: *Mathematische Grundlagen der Genetik*. 2. Aufl. (1. Aufl. 1967), Gustav Fischer, Jena. 515 S.
- WEEDEN, N.F. & GOTTLIEB, L.D. 1980: The genetics of chloroplast enzymes. *Journal Heredity* 71: 392-396.
- WEEDEN, N.F. & WENDEL, J.F. 1990: Genetics of plant isozymes. PP. 46-72 in: SOLTIS, D.E. & SOLTIS, P.S., (eds), 1990: *Isozymes in Plant Biology*. London, Chapman & Hall. 258 pp.
- WEGENER, H.-J., 1996: Gadow an der Westprignitz und seine Douglasien. *Forst u. Holz* 51: 609-611.
- WEIDENBACH, P., 1988: Die Waldbaurichtlinien in Baden-Württemberg. *AFJZ* 159: 141-145.
- WEIDENBACH, P., SCHMIDT, J. & KARIUS, K., 1989: Waldbauliche Ziele und Forsteinrichtungsergebnisse im öffentlichen Wald in Baden Württemberg. Schriftenreihe der Landesforstverw. Bad.-Württ. Bnd. 69. Selbstverlag LFV, Stuttgart. 203 S.
- WEIHS, U., 1996: Struktur- und Wachstumsanalyse einer übershirmten Douglasien-Fichten-Naturverjüngung im Forstamt Rheinhausen. *Forst u. Holz* 51: 221-227.
- WEINREICH, A., 1988: Untersuchungen über das Auftreten von Schäden durch Schnee, Sturm, Dürre und biotische Schädlinge anhand der Aufzeichnungen von zufälligen Nutzungen im Staatswald des Forstbezirkes Ottenhöfen." Unveröff. Diplomarbeit, Universität Freiburg, Inst. f. Waldwachstumskunde.
- WENDEL, J.F., GOODMAN, M.M., STUBER, C.W., & BECKETT, J.B. 1988: New isozyme systems for Maize (*Zea mays* L.): Aconitate hydratase, Adenylate kinase, NADH dehydrogenase, and Shikimate dehydrogenase". *Biochem. Genet.* 26: 421-445.
- WENDEL, J.F. & PARKS, C.R., 1982: Genetic control of isozyme variation in *Camelia japonica* L. *Journal Heredity* 73: 197-204.
- WENDEL, J.F. & WEEDEN, N.F., 1990: Visualization and interpretation of plant isozymes. PP. 5-45 in: SOLTIS, D.E. & SOLTIS, P.S., (eds), 1990: *Isozymes in Plant Biology*. London, Chapman & Hall. 258 pp.
- WERTH, Ch.R., KHIDIR, H., LANGNER, C.A. & VANCE BAIRD, Wm., 1993: Duplicate gene expression for Isocitrate dehydrogenase and 6-Phosphogluconate dehydrogenase in diploid species of Eleusine (*Gramineae*). *Am.J.Bot.* 80: 705-710.
- WESTERMEIER, R., SCHICKLE, H. THESELING, G. UND WALTER, W.W., 1988: Densitometrie von Gelektrophoresen -Theorie und Praxis. *GIT Labor-Medizin* (4): 194-202.
- WESTFALL, R.D. & CONKLE, M.T., 1992: Allozyme markers in breeding zone designation. *New Forests* 6: 279-309.
- WHEELER, N.C. & GURIES, R.P., 1982: Biogeography of lodgepole pine. *Can. J. Bot.* 60: 1805-1814.
- WHITE, T.L. & CHING, K.K., 1985: Provenance study of Douglas-fir in the Pacific northwest region IV. Field performance at age 25 years. *Silvae Genetica* 34: 84-90.
- WIGHTMAN, F. & FOREST, J.C., 1978: Properties of plant Aminotransferases. *Phytochemistry* 17: 1455-1471.
- WILLIAMS, B.L., & WILSON, K., 1984: *Methoden der Biochemie*. 2 Aufl.; Thieme, Stuttgart/ New York, 365 S. Loc. cit. S.104 und 176-178.
- WILLIAMSON, J.H., KROCHKO, D. and GEER, B.W., 1980: 6-Phosphogluconate Dehydrogenase from *Drosophila melanogaster*. I. Purification and Properties of the A Isozyme. *Biochem. Genetics*, 18: 87-101.
- WILSON, B. C., 1990: Gene-pool reserves of Douglas-fir. *Forest Ecol. Management* 35: 121-130.
- WIJSMAN, H.J.W., 1983: *Petunia*. In: Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds.), 1983: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Vol. 1B, 3rd impression (1989), Elsevier, Amsterdam/ New York. S. 229-252.
- WOODS, J.H. & HEAMAN, J.C., 1989: Effect of different inbreeding levels on filled seed production in Douglas-fir. *Can. J. For. Res.* 19: 54-59.
- WRIGHT, S., 1965: The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- WRIGHT, J.W., KUNG, F.H., READ, R.A., LEMMIEN, W.A. & BRIGHT, J.N., 1971: Genetic variation in Rocky Mountain Douglas-fir. *Silvae Genetica* 20: 54-60.
- YANG, J.-Ch., CHING, T.M. & CHING, K.K., 1977: Isoenzyme variation of coastal Douglas-fir: I. A study of geographic variation in three enzyme systems. *Silvae Genetica* 26: 10-18.
- YANG R.-C., & YEH, F.C., 1992: Genetic consequences of *in situ* and *ex situ* conservation of forest trees. *Forst.Chron.* 68: 720-729.
- YAZDANI, R., MUONA, O., RUDIN, D. & SZMIDT, A.E., 1985: Genetic structure of a *Pinus sylvestris* L. seed tree stand and naturally regenerated understory. *For.Sc.* 31: 430-436.
- YEH, F.Ch.-H., & O'MALLEY, D., 1980: Enzyme variations in natural populations of Douglas-fir, *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO, from British Columbia. I. Genetic variation patterns in coastal populations." *Silvae Genetica* 29: 83-92.
- YEH, F.C. & MORGAN, K., 1987: Mating system and multilocus associations in a natural population of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *TAG* 73: 799-808.
- YEH, F.C., YANG, R.-C., BOYLE, T.B., YE, Z-H & MAO, J.X., 1997: POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
- YOUNG, J. A. & YOUNG, Ch. G., 1992: *Seeds of woody plants in North America*. Dioscorides Press, Portland (OR). 407 p.
- ZAVARIN, E., 1970: Qualitative and quantitative co-occurrence of terpenoids as a tool for elucidation of their biosyntheses. *Phytochemistry* 9: 1049-1063.
- ZAVARIN, E. & SNAJBERK, K. 1965: Chemotaxonomy of the genus *Abies* - I. Survey of the terpenes present in the *Abies* balsams. *Phytochemistry* 4: 141-148.
- ZAVARIN, E. & SNAJBERK, K. 1973: Geographic variability of monoterpenes from cortex of *Pseudotsuga menziesii*. *Pure and Applied Chemistry* 34: 411-434.

- ZAVARIN, E. & SNAJBERK, K. 1975: *Pseudotsuga menziesii* chemical races of California and Oregon. Biochem.Syst. and Ecology 2: 121-130.
- ZAVARIN, E. & SNAJBERK, K. 1976: Geographic Differentiation of Cortical Monoterpenoids of *Pseudotsuga macrocarpa*. Biochem. Syst. and Ecology 4: 93-96.
- ZIEGLER, H. 1991: Physiologie. S. 239-471 in: STRASBURGER, E. (Begr.): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 33. Aufl. 1991. Gustav Fischer, Stuttgart / New York. 1032 S.

Anhang A.I

Abbildungen

Anhang

I.	Verzeichnis der Abbildungen	245
A.I-1	Lage der 104 Stichproben aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie für die Studie an Isozym- Genmarkern von Li & Adams (1989)	246
A.I-2a	Bestand B03: Skizze - Lage der beprobten Bäume	247
A.I-2b	Bestand B03: Lage des Bestandes auf der Forstkarte 1:10.000	248
A.I-2c	Bestand B03: Lage auf der dt. Grundkarte Staufen	249
A.I-3	Densitogramme des Enzymsystemes GOT	250
A.I-4a	Densitogramme der Enzymsysteme LAP und ENP	251
A.I-4b	Densitogramme der Enzymsysteme LAP und ENP	252
A.I-5	Durchschnittliche Jahresniederschläge in Nordamerika	253
A.I-6	Durchschnittliche jährliche Anzahl von Nebeltagen in Nordamerika	254
A.I-7	Durchschnittliche Häufigkeit von kalt-nasser Witterung in Nordamerika	255
A.I-8	Durchschnittliche Dauer frostfreier Perioden in Nordamerika	256
A.I-9	Durchschnittliche globale Solarstrahlung an der Erdoberfläche in Nordamerika für den Monat Januar	257
A.I-10	Durchschnittliche globale Solarstrahlung an der Erdoberfläche in Nordamerika für den Monat Juli	258
A.I-11	Dendrogramm der Tschebyscheff-Clusterung auf der Basis von Häufigkeitswerten der Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte	259

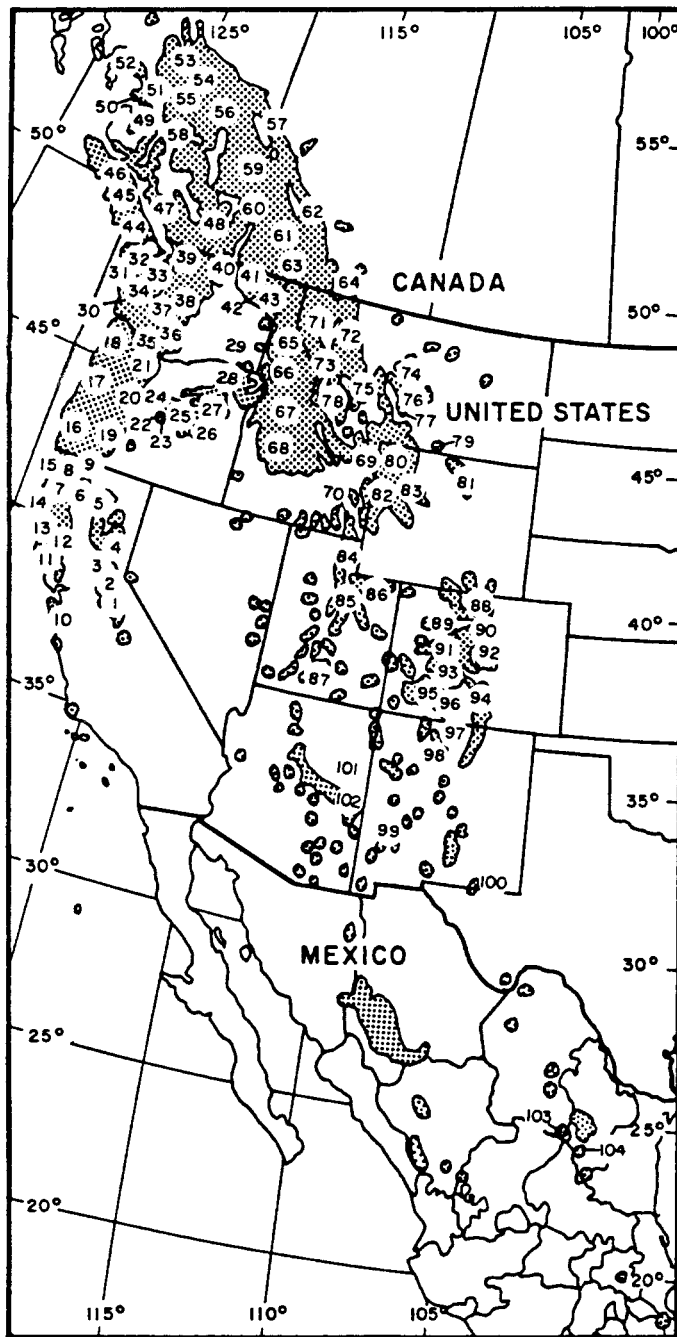


Abb. A.I-1: Lage der 104 Stichproben aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie für die Studie an Isozym-Genmarkern von LI & ADAMS (1989).

Die Daten der Enzymsysteme GOT, IDH, LAP und 6-Pgdh dieser Populationen werden in der vorliegenden Arbeit verwendet.
(Darstellung aus LI & ADAMS 1989: Fig. 1)

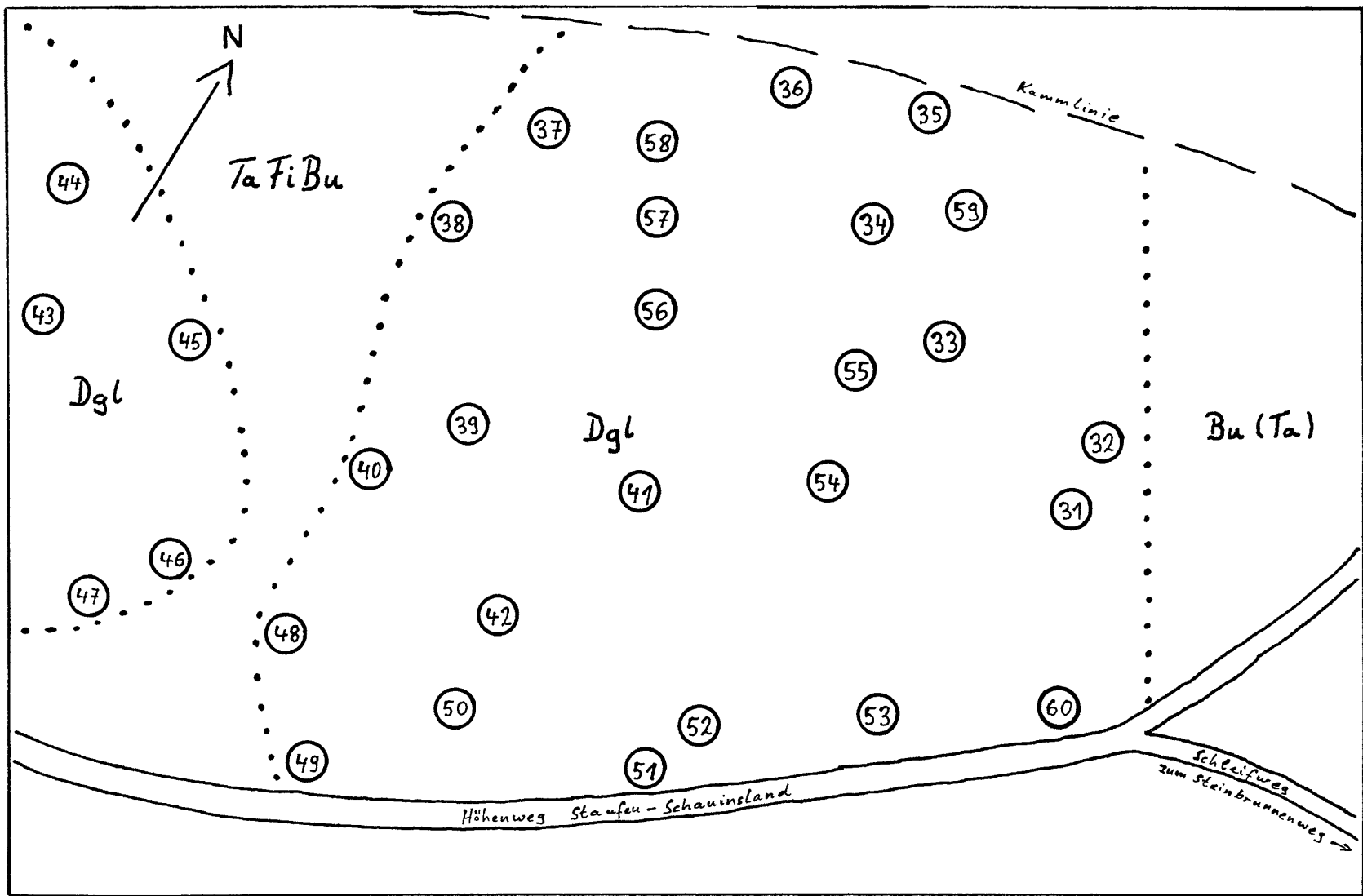


Abb. A.I-2a): Grobskizze von der Lage der beprobten Bäume im Bestand B03 (FA Staufen, Gwd Münstertal X.1)

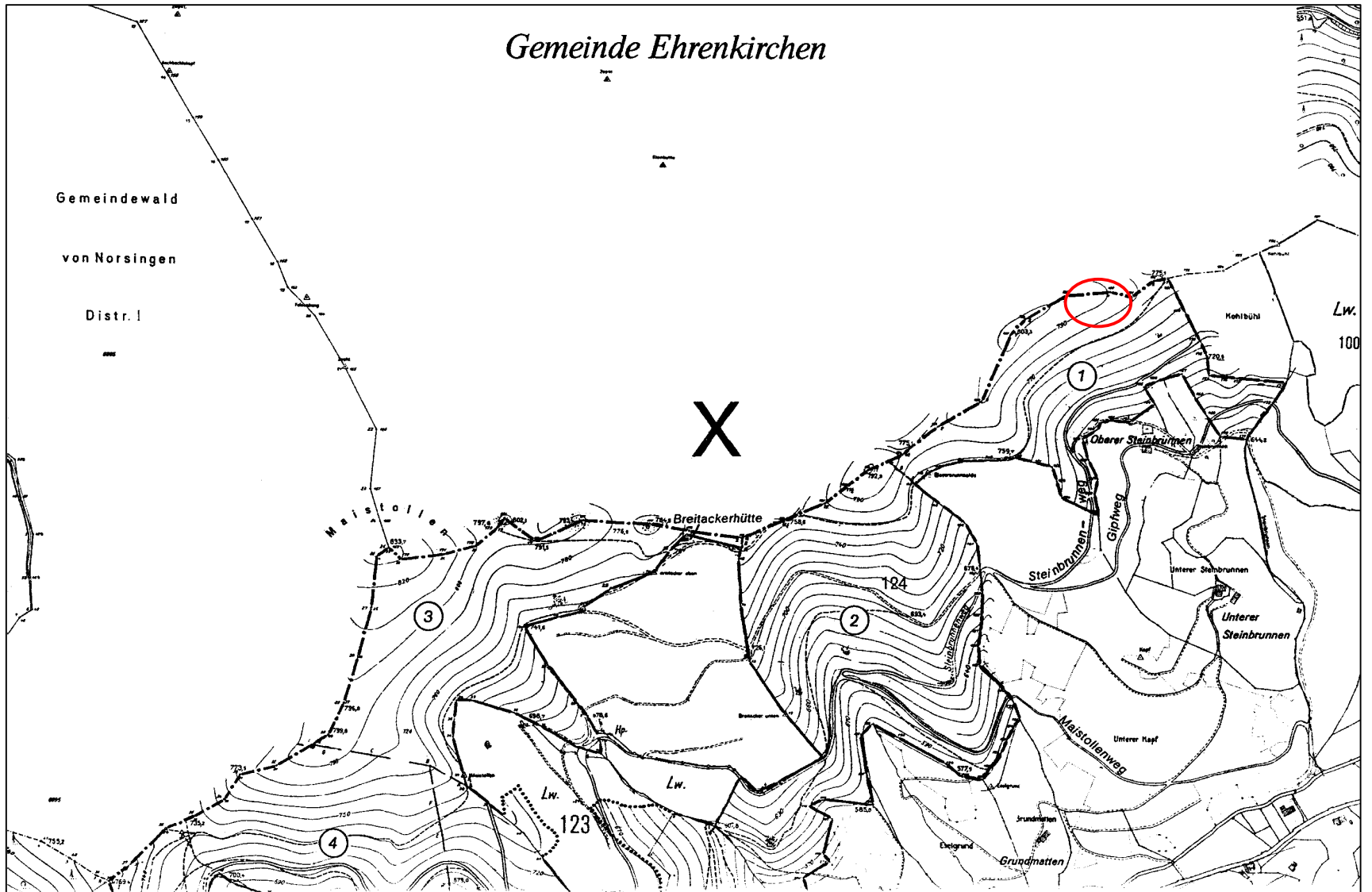


Abb. A.I-2b): Forstkarte (Ausschnitt; Maßstab 1:10.000) mit der Lage des untersuchten Bestandes B 03 im Gemeindewald-Distrikt

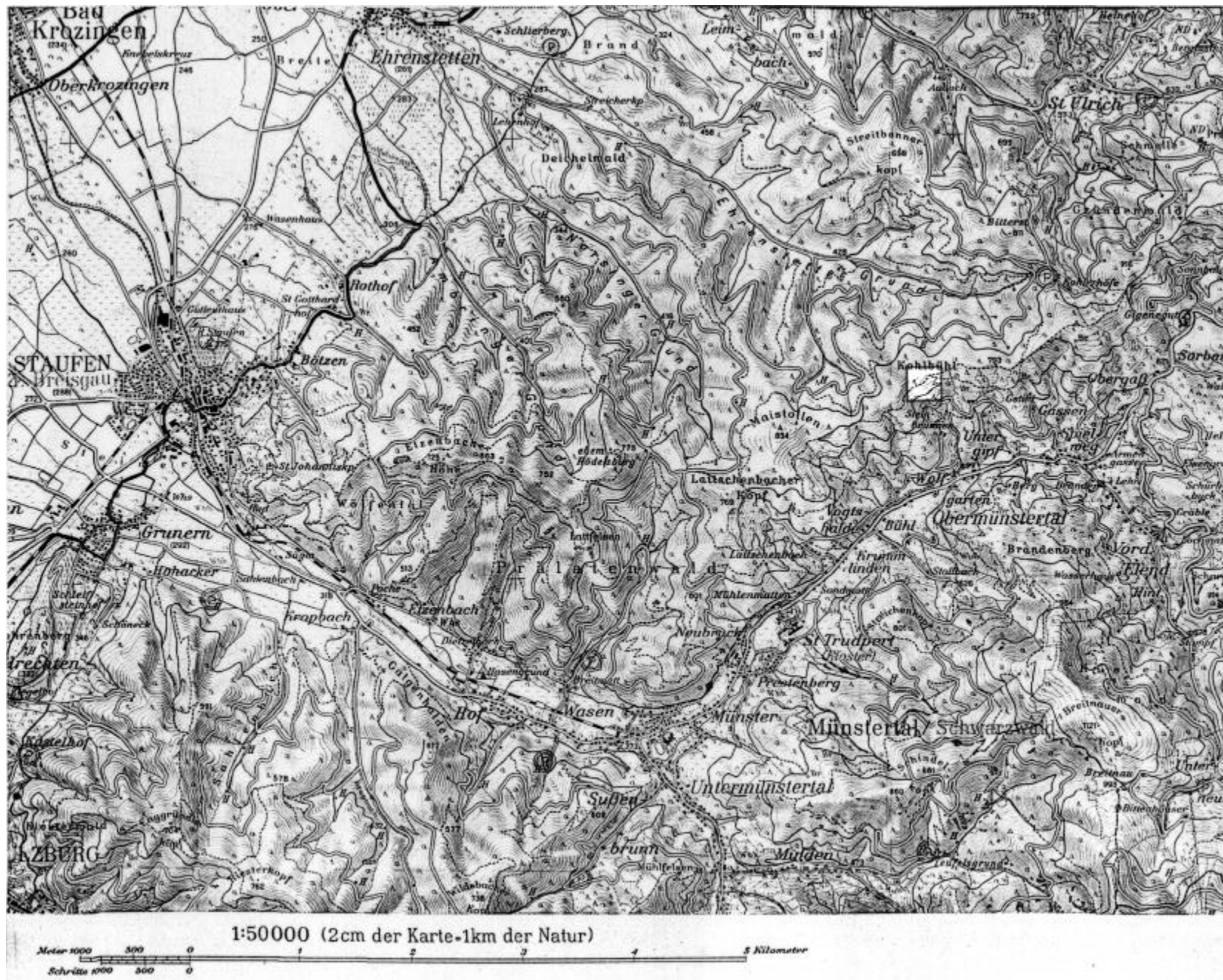


Abb. A.I.-2c): Geographische Karte (Ausschnitt; Maßstab 1:50.000) mit der Lage des untersuchten Bestandes B03 in der Landschaft.

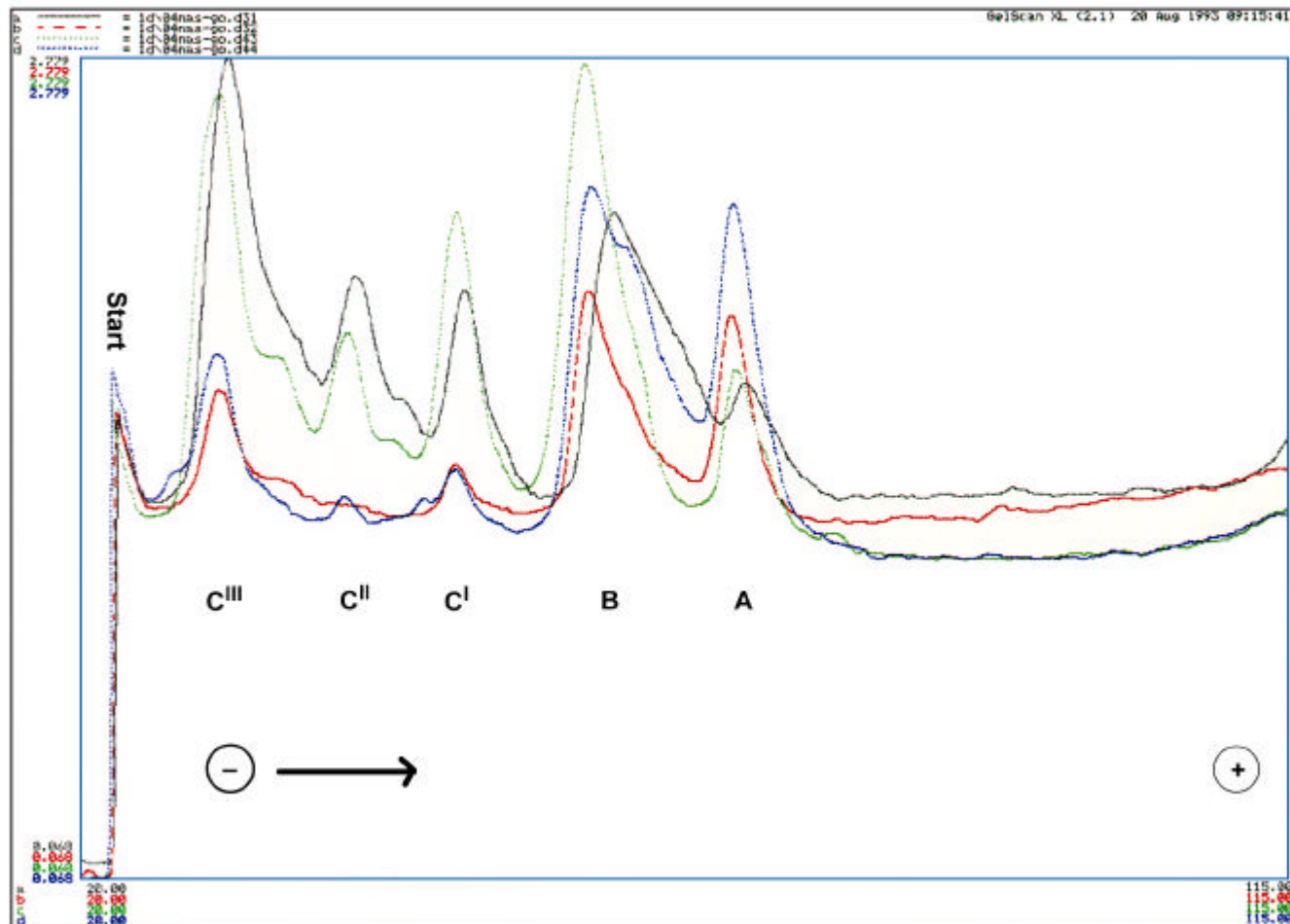


Abb. A.I-3: Densitogramme des Enzymsystemes GOT von 2 Gewebepaarungen (Makrogametophyt / Embryo) der Populationen S05 (Spur 31,32) und S04 (Spur 43,44).

Erläuterungen:

Die zu den einzelnen Genorten bzw. deren Teilzonen gehörenden Peaks sind mit Buchstaben in Laufrichtung der Elektrophorese eingetragen. Ungerade Spurnummern bezeichnen Makrogametophytengewebe (hier: schwarze und grüne Linie), gerade Spurnummern bezeichnen Embryogewebe (hier: rote und blaue Linie). Die Radicula - Länge der Embryonen betrug 0,5 bzw. 1,4 cm.

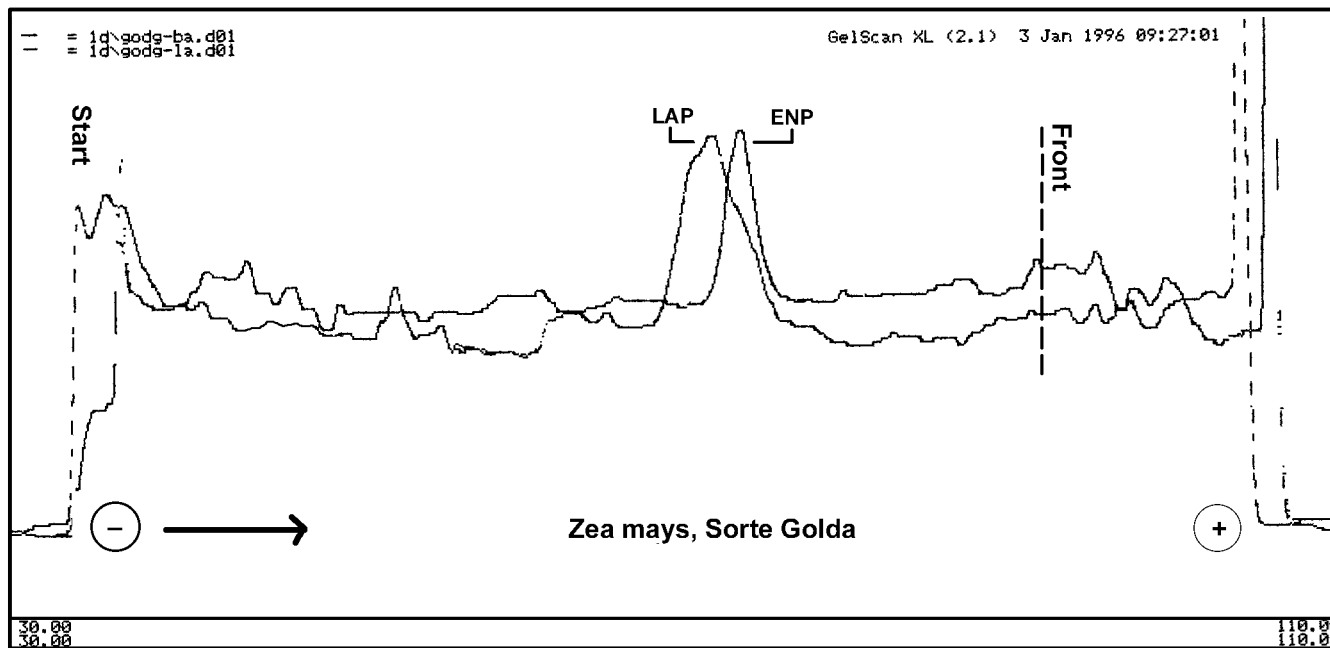


Abb. A.I-4a: Densitogramme der Enzymsysteme Leucin-Aminopeptidase (LAP) und Endopeptidase (ENP) eines Makrogametophyten / Embryogewebegemisches von *Zea mays* L., Sorte Golda

Erläuterungen:

Elektrophoreselauf vom 13.05.1991. Die Auftrennung erfolgte im gleichen Gelblock wie die Douglasienpräparate (Abb. A.I-4b).

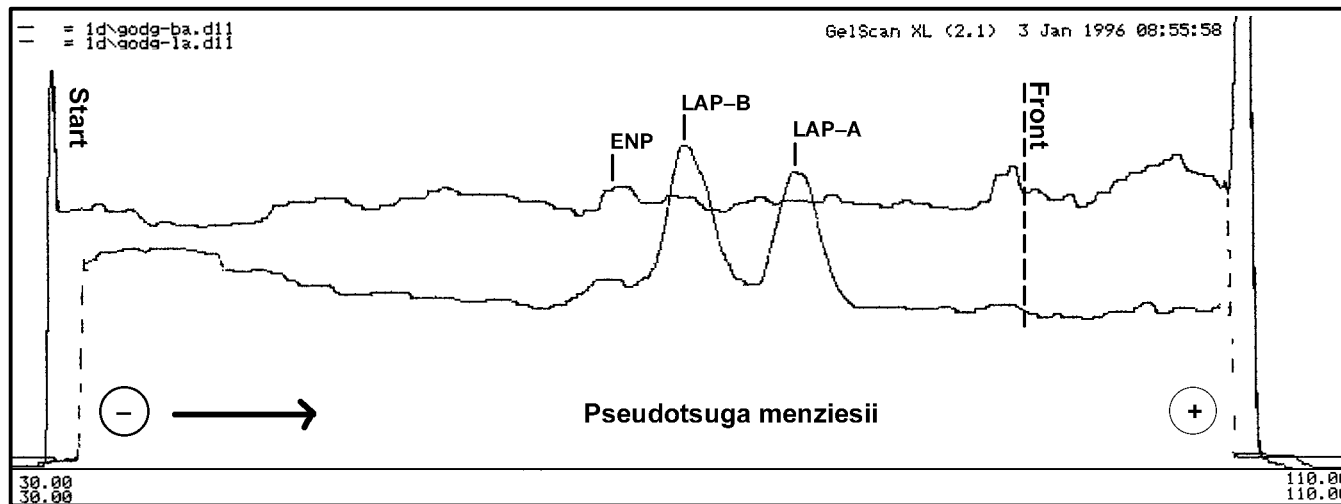


Abb. A.I-4b: Densitogramme der Enzymsysteme Leucin-Aminopeptidase (LAP) und Endopeptidase (ENP) aus Makrogametophyten von *Pseudotsuga menziesii*, Bestand B06, Samen vom Baum Nr. 24

Erläuterungen:

Elektrophoreselauf vom 13.05.1991. Die Auftrennung erfolgte im gleichen Gelblock wie die Maispräparate (Abb. A.I-4a).

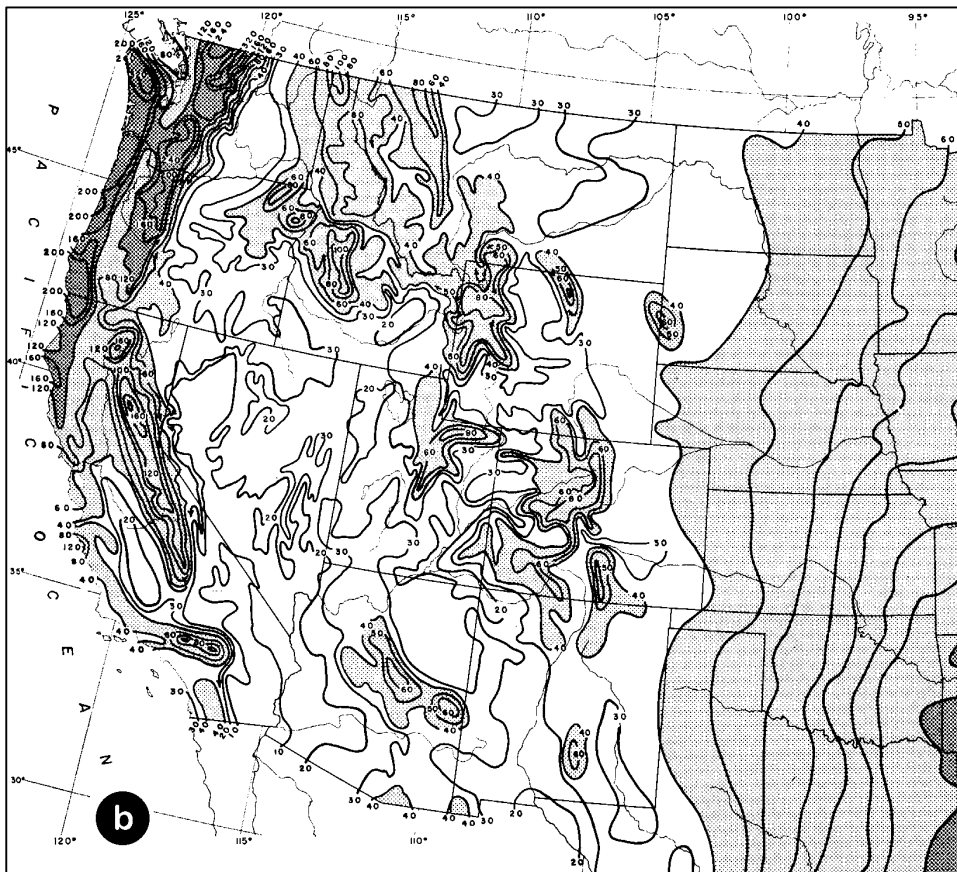
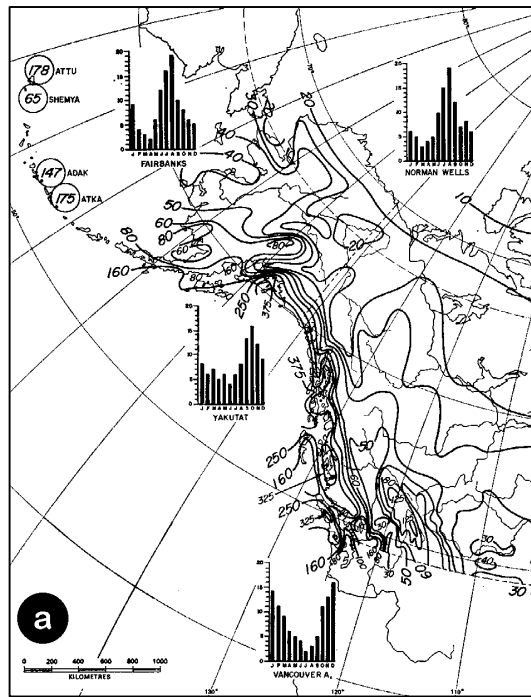


Abb. A.I-5: Durchschnittliche Jahresniederschläge in Nordamerika

Angaben in cm.

Aus: HARE & HAY 1974 (a) und COURT 1974 (b), verändert.

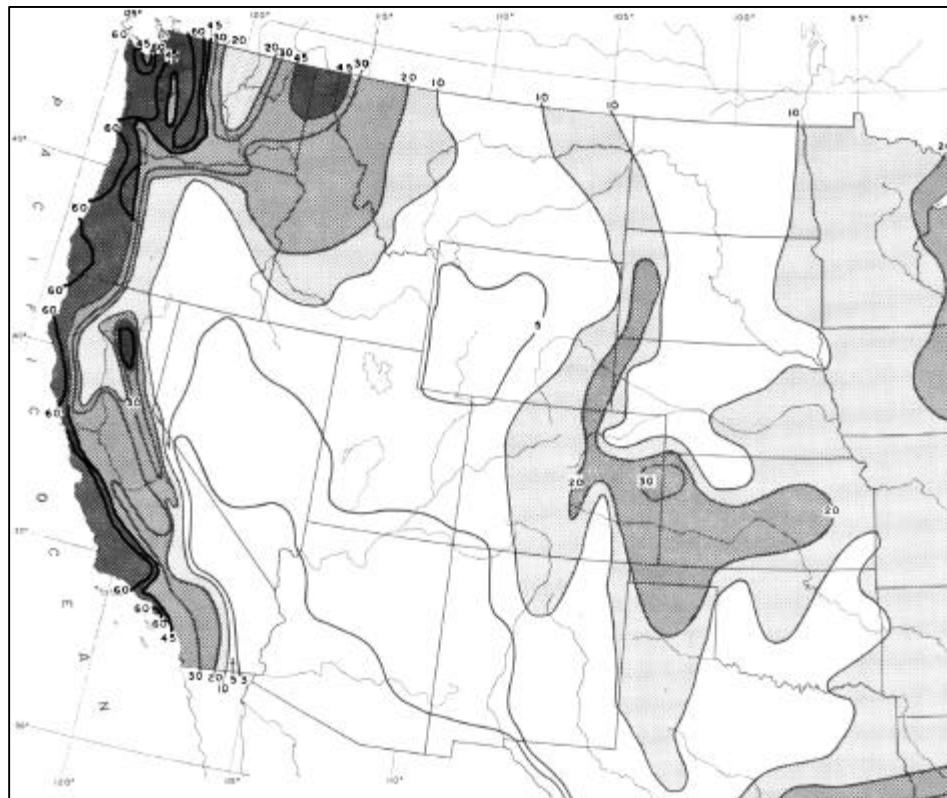


Abb. A.I-6: Durchschnittliche jährliche Anzahl von Nebeltagen in Nordamerika

Angaben: Sichtweite unter 300m.

Aus: COURT 1974, verändert.

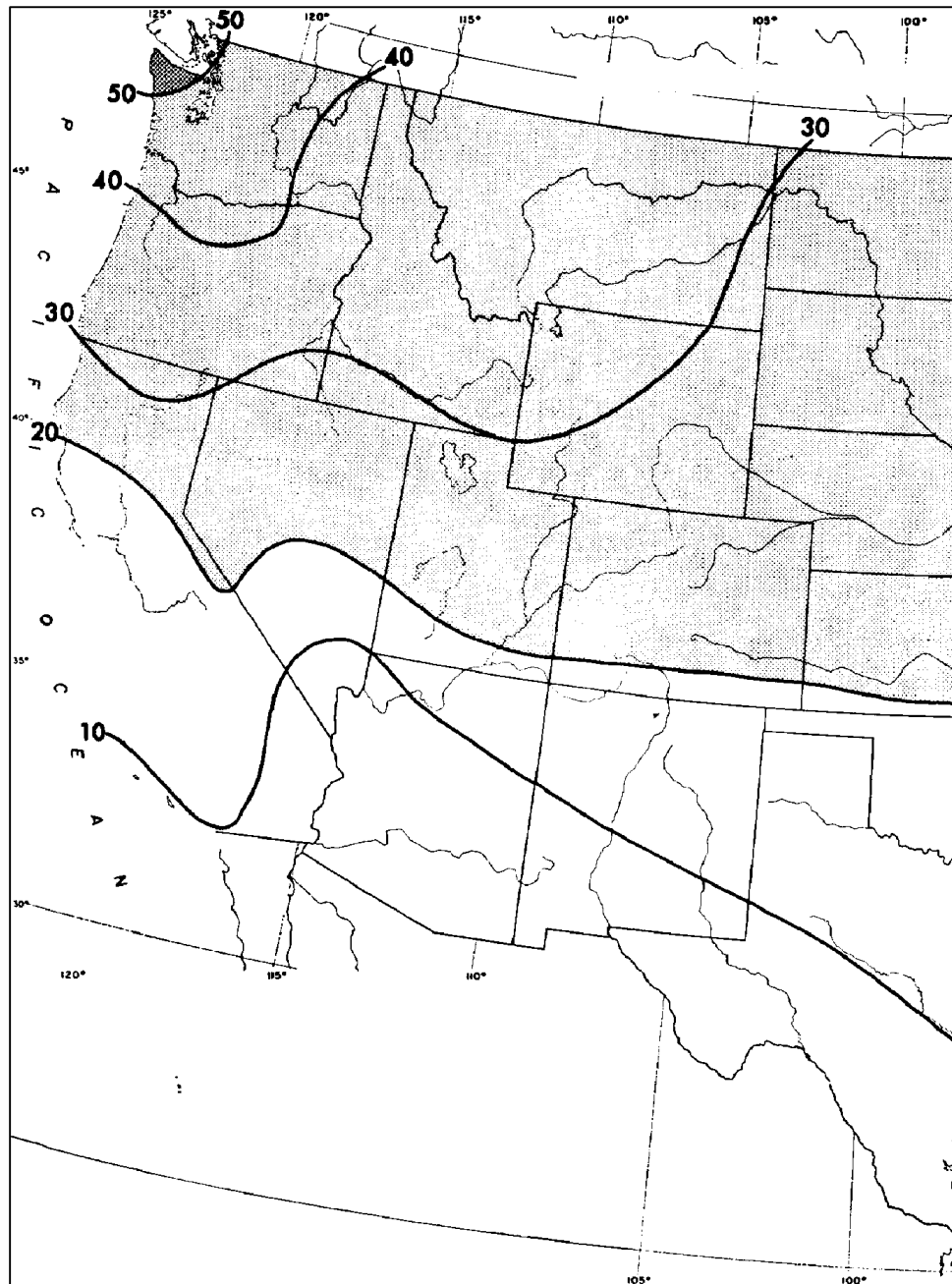


Abb. A.I-7: Durchschnittliche jährliche Häufigkeit von kalt-nasser Witterung in Nordamerika

Angaben: Durchschnittliches Prozent pro Monat.

Aus: COURT 1974, verändert.

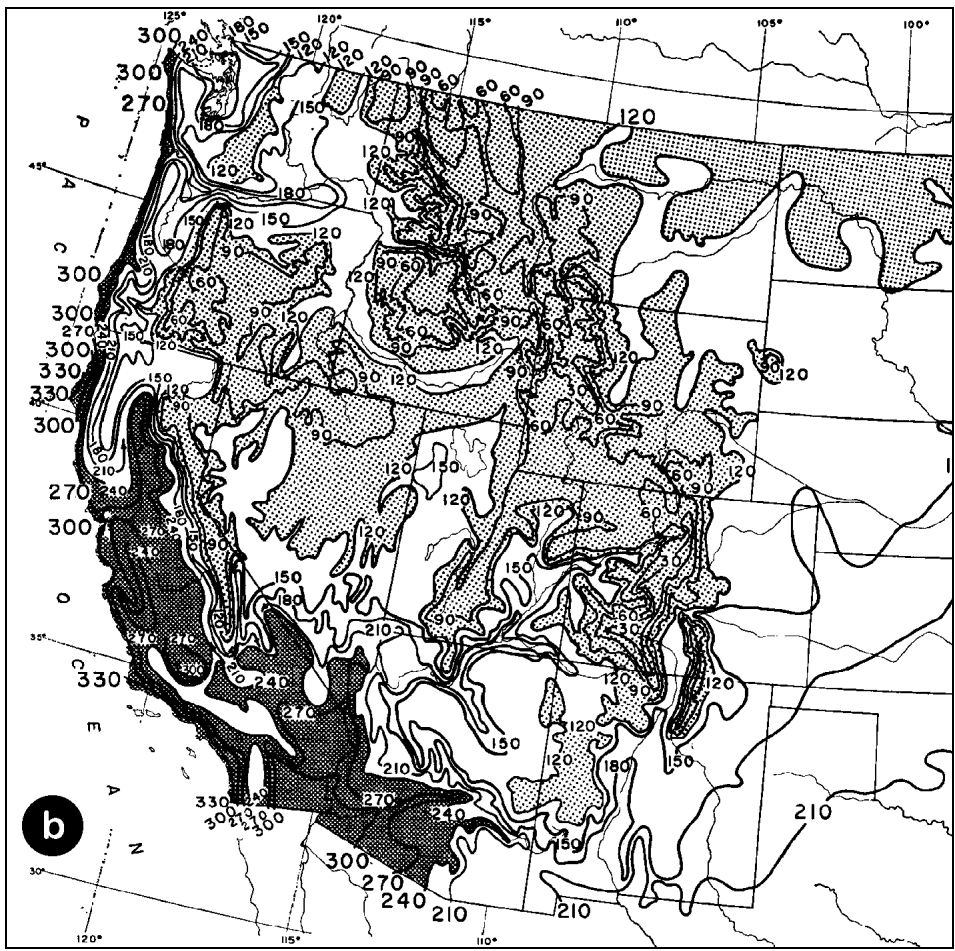
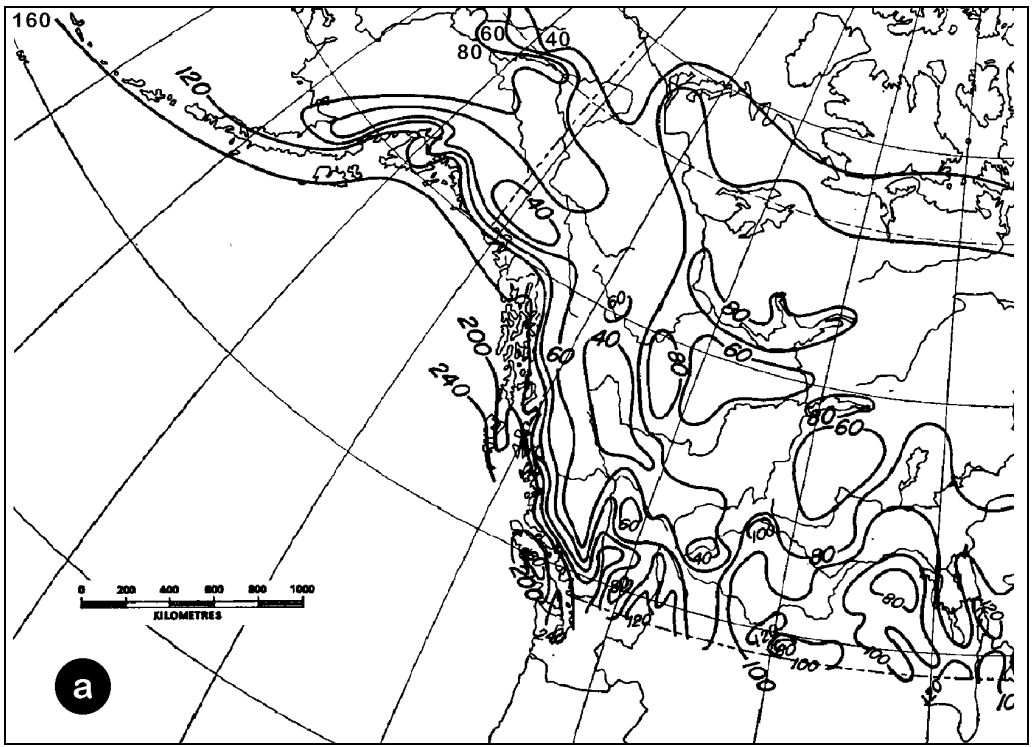


Abb. A.I-8: Durchschnittliche Dauer frostfreier Perioden in Nordamerika.
 Angaben in Tagen. Aus: HARE & HAY 1974 (a) und Court 1974 (b), verändert.

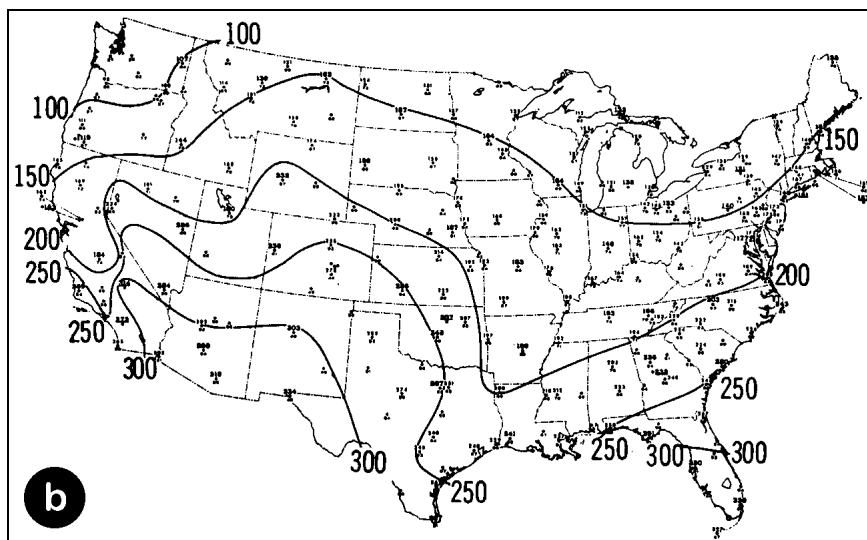
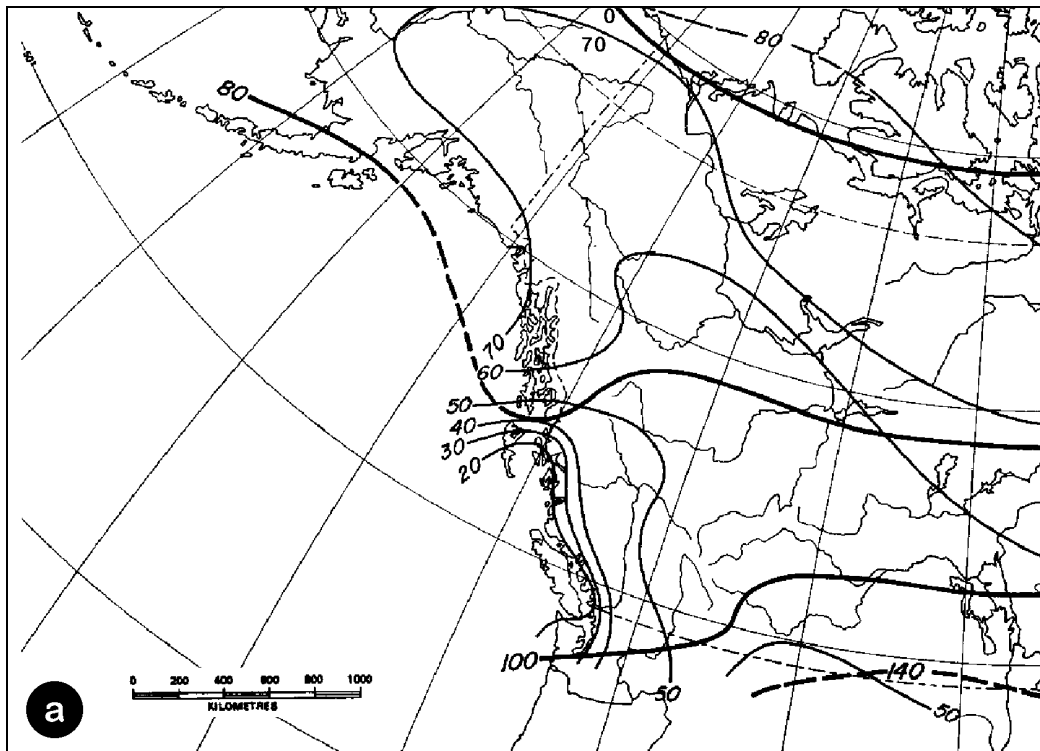


Abb. A.I-9: Durchschnittliche globale Solarstrahlung an der Erdoberfläche in Nordamerika für den Monat Januar.

Angaben in ly / Tag .

Aus: HARE & HAY 1974 (a; dünne Kurven: Oberflächen Albedo) und COURT 1974 (b), verändert.

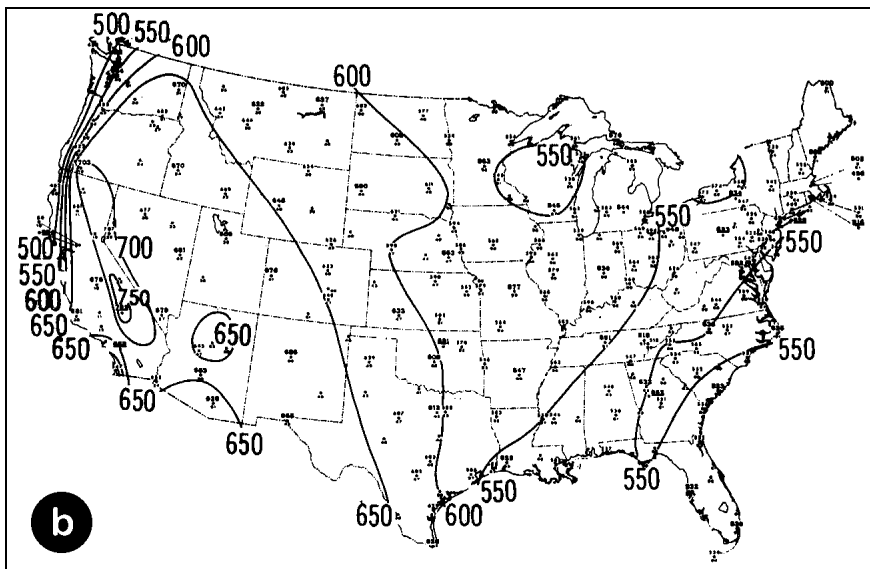
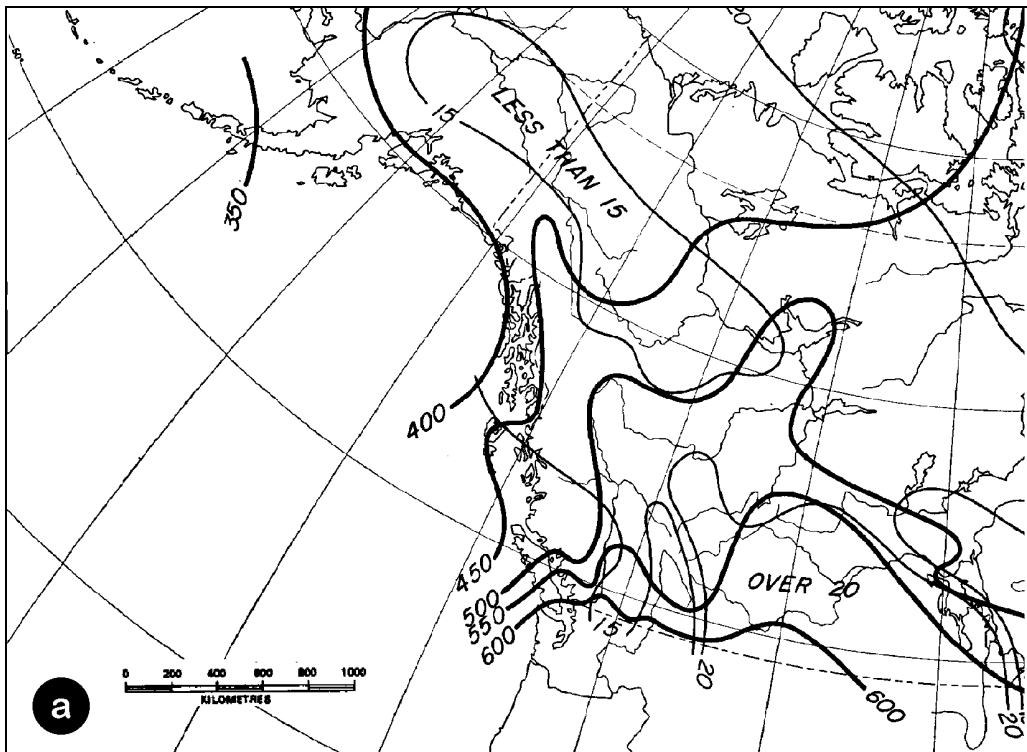


Abb. A.I-10: Durchschnittliche globale Solarstrahlung an der Erdoberfläche in Nordamerika für den Monat Juli.

Angaben in ly / Tag.

Aus: HARE & HAY 1974 (a; dünne Kurven: Oberflächen Albedo) und COURT 1974 (b), verändert.

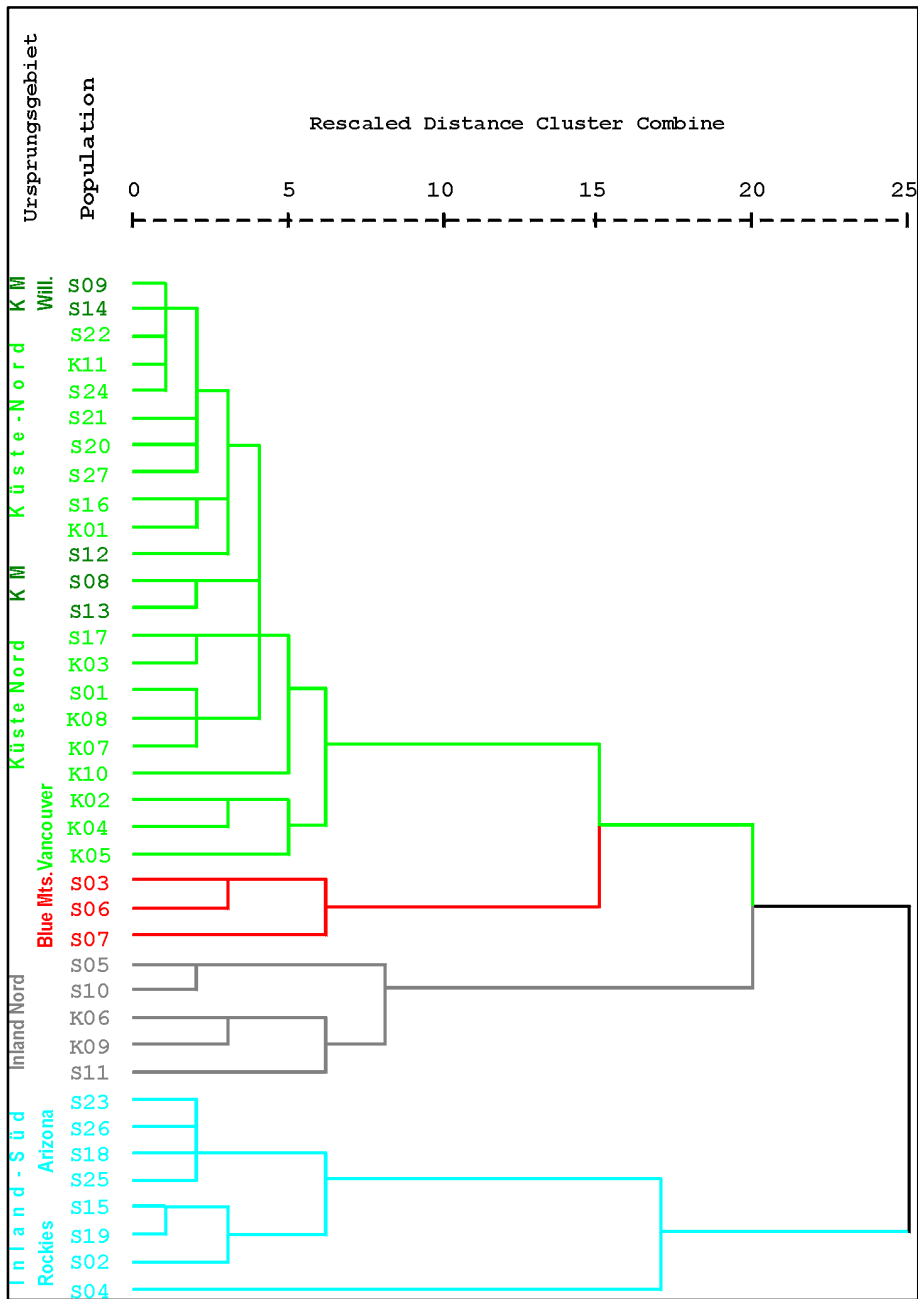


Abb. A.I-11: Dendrogramm der Tschebyscheff-Clustering auf der Basis von Häufigkeitswerten der Determinanten einzelner Populationsvektoren über 8 Genorte

Erläuterungen: Nr. S01-S27 Handelsaatgut;

Nr. K01-K11 Versuchsangebauten in Baden-Württemberg

Anhang A.II

Tabellen

Anhang

II.	Verzeichnis der Tabellen	262
A.II-1	Datenblatt zur Knospenmorphologie (Bsp. B04)	263
A.II-2a/b	Knospenmorphologie, Basisdaten	264
A.II-3a/d	Enzymaktivität (Laserextinktion) an Teilzonen des Genortes GOT-C (Allel Nr. 4) in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand (Radikellänge) bei Douglasienkeimlingen	266
A.II-4a/b	Allelische Strukturen der über Handelssaatgut repräsentierten Provenienzen	270
A.II-5a/b	Allelische Strukturen der über Knospengewebeproben aus baden –württembergerischen Versuchsanbauten repräsentierten Populationen	272
A.II-6	Allelische Strukturen der über Knospengewebeproben repräsentierten Altdouglasienbestände	274
A.II-7	Allelische Strukturen von Teilkollektiven des Bestandes B03 (Münstertal X, 1)	275
A.II-8	Allelische Strukturen von Teilkollektiven des Bestandes B06 (Heidelberg I, 25)	276
A.II-9	Ausprägung der hyp.gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saat- Gutproben bzw. in einem Provenienzversuch aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie.	277
A.II-10	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B3 am Genort GOT-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	278
A.II-11	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles Nr.5 am Genort IDH für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	279
A.II-12	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles A2 am Genort AMP-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	280
A.II-13a	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles A4 am Genort 6PGDH-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	281
A.II-13b	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles AX am Genort 6PGDH-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	282
A.II-14a	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B1 am Genort SKDH-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	283
A.II-14b	Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B3 am Genort SKDH-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von <i>Pseudotsuga menziesii</i> : Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare	284
A.II-15	Verfahrensbedingte Unterschiede allelischer Strukturen am Genlocus 6-PGDH-A	285
A.II-16	Matrix der Genpool-Abstände	286
A.II-17	Subpopulationsdifferenzierung bei der Douglasie	287
A.II-18a/b	Test über Zugehörigkeit zum nördlichen Küstenökotyp (KN) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj	288

Tabelle A.II-1: Datenblatt zur Knospenmorphologie (Beispiel: Untersuchungsnr. B04)

MORPHOLOGISCHE MERKMALE														Ernte: 1990	
Baumart Douglasie														Dissertation: R. Klumpp	
														Bestand / Population: Freiburg I, 3 (Probe B04)	
BNr	Knospenform			Knospenfarbe				Knospenoberfläche				Nadelfarbe			Bemerkungen
	kegel- förmig	eiförmig spitz	(eif.-) gedrungen	hell- braun	h.rot- braun	braun	dunkel braun	glän- zend	ausge- franst	tw.be- reift	bereift	grün	grau	blau	
1	x					x					x			x	
2			x			x					x		x		
3	x				x			x					x		Schütte, Laus, Schuppen l. z.gb
4	x				x			x				x			wenig Schütte
5	x				x			x				x			
6		x			x						x			x	etwas Schütte
7	x						x	x				x			
8			x		x			x					x		
9	x				x			x				x			
10	x				x			x					x		
11		x					x	x						x	starke Schütte, Laus
12		x				x				x			x		
13	x				x			x				x			
14		x			x			x				x			
15	x				x			x				x			
16		x				x					x			x	
17		x		X						x		x			
18		x				x								x	Schuppen z. T. zurückgeschl.
19	x			x					x			x			
20	x				x							x			
21		x			x			x					x		Schütte
22		x				x				x		x			Schütte, Laus
23		x			x			x				x			
24	x				x			x				x			
25	x				x			x				x			
26	x				x			x				x			
27	x				x									x	Schuppen zurück
28	x				x					x		x			
29		x				x				x			x		Schütte
30	x					x					x	x			Schütte
15b	x				x			x				x			Schuppen leicht zurück
Σ	18	11	2	2	19	8	2	17	1	5	5	18	7	6	

Tab. A.II-2a: Knospenmorphologie von Vergleichsprovenienzen, angezogen in Baden-Württemberg
(zur Bezeichnung vgl. Kap. 3.1.1.)

Provenienz		Anzahl	Knospenform			Knospenfarbe			
			kegelförmig	eiförmig- spitz	gedrungen	hellbraun	hellrot- braun	braun	dunkel-braun
A) Nördliche Inlandsdouglasie	K06	30	7	14	9	0	1	11	18
	K09	27	4	9	14	0	6	9	12
	K03	30	2	9	19	0	22	0	8
B) British Columbia	K02	30	5	25	0	0	13	0	17
	K04	30	4	24	2	0	7	0	23
	K05	30	9	21	0	0	5	0	25
C) Washington	K08	30	12	17	1	0	5	25	0
	K11	36	6	27	3	0	1	35	0
	K10	32	2	30	0	0	1	31	0
	K01	30	23	7	0	0	17	3	10
	K07	38	14	24	0	0	33	5	0

Tab. A.II-2b: Knospenmorphologie badischer Altbestände
(zur Bezeichnung vgl. Kap. 3.1.1.)

Bestand	Anzahl	Knospenform			Knospenfarbe			
		kegelförmig	eiförmig-spitz	gedrungen	hellbraun	h.rotbraun	braun	dunkelbraun
Britzingen XVIII, 9	30	21	4	5	0	24	6	0
Freiburg I, 3	31	18	11	2	2	19	8	2
Freiburg V, 15	33	17	14	2	0	18	11	4
Kandern I, 3	30	11	16	3	3	23	2	2
Münstertal X, 1	30	14	11	5	1	22	7	0
Sulzburg I, 24	30	7	17	6	0	23	1	6
Heidelberg I, 25	30	4	15	11	0	4	16	10

Tab. A.II-3a)

**Enzymaktivität (Laserextinktion) an Teilzonen des Genortes
GOT-C (Allel Nr. 4) in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand
(Radikellänge) bei Douglasienskeimlingen.**

Probe: S04	Entwick- lung	Enzymaktivität						
Analyse-Nr.	Radikel- länge [cm]	Gewebe	Makrogametophyt			Embryo		
		Zone	C ^I	C ^{II}	C ^{III}	C ^I	C ^{II}	C ^{III}
b-31/32	0,7		0,357	0,371	1,099	0,320	0,182	0,611
b-33/34			0,575	0,626	1,463	0,291	0,109	0,611
b-35/36			0,454	0,454	1,334	0,222	0,129	0,643
a-37/38			0,725	0,625	1,551	0,394	0,201	0,941
a-39/40			0,193	0,262	1,312	0,327	0,207	0,925
c-61/62	0,8		0,735	0,588	1,867	0,233	0,112	1,037
c-63/64			0,251	0,216	1,279	0,406	0,164	0,812
a-68/69	1,1		0,758	0,430	1,224	0,357	0,950	0,634
a-23/24	1,3		0,754	0,521	1,185	0,377	0,165	0,630
a-25/26			0,650	0,673	1,446	0,375	0,169	0,750
a-27/28			0,842	0,719	1,492	0,352	0,215	0,689
a-29/30			1,007	0,810	1,703	0,499	0,175	0,630
a-41/42	1,4		0,773	0,813	1,690	0,327	0,207	0,821
a-43/44			1,124	0,718	1,515	0,662	0,204	0,289
b-72/73	1,6		0,833	0,628	1,327	0,317	0,120	0,600
b-74/75			0,727	0,310	1,423	0,268	0,070	0,600
b-76/77			0,628	0,745	1,311	0,364	0,240	0,799
a-15/16	1,8		0,997	0,755	1,261	0,484	0,214	0,556
a-21/22			0,568	0,617	1,151	0,296	0,110	0,514
a-09/10	2,1		0,935	0,872	1,260	0,471	0,228	0,623
a-11/12			0,754	0,644	1,156	0,401	0,304	0,692
a-13/14			0,805	0,798	1,325	0,370	0,150	0,556
b-49/50			0,826	0,385	1,218	0,342	0,107	0,648
b-51/52			0,755	0,656	1,432	0,442	0,231	0,833
b-53/54			0,625	0,558	1,488	0,335	0,134	0,752
a-05/06	2,2		0,964	0,888	1,784	0,397	0,219	0,710
a-07/08			0,871	0,778	1,234	0,338	0,216	0,524
b-55/56	2,4		1,034	0,558	1,540	0,379	0,087	0,735
b-57/58			1,011	0,671	1,764	0,269	0,182	0,592
b-59/60			1,098	0,647	1,429	0,574	0,241	0,901
a-01/02	2,5		0,837	0,605	1,233	0,419	0,163	0,713
a-03/04			0,900	0,760	1,520	0,465	0,194	0,620
c-78/79			0,721	0,481	1,761	0,326	0,194	0,846
c-80/81			0,719	0,550	1,196	0,350	0,163	0,640
c-82/83			0,737	0,773	1,015	0,332	0,362	0,592
c-84/85			0,750	0,810	1,363	0,348	0,121	0,628
c-88/89	3,0		0,864	0,558	1,033	0,212	0,476	0,412
c-90/91			0,740	0,476	1,033	0,276	0,153	0,552

Tab. A.II-3b):

**Enzymaktivität (Laserextinktion) an Teilzonen des Genortes
GOT-C (Allel Nr.4) in Abhängigkeit von Entwicklungszustand
(Radikellänge) bei Douglasienkeimlingen**

Probe: S05 Analyse Nr.	Entwick- lung Radikel- länge	Enzymaktivität						
		Gewebe: Zone:	Embryo			Makrogametophyt		
			C ^I	C ^{II}	C ^{III}	C ^I	C ^{II}	C ^{III}
-31/32	0,5		0,689	0,745	1,448	0,203	0,084	0,449
-33/34 -35/36	0,7		0,456 0,407	0,421 0,421	1,277 1,256	0,351 0,285	0,196 0,154	0,961 0,741
-27/28 -29/30 -37/38 -39/40	0,8		0,370 0,276 0,603 0,702	0,248 0,271 0,745 0,495	0,659 0,562 1,151 0,945	0,248 0,190 0,312 0,439	0,043 - 0,176 0,242	0,365 0,276 0,603 0,664
-41/42 -43/44 -45/46	0,9		0,219 0,219 0,550	0,253 0,353 0,409	0,664 0,746 0,673	0,129 0,202 0,235	0,079 0,190 0,061	0,489 0,482 0,353
-62/63 -64/65 -66/67 -67/68 -69/70	1,0		0,850 0,609 0,779 0,555 0,688	0,609 0,368 0,809 0,454 0,368	1,225 1,258 1,486 0,851 0,858	0,361 0,314 0,554 0,267 0,202	0,147 0,087 0,219 0,159 0,160	0,555 0,629 0,705 0,332 0,277
-47/48 -48/50	1,2		0,346 0,283	0,257 0,219	0,814 0,683	0,175 0,175	0,060 0,056	0,366 0,261
-17/18 -19/20 -21/22 -23/24 -25/26 -73/74 -75/76 -77/78 -79/80	1,5		0,539 0,197 0,442 0,742 0,631 0,369 0,638 0,398 0,627	0,446 0,168 0,564 0,447 0,520 0,375 0,638 0,271 0,579	0,701 0,411 0,831 0,686 0,825 0,812 1,232 0,420 0,887	0,272 0,226 0,389 0,360 0,265 0,188 0,432 0,398 0,228	0,121 0,098 0,308 0,075 0,081 0,294 0,244 0,154 0,121	0,400 0,347 0,575 0,366 0,420 0,463 0,607 0,520 0,446
-81/82 -83/84 -85/86	1,7		0,558 0,661 0,394	0,501 0,551 0,443	0,595 0,689 0,722	0,201 0,375 0,144	0,003 0,098 0,101	0,281 0,342 0,390
-51/52 -53/54 -55/56 -57/58 -59/60	1,8		0,524 0,494 0,312 0,462 0,352	0,512 0,448 0,342 0,150 0,314	0,774 0,774 0,841 0,613 0,667	0,349 0,140 0,192 0,144 0,157	0,116 0,012 - 0,012 0,022	0,553 0,256 0,222 0,252 0,255
-7/8 -9/10 -11/12 -13/14 -15/16	1,9		0,584 0,559 0,744 0,498 0,431	0,564 0,256 0,709 0,447 0,392	0,733 0,464 0,923 0,705 0,677	0,376 0,322 0,423 0,274 0,246	0,211 0,066 0,274 0,094 0,134	0,447 0,268 0,470 0,330 0,369
-87/88 -89/90	2,1		0,645 0,488	0,645 0,401	0,741 0,806	0,452 0,226	0,168 0,103	0,443 0,396

Tab. A.II-3c):

**Enzymaktivität (Laserextinktion) an Teilzonen des Genortes
GOT-C (Allel Nr. 4) in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand
(Radikellänge) bei Douglasienkeimlingen.**

Probe S03 Analyse Nr.	Entwick- lung:	Enzymaktivität						
	Radikellänge	Gewebe	Makrogametophyt			Embryo		
	[cm]	Zone	C ^I	C ^{II}	C ^{III}	C ^I	C ^{II}	C ^{III}
a-01/02 a-03/04 a-05/06	0,0 (gequollen)		0,159 0,302 0,366	0,077 0,077 0,201	0,581 0,811 0,857	0,099 0,165 0,284	0,017 0,017 0,098	0,340 0,466 0,573
a-07/08 a-09/10	0,6		0,341 0,463	0,289 0,376	0,733 0,702	0,155 0,208	0,046 0,111	0,312 0,320
a-11/12 a-13/14 a-15/16 a-17/18	1,2		0,702 0,283 0,334 0,504	0,611 0,390 0,532 0,476	0,896 0,781 0,843 0,692	0,380 0,096 0,175 0,194	0,264 0,062 0,096 0,088	0,539 0,413 0,396 0,349
a-19/20 a-21/22 a-23/24	1,7		0,476 0,418 0,456	0,554 0,628 0,488	0,891 0,821 0,778	0,164 0,156 0,216	0,133 0,118 0,086	0,432 0,386 0,386

Tab. A.II-3d):

**Enzymaktivität (Laserextinktion) an Teilzonen des Genortes
GOT-C (Allel Nr. 4) in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand
(Radikellänge) bei Douglasienkeimlingen.**

Probe: S08 Analyse Nr.	Entwick- lung Radikel- länge[cm]	Enzymaktivität						
		Gewebe Zone	Makrogametophyt			Embryo		
			C ^I	C ^{II}	C ^{III}	C ^I	C ^{II}	C ^{III}
a-03/04 a-05/06 a-09/10	0,3		0,341	0,173	0,669	0,155	0,128	0,264
			0,537	0,482	0,723	0,228	0,146	0,391
			0,383	0,327	0,930	0,196	0,117	0,299
c-61/62 c-63/64 c-67/68	0,4		0,735	0,544	0,931	0,291	0,112	0,409
			0,745	0,443	1,048	0,269	0,033	0,291
			0,744	0,447	0,968	0,246	0,049	0,322
b-31/32 b-35/36 b-37/38 b-39/40	0,5		0,609	0,485	0,777	0,226	0,038	0,259
			0,753	0,633	0,873	0,370	0,221	0,451
			0,545	0,404	0,636	0,218	0,118	0,332
			0,577	0,445	0,804	0,332	0,177	0,441
b-11/12 b-13/14	0,6		0,882	0,685	1,080	0,426	0,223	0,543
			0,674	0,451	0,923	0,223	0,102	0,380
a-19/20 a-21/22 a-23/24 a-25/26 b-41/42 b-43/44 b-45/46 b-47/48 b-49/50 c-69/70 c-71/72 c-73/74	1,0		0,811	0,517	0,916	0,344	0,104	0,251
			0,901	0,672	0,931	0,413	0,179	0,400
			0,641	0,524	1,154	0,301	0,156	0,496
			0,970	0,842	1,248	0,418	0,218	0,636
			0,869	0,725	0,891	0,341	0,224	0,368
			0,773	0,475	0,571	0,192	0,096	0,315
			0,437	0,432	0,745	0,149	0,026	0,247
			0,842	0,688	0,950	0,493	0,277	0,560
			0,650	0,356	0,696	0,220	0,037	0,293
			0,722	0,454	0,968	0,279	0,071	0,364
			0,741	0,470	1,078	0,332	0,110	0,536
			0,763	0,569	0,918	0,365	0,166	0,398
a-27/28 a-29/30	1,5		0,541	0,546	0,787	0,377	0,174	0,401
			0,782	0,492	0,570	0,386	0,140	0,227
c-81/82	2,0		1,071	0,544	0,840	0,264	0,048	0,237
c-85/86 c-87/88 c-89/90	2,2		1,044	0,710	0,888	0,301	0,156	0,339
			0,911	0,504	0,657	0,412	0,132	0,321
			0,672	0,468	0,911	0,326	0,122	0,417
b-51/52 b-53/54 b-55/56 b-57/58 b-59/60	2,6		0,807	0,482	0,775	0,341	0,115	0,414
			0,874	0,519	0,831	0,360	0,169	0,450
			0,927	0,664	1,038	0,318	0,175	0,408
			0,974	0,619	0,801	0,335	0,198	0,436
			0,761	0,588	0,825	0,269	0,172	0,467

Tab. A.II-4a: Allelische Strukturen der über Handelssaatgut repräsentierten Provenienzen

Provenienz	Enzym-Genloci																			
	GOT-A			GOT-B				GOT-C					IDH							
	Allel																			
	1	2	3	1	2	3	4	2	3	4	5	Null	1	3	4	5	6	7	8	Null
KN 16		.989	.011	.033	.122	.822	.022	.100		.867	.033			.100		.867		.011	.011	
17	.011	.989		.011	.044	.922	.022	.056		.944				.056		.944				
20		1.000			.056	.877	.067	.078		.911	.011			.222	.011	.767				
21		1.000		.011	.122	.833	.033	.056		.944				.111		.867				.022
22	.011	.989		.011	.067	.900	.022			1.000				.089		.844				.078
24		1.000			.033	.933	.033	.056		.933	.011			.111	.044	.822				.022
27		1.000		.011	.067	.900	.022	.011		.967	.022			.011	.133	.011	.744	.011		.089
KM 08		1.000		.056	.044	.856	.044	.067		.889	.044			.167	.022	.756		.011	.033	.011
09		1.000			.055	.889	.055	.078		.911	.011			.133		.833		.011	.022	
12		1.000		.011	.133	.800	.056	.078	.022	.856	.044			.233	.022	.744				
13		1.000		.056	.133	.778	.033	.033		.967				.256		.722		.011	.011	
14		1.000		.022	.033	.922	.022	.033		.933	.033			.111	.011	.856		.011	.011	
KS 01		1.000		.022	.044	.933		.089		.911				.100		.878	.011		.011	
IS 02		1.000			.114	.886				.864	.136			.011		.989				
04		1.000			.167	.833				.878	.122					1.000				
15		1.000			.033	.967				.956	.044					1.000				
18		.989	.011		.044	.956				.878	.122					1.000				
19		1.000		.022	.044	.933				.856	.144					1.000				
23		1.000		.022	.089	.889				.967	.033					1.000				
25		1.000			.011	.989				.944	.056			.011		.989				
26		1.000		.022	.022	.956			.011	.889	.100			.033		.967				
IN 05	.011	.989				.933	.067			1.000						1.000				
10	.056	.944		.133	.022	.844				1.000						.967			.011	.022
11	.111	.889		.055	.067	.856	.022	.011		.989				.022		.978				
Ü 03		1.000			.011	.889	.100	.011		.989				.033		.967				
06		1.000				1.000				1.000						1.000				
07		1.000			.056	.944		.011		.989				.011		.989				

Tab. A.II-4b: Allelische Strukturen der über Handelssaatgut repräsentierten Provenienzen

Provenienz	Enzym-Genloci																							
	AMP-A					AMP-C						6-PGDH-1						SKDH-B						
	Allel																							
	1	2	3	4	Null	1	2	3	4	5	Null	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	Null	
KN 16	.300	.256	.400	.011	.033	.011	.033	.922	.022		.011		.033		.900		.067	.100		.878		.011	.011	
17	.522	.222	.200	.022	.033	.011	.033	.922	.011		.011		.011		.911		.078	.089		.867		.033	.011	
20	.456	.144	.344		.056		.078	.911	.011			.011	.022		.856		.111	.056		.900		.044		
21	.322	.167	.477		.033		.056	.900	.033		.011		.011		.978		.011	.089		.878		.033		
22	.267	.189	.511	.011	.022	.033	.044	.867	.056				.033		.967			.111		.856		.033		
24	.322	.233	.344	.078	.022	.022	.078	.844	.056				.022		.956		.022	.100		.889	.011			
27	.356	.211	.411	.011	.011	.067	.056	.856	.022				.056		.933		.011	.089		.844	.067			
KM 08	.356	.311	.333			.022	.122	.822	.033				.011		.922		.067	.178		.811			.011	
09	.456	.211	.289		.044	.011	.067	.911	.011					.033	.911		.056	.100		.811	.044	.033	.011	
12	.378	.322	.267		.033	.022	.067	.889	.022						.911		.089	.067		.867	.044	.022		
13	.211	.333	.322		.133	.011	.011	.978							.933		.067	.255		.667		.067	.011	
14	.489	.200	.256		.055	.011	.044	.933	.011				.033		.911		.056	.133	.011	.789		.067		
KS 01	.356	.333	.266	.033	.011	.011	.056	.900	.033				.022		.900		.078	.256		.678	.011	.055		
IS 02		.932			.068		.011	.989							.625		.375	.795		.068		.125	.011	
04		1.000						1.000							.278	.056	.666	.867	.089	.033			.011	
15		1.000						1.000					.033		.722		.244	.811	.067	.122				
18		.978			.022			1.000							.956		.044	.911		.067		.011	.011	
19		.989			.011			1.000					.011		.778		.211	.833		.144			.022	
23		.978			.022		.022	.967		.011					.867	.011	.122	.978		.022				
25		1.000						1.000							.978		.022	1.000						
26		.956	.011		.033	.011		.989					.011		.889		.100	.944		.056				
IN 05	.044	.867	.044		.044			.956	.011	.033				.011	.222		.767	.022		.911	.022	.011	.033	
10	.089	.856	.056				.011	.989							.211	.022	.767			.822		.033	.144	
11	.167	.622	.167		.044	.011	.078	.867	.044			.011	.022	.011	.311	.011	.633	.033		.889	.022	.011	.044	
Ü 03	.044	.056	.756	.033	.111		.011	.900	.089					.022	.356		.622	.033		.878		.067	.022	
06	.044	.044	.556	.122	.233	.011		.911	.078						.356	.011	.633			.900	.022	.067	.011	
07	.133		.778	.011	.078			.778	.200	.022					.567		.433	.011		.744	.078	.144	.022	

Tab. A.II-5a:

Allelische Strukturen der über Knospengewebeproben aus baden-württembergischen

Versuchsanbauten repräsentierten Populationen

Provenienz	Enzym-Genloci																		
	GOT-A			GOT-B				GOT-C				IDH							
	Allel																		
	1	2	3	1	2	3	4	2	3	4	5	1	3	4	5	6	7	8	Null
Campbell																			
K02		1.000		.300		.700				1.000			.033		.867				.100
K03		1.000		.050		.950		.033		.967			.067		.933				
K04		1.000		.033	.233	.733				.967	.033		.117		.766				.117
Küste N																			
K01	.033	.967		.100	.050	.783	.067	.017		.983			.100		.817				.083
K05		1.000		.100		.850	.050			1.000			.167	.033	.733				.067
K07		1.000		.118		.855	.026	.105		.855	.040		.105		.895				
K08		1.000		.067		.933		.050		.917	.033		.100		.900				
K10		1.000		.172		.812	.016	.047		.953			.078		.906			.016	
K11		1.000		.042		.930	.028	.042		.944	.014		.194		.806				
Inland N																			
K06	.017	.983				1.000		.017		.983					1.000				
K09	.019	.981				1.000		.056		.926	.019		.037		.963				

Tab. A.II-5b:

Allelische Strukturen der über Knospengewebeproben aus baden-württembergischen

Versuchsanbauten repräsentierten Populationen

Provenienz	Enzym-Genloci																							
	AMP-A					AMP-C						6-PGDH-A						SKDH-B						
	Allel																							
	1	2	3	4	Null	1	2	3	4	5	Null	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	Null	
Campbell																								
K02	.333	.083	.517	.067			.150	.850						.950	.050			.117	.816		.067			
K03	.367	.133	.267	.233		.067	.050	.783	.100					.883	.117			.017	.916		.067			
K04	.467	.133	.400				.083	.867	.050					.967	.033			.033	.967					
Küste N																								
K01	.483	.283	.133	.100		.067	.133	.800						.967	.033			.117	.866		.017			
K05	.267	.100	.583	.050		.067	.017	.867	.050					.983	.017			.217	.783					
K07	.368	.316	.184	.132		.013	.092	.842	.053			.013		.921	.066			.263	.724		.013			
K08	.350	.317	.317	.016		.033	.167	.767	.033			.050		.933	.017			.183	.800		.017			
K10	.297	.391	.234	.078		.016		.922	.031	.031		.016		.953	.031			.047	.922		.031			
K11	.556	.222	.139	.056	.028	.028	.042	.903	.028					.958	.042			.139	.778	.014	.069			
Inland N																								
K06	.183	.767	.050				.150	.767	.083					.450	.550			.083	.783		.133			
K09	.167	.796	.037				.074	.889	.037					.556	.444				.833		.167			

Tab. A.II-6:

Allelische Strukturen der über Knospengewebeproben repräsentierten Altdouglasienbestände

Population	Enzym-Genloci																		
	GOT-A			GOT-B				GOT-C				IDH							
	Allel																		
	1	2	3	1	2	3	4	2	3	4	5	1	3	4	5	6	7	8	Null
B01	.017	.983		.083		.917		.067		.733	.200	.100		.866		.033			
B02		1.000		.067		.850	.083	.100		.850	.050	.250		.717	.033				
B03		1.000			.083	.917		.200		.767	.033	.133		.816	.017	.017	.017		
B04		1.000		.081		.871	.048	.016		.790	.194	.097		.887	.016				
B05		1.000		.067		.933		.067		.817	.117	.083	.017	.866		.017	.017		
B06		1.000			.117	.816	.067	.050		.933	.017	.150		.850					
B07		.983	.017	.083		.883	.033	.067		.850	.083	.167		.816				.017	

Population	Enzym-Genloci																						
	AMP-A					AMP-C						6-PGDH-A						SKDH-B					
	Allel																						
	1	2	3	4	Null	1	2	3	4	5	Null	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	Null
B01	.417	.250	.283	.050			.017	.967	.017			.033		.917	.050			.117		.833		.050	
B02	.433	.250	.217	.100		.050		.867	.017	.067		.033		.950	.017			.150		.750		.100	
B03	.100	.250	.200	.417	.033	.017	.017	.933	.033			.050		.933	.017			.033		.950	.017		
B04	.565	.210	.177	.048			.032	.903	.065			.065		.871	.065			.097		.871	.032		
B05	.217	.167	.267	.350		.033	.050	.867	.050			.033		.900	.067			.050		.933		.017	
B06	.283	.300	.283	.133		.033	.050	.900		.017				.950	.050			.033		.900		.067	
B07	.400	.217	.183	.200		.033	.067	.867	.017	.017				1.000				.117		.816		.067	

Tab. A.II-7:

Allelische Strukturen von Teilkollektiven des Bestandes B03 (Münstertal X, 1)

Genort	Allel Nr.	Bestandeskollektive		
		Ausgangs- Bestand	entnommene Glieder	verbleibender Bestand
GOT-A	2	1.000	1.000	1.000
GOT-B	1	.020	.053	0
	2	.051	0	.083
	3	.888	.842	.917
	4	.041	.105	0
GOT-C	2	.173	.132	.233
	3	0	0	0
	4	.806	.868	.767
	5	.020	0	.033
IDH	3	.194	.289	.133
	5	.776	.711	.817
	6	.010	0	.017
	7	.010	0	.017
	8	.010	0	.017
AMP-A	0	.020	0	.033
	1	.061	0	.100
	2	.541	1.000	.250
	3	.122	0	.200
	4	.255	0	.417
AMP-C	1	.010	0	.170
	2	.010	0	.170
	3	.959	1.000	.933
	4	.020	0	.033
6-PGDH-A	2	.041	.026	.050
	4	.908	.868	.933
	5	.020	.053	0
	6	.031	.053	.017
SKDH-B	1	.061	.105	.033
	3	.918	.868	.950
	4	.010	0	.017
	5	.010	.026	0
Stichprobengröße [Stück]		49	19	30

Tab. A.II-8:

**Allelische Strukturen von Demen des
Bestandes B06 (Heidelberg I.25)**

Genort	Allel Nr.	Bestandeskollektive			
		Ausgangs- Bestand	weibliche Eltern	Pollenpool	Sprenghmast 1990
GOT-A	2	1.000	1.000	1.000	1.000
GOT-B	1				
	2	.117	.112	.063	.087
a) (*)	3	.818	.888	.925	.906
b) (*)	4	.067		.012	.006
GOT-C	2	.050	.038	.038	.038
	3				
a) n.s.	4	.933	.962	.962	.962
b) n.s.	5	.017			
IDH	3	.150	.512	.113	.312
	5	.850	.488	.887	.688
a) n.s.	6				
b) *	7				
	8				
AMP-A	0				
	1	.283	.450	.500	.475
a) (**)	2	.300	.175	.225	.200
b) (***)	3	.283	.375	.275	.325
	4	.133			
AMP-C	1	.033		.038	.019
	2	.050	.013	.038	.025
a) n.s.	3	.900	.987	.924	.956
b) (n.s.)	4				
	5	.017			
6-PGDH-A	1			.012	.006
	2			.025	.013
a) n.s.	4	.950	.837	.838	.837
b) n.s.	6	.050	.163	.125	.144
SKDH-B	1	.033	.250	.088	.169
	3	.900	.750	.913	.831
a) (***)	4				
b) (***)	5	.067			
Stichprobengröße [Allele, Stück]		2x30	1x80	1x80	2x80

Erläuterungen: a) Test der Produktstruktur geordneter Genotypen (Zufallspaarung): G-Test
b) Homogenitätstest für die allelischen Strukturen von Ausgangsbestand und Nachkommenschaft 1990: χ^2 Test.
+ Signifikanzniveau: * - 0.050, ** - 0.010, *** - 0.001
+ Angaben in Klammern: Teststatistik eventuell beeinflusst, da einer oder mehrere Erwartungswerte <5

Tab. A.II-9: Ausprägung der hyp. gam. Multilocusdiversität (8 Genorte) in Saatgutproben bzw. in einem Provenienzversuch aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Douglasie

A) aus Saatgutproben		B) aus Provenienzversuch	
Population [Nr.]	v _{gam}	Population [Nr.]	v _{gam}
S16	16,781	K02	12,576
S17	9,025	K03	11,510
S20	13,565	K04	11,124
S21	9,392	Campbell	11,737 (0,752)
S22	9,096	K01	15,826
S24	12,650	K05	11,611
S27	14,160	K07	21,533
Küste-Nord	12,096 (3,012)	K08	14,031
S08	20,719	K10	9,639
S09	13,352	K11	9,563
S12	20,820	Küste-Nord	13,701 (4,560)
S13	24,318		
S14	11,051		
Küste-Mitte	18,052 (5,593)		
S01	16,085		
Küste-Süd	16,085		
Küsten-Dgl.	14,693 (4,875)		
S02	5,660		
S04	4,419		
S15	2,961		
S18	1,947		
S19	3,343		
S23	2,042		
S25	1,221		
S26	2,281		
Inland-Süd	2,984 (1,460)		
S05	3,181		
S10	5,090		
S11	13,465		
Inland Nord	7,245 (5,470)		
S03	7,096		
S06	7,279		
S07	9,720		
Überg.-geb.	8,032 (1,465)		
Inland N+Ü	7,639 (3,607)		
		K06	9,289
		K09	6,718
		Inland-Nord	8,004 (1,818)

Tab. A.II-10:

Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B3 am Genort GOT-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

Ökotypen	Ökotypen								
	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	n.s.	-							
Ü	n.s.	n.s.	-						
SR	n.s.	n.s.	n.s.	-					
KS	,013	,002	n.s.	,001	-				
KM	,003	,000	,014	,010	,015	-			
KN	n.s.	,029	n.s.	,018	n.s.	,056	-		
CB	,013	,002	0,52	,024	,026	n.s.	n.s.	-	
QC	n.s.	n.s.	n.s.	,057	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-

Erläuterungen: berechnet aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989)

Tab. A.II-11:

Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles Nr. 5 am Genort IDH für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

Ökotypen	Ökotypen								
	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	,024	-							
Ü	n.s.	,015	-						
SR	,011.	,000	n.s.	-					
KS	,000	,000	,006	n.s.	-				
KM	,000	,000	,001	,010	,007	-			
KN	,000	,000	n.s.	n.s.	n.s.	,010	-		
CB	,011	,001	n.s.	n.s.	n.s.	,014	n.s.	-	
QC	n.s.	n.s.	n.s.	,057	,005	,024	,022	n.s.	-

Erläuterungen: berechnet aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989)

Tab. A.II-12:

Vergleich der Mittelwerte des häufigen Alleles A2 am Genort AMP-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

	Ökotypen								
Ökotypen	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	,000	-							
Ü	,000	,000	-						
SR	,000	,000	n.s.	-					
KS	,000	,000	n.s.	n.s.	-				
KM	,000	,000	n.s.	n.s.	n.s.	-			
KN	,000	,000	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-		
CB	,000	,000	,002	,006	,001	,005	,000	-	
QC	,055	,001	,017	,057	,011	,024	,038	,017	-

Erläuterungen: berechnet aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989)

Tab. A.II-13a

Vergleich der Mittelwerte des häufigen Alleles A4 am Genort 6PGDH-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

	Ökotypen								
Ökotypen	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	n.s.	-							
Ü	,049	n.s.	-						
SR	,000	,000	n.s.	-					
KS	,000	,000	,006	n.s.	-				
KM	,000	,000	,014	n.s.	n.s.	-			
KN	,000	,000	,027	n.s.	n.s.	n.s.	-		
CB	,000	,000	,011	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	
QC	n.s.	n.s.	n.s.	,057	,005	,024	,038	,017	-

Erläuterungen: berechnet aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989)

Tab. A.II-13b: Vergleich der Mittelwerte des häufigen Alleles AX am Genort 6PGDH-A für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

	Ökotypen								
Ökotypen	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	,000	-							
Ü	n.s.	,018	-						
SR	,000	,002	,012	-					
KS	,000	,000	,001	n.s.	-				
KM	,000	,000	,005	n.s.	n.s.	-			
KN	,000	,049	,015	,040	n.s.	n.s.	-		
CB	,000	,002	,011	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	
QC	n.s.	,007	n.s.	,057	,005	,024	,022	,017	-

Erläuterungen: berechnet aus Originaldaten von LI & ADAMS (1989); Allele A4 und A2 gepoolt.

Tab. A.II-14a: Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B1 am Genort SKDH-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

	Ökotypen								
Ökotypen	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	,002	-							
Ü	n.s.	,012	-						
SR									
KS									
KM	,016	,002	,036			-			
KN	,001	,000	,004			n.s.	-		
CB	n.s.	,012	n.s.			n.s.	n.s.	-	
QC									

Erläuterungen: kombinierter Datensatz aus Handelssaatgut und Versuchsanbauten.

Tab. A.II-14b: Vergleich der Mittelwerte des häufigsten Alleles B1 am Genort SKDH-B für die Referenzstrukturen der Ökotypen von *Pseudotsuga menziesii*: Signifikanzniveaus der Unterschiede (U-Test) für einzelne Wertepaare.

	Ökotypen								
Ökotypen	IN	IS	Ü	SR	KS	KM	KN	CB	QC
IN	-								
IS	,002	-							
Ü	n.s.	,012	-						
SR									
KS									
KM	,016	,002	n.s.			-			
KN	,001	,000	n.s.			n.s.	-		
CB	n.s.	,012	n.s.			n.s.	n.s.	-	
QC									

Erläuterungen: kombinierter Datensatz aus Handelssaatgut und Versuchsanbauten.

**Tab. A.II-15: Verfahrensbedingte Unterschiede allelischer Strukturen
am Genlocus 6-PGDH-A**

Verfahren	Genlocus 6-PGDH-A											
	Tris-Citro						Morpholin - Citrat					
Population	Allele											
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6

Versuchsanbauten

Küste N												
K01			.967		.033				.967		.033	
K03			.883			.117			.883			.117
K04			.967			.033			.967			.033
K05			.983			.017			.983			.017
Inland N												
K06			.450			.550			(.450)			(.550)
K09			.556			.444			.130			.426

Altbestände in Baden-Württemberg

B01	.033	.917			.050	.033	.917			.050
B02	.033	.950			.017	.033	.950			.017
B03	.050	.933			.017	.050	.933			.017
B04	.065	.871			.065	.065	.871			.065
B05	.033	.900			.067	.033	.900			.067
B06		.950			.050	.050	.900			.050
B07		1.000					1.000			

Tab. A.II-16:

Matrix der Genpool-Abstände

Popu- lation	P o p u l a t i o n																											
	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	
S01	.000																											
S02	.253	.000																										
S03	.214	.298	.000																									
S04	.311	.083	.297	.000																								
S05	.240	.211	.151	.190	.000																							
S06	.219	.301	.057	.296	.147	.000																						
S07	.197	.280	.092	.337	.211	.113	.000																					
S08	.071	.291	.228	.343	.263	.246	.219	.000																				
S09	.067	.283	.197	.350	.236	.215	.196	.065	.000																			
S10	.247	.230	.183	.196	.061	.183	.233	.260	.254	.000																		
S11	.197	.246	.139	.233	.097	.147	.186	.203	.199	.100	.000																	
S12	.085	.285	.225	.343	.247	.242	.226	.060	.062	.264	.199	.000																
S13	.086	.262	.225	.317	.261	.238	.219	.090	.106	.256	.221	.090	.000															
S14	.060	.279	.201	.340	.238	.211	.194	.076	.040	.249	.203	.085	.101	.000														
S15	.226	.066	.308	.097	.211	.300	.294	.274	.276	.231	.258	.289	.254	.251	.000													
S16	.083	.284	.201	.337	.247	.215	.207	.062	.065	.256	.197	.056	.089	.074	.279	.000												
S17	.071	.286	.199	.346	.221	.208	.201	.085	.044	.239	.189	.076	.115	.039	.261	.068	.000											
S18	.219	.078	.346	.115	.247	.339	.331	.260	.260	.269	.296	.274	.242	.246	.060	.263	.251	.000										
S19	.219	.056	.318	.099	.221	.315	.304	.263	.269	.239	.265	.275	.250	.251	.033	.267	.257	.042	.000									
S20	.093	.304	.185	.365	.240	.203	.196	.076	.049	.265	.200	.061	.113	.065	.289	.068	.064	.290	.285	.000								
S21	.086	.301	.175	.353	.249	.193	.182	.083	.064	.258	.199	.079	.107	.072	.288	.053	.068	.271	.285	.072	.000							
S22	.096	.307	.172	.365	.244	.183	.169	.093	.079	.256	.194	.108	.121	.079	.281	.075	.079	.267	.282	.096	.044	.000						
S23	.221	.080	.331	.115	.239	.332	.321	.264	.263	.254	.274	.271	.235	.247	.058	.263	.253	.044	.056	.279	.269	.268	.000					
S24	.074	.304	.196	.364	.240	.199	.194	.063	.061	.267	.194	.082	.121	.067	.275	.067	.065	.261	.275	.072	.053	.057	.272	.000				
S25	.231	.103	.351	.133	.257	.343	.340	.272	.274	.276	.307	.290	.251	.254	.061	.283	.263	.032	.067	.303	.274	.272	.040	.265	.000			
S26	.208	.077	.333	.122	.244	.333	.326	.253	.257	.261	.285	.264	.238	.236	.060	.257	.244	.028	.046	.278	.272	.269	.038	.261	.039	.000		
S27	.093	.307	.207	.372	.260	.218	.193	.069	.068	.274	.208	.081	.118	.076	.288	.071	.078	.281	.289	.082	.062	.049	.276	.056	.283	.278	.000	

A.II-17: Populationsdifferenzierung bei der Douglasie

Population	Dj					
	Gene-Pool	GOT-B	IDH	AMP-A	6-PGD-A	SKDH-B
S01	0,082	0,041	0,033	0,203	0,172	0,103
S02	0,193	0,055	0,091	0,478	0,145	0,598
S03	0,206	0,080	0,068	0,616	0,422	0,330
S04	0,257	0,110	0,103	0,523	0,501	0,645
S05	0,201	0,082	0,103	0,386	0,560	0,341
S06	0,217	0,106	0,103	0,628	0,421	0,351
S07	0,191	0,048	0,091	0,583	0,206	0,336
S08	0,129	0,061	0,152	0,250	0,185	0,212
S09	0,122	0,034	0,077	0,309	0,205	0,247
S10	0,213	0,119	0,090	0,373	0,571	0,364
S11	0,158	0,045	0,080	0,132	0,450	0,330
S12	0,138	0,109	0,179	0,204	0,173	0,299
S13	0,113	0,125	0,194	0,182	0,196	0,103
S14	0,108	0,029	0,050	0,321	0,195	0,235
S15	0,176	0,071	0,103	0,523	0,031	0,564
S16	0,127	0,079	0,113	0,262	0,183	0,281
S17	0,121	0,025	0,069	0,348	0,173	0,276
S18	0,208	0,060	0,103	0,500	0,219	0,605
S19	0,178	0,041	0,103	0,511	0,035	0,533
S20	0,143	0,045	0,156	0,379	0,136	0,322
S21	0,138	0,075	0,045	0,365	0,242	0,287
S22	0,136	0,009	0,079	0,342	0,252	0,264
S23	0,192	0,033	0,103	0,500	0,134	0,675
S24	0,134	0,048	0,086	0,295	0,229	0,293
S25	0,221	0,095	0,091	0,523	0,242	0,698
S26	0,194	0,064	0,068	0,477	0,150	0,640
S27	0,146	0,009	0,166	0,331	0,241	0,299
Pool: δ	0,164	0,063	0,100	0,390	0,247	0,379

Tab. A.II-18: Test über Zugehörigkeit zum nördlichen Küstenökotyp (KN) auf der Basis der Populationsdifferenzierung Dj:

a) im Genpool

Datensatz	Deme														δ
	S16	S17	S20	S21	S22	S24	S27	K01	K05	K07	K08	K10	K11	Test-Population	
KN (Saat)	.053	.057	.064	.045	.057	.043	.045								.052
KN (Vers.)								.079	.118	.072	.064	.080	.076		.081
KN	.062	.056	.070	.057	.060	.038	.053	.084	.112	.087	.064	.081	.064		.069
IN → KN	.058	.052	.071	.060	.063	.042	.057	.086	.119	.081	.062	.079	.068	K09: 0.180	.073
CB → KN	.064	.054	.071	.057	.058	.037	.053	.084	.112	.085	.064	.080	.064	K03: 0.095	.067
KM → KN	.062	.053	.069	.057	.060	.040	.053	.085	.114	.087	.064	.082	.061	S14: 0.054	.065
B03 → KN	.055	.058	.072	.059	.064	.037	.057	.084	.115	.084	.062	.076	.066	B03: 0.122	.071
B04 → KN	.061	.055	.070	.059	.062	.040	.054	.085	.115	.085	.063	.082	.064	B04: 0.090	.068
B05 → KN	.061	.057	.072	.058	.060	.036	.053	.084	.113	.084	.063	.079	.065	B05: 0.095	.068
B06 → KN	.060	.055	.070	.055	.060	.037	.053	.083	.112	.086	.065	.079	.064	B06: 0.062	.065
B07 → KN	.062	.056	.071	.058	.062	.038	.054	.083	.112	.085	.064	.080	.063	B07: 0.065	.066

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße

Tab. A.II-18 (Forts.):

b) am Genort SKDH-B

Datensatz	Deme														δ
	S16	S17	S20	S21	S22	S24	S27	K01	K05	K07	K08	K10	K11	Test-Population	
KN (Saat)	.026	.022	.057	.019	.037	.030	.065								.037
KN (Vers.)								.068	.060	.137	.021	.145	.054		.083
KN	.042	.042	.081	.044	.020	.048	.065	.019	.103	.170	.068	.088	.063		.064
IN → KN	.043	.035	.073	.037	.013	.049	.065	.024	.109	.175	.074	.081	.062	K09: 0.144	.066
CB → KN	.038	.035	.073	.037	.013	.044	.065	.019	.109	.175	.074	.081	.067	K03: 0.112	.064
KM → KN	.047	.043	.081	.045	.021	.054	.066	.024	.102	.167	.066	.089	.058	S14: 0.069	.065
B03 → KN	.035	.036	.075	.038	.014	.041	.064	.015	.108	.174	.073	.082	.069	B03: 0.072	.062
B04 → KN	.041	.042	.080	.044	.020	.044	.062	.018	.105	.171	.070	.087	.064	B04: 0.063	.063
B05 → KN	.037	.037	.075	.039	.015	.043	.065	.016	.107	.173	.072	.083	.068	B05: 0.085	.063
B06 → KN	.039	.036	.074	.038	.014	.045	.065	.019	.108	.174	.073	.082	.066	B06: 0.096	.064
B07 → KN	.042	.039	.078	.041	.017	.048	.065	.019	.105	.171	.070	.085	.063	B07: 0.046	.062

Erläuterungen: Cj proportional zur Stichprobengröße

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Geburt: 31. August 1960
in Karlsruhe (D)
Staatsangehörigkeit: Deutscher
Familienstand: ledig

Schulbildung

1971-1980 Bismarck-Gymnasium, Karlsruhe
Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

Studium

21.09.1981-30.09.1983 Universität München: Forstwissenschaft
01.10.1983-02.10.1984 Universität Freiburg: Forstwissenschaft
11.10.1984-28.02.1985 Universität für Bodenkultur, Wien: Forst- und Holzwirtschaft
01.03.1985-02.06.1987 Universität Freiburg: Forstwissenschaft
Abschluß: Diplom

Berufliche Erfahrungen

Juno 1989-Mai 1991 wiss. Mitarbeiter im Referat Saatgutprüfung und Angewandte Botanik der LUFA Augustenberg, Karlsruhe (D)
Sept. 1991-Mai 1993 Forstreferendar bei der Landesforstverwaltung Baden-Württemberg; Abschluß: Staatsexamen.
Okt. 1993 - Sept. 1995 Vertragsassistent, Institut für Waldbau, Universität für Bodenkultur Wien
seit Okt. 1995 Universitätsassistent, Institut für Waldbau, Universität für Bodenkultur Wien.

Besondere Tätigkeiten

seit 1996 Unabhängiger Gutachter der Europäischen Kommission

Stipendien, Preise

Oktober 1982 - Mai 1987 H.F.& Ph.F. Reemtsma Begabtenförderungswerk
Oktober 1989 - Sept. 1991 Studienstiftung des deutschen Volkes (Promotions-Stipendium)
Dezember 1997 Hauptpreis aus der Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“