

Natalia Andrea Decarli Muñoz

---

**Räumliche Verteilungen der genetischen  
Ausstattung von Eckern und Jungwuchs  
der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Abhängigkeit  
von Bestandesstrukturen**

---



Cuvillier Verlag Göttingen

**Räumliche Verteilungen der genetischen Ausstattung von  
Eckern und Jungwuchs der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in  
Abhängigkeit von Bestandesstrukturen**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Forstwissenschaftlichen Fachbereichs  
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von

Natalia Andrea Decarli Muñoz  
geboren in Concepción, Chile

Göttingen 2003



## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität in Göttingen unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Martin Ziehe angefertigt. Ich möchte mich bei ihm für seine kontinuierliche Leitung und fachliche Betreuung ganz herzlich bedanken. Mein Dank gilt auch zahlreichen weiteren Mitgliedern des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung wie auch Mitarbeitern anderer Institute der Fakultät für Forstwissenschaften und Waldökologie:

Herrn Prof. Dr. Reiner Finkeldey für die Einführung in die Nutzung molekularer Marker und seine Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit,

Herrn Prof. Dr. Hans H. Hattemer für die hilfreichen fachlichen Gespräche,

Frau Dr. Barbara Vornam und Herrn Dr. Oliver Gailing für ihre Unterstützung bei der Anwendung molekularer Techniken und ihre Geduld in vielen fachlichen Gesprächen,

Herrn Prof. Dr. Hans-Rolf Gregorius, Frau Dr. Elizabeth M. Gillet und Jörg R. G. Kleinschmit, deren nützliche Hinweise zur Erstellung des Programm „ABSTAMMUNG“ beitrugen,

Frau Oleksandra Dolynska, Frau Christine Radler, Herrn Karsten Hennecke, Herrn Gerold Dinkel, Herrn August Capelle, Frau Olga Artes, Herrn Thomas Seliger und Herrn Siegfried Krakuhn, die bei der Bewältigung der Laboruntersuchungen und der Durchführung der Feldarbeiten sehr hilfreich waren,

Frau Dr. Heide Glock, Frau Sabine Fehrmann und Frau Sigrid Schmaltz für ihre wertvollen Kommentare bei der Herstellung der Dissertationsschrift,

Herrn Sapto Indrioko, Herrn Madhav Panday und Frau Sylvia Nascimento de Sousa, die bei Bedarf jederzeit unterstützend zur Stelle waren,

Frau Marita Schwahn für ihre Hilfsbereitschaft,

Herrn Dr. Martin Jansen, Herrn Dr. Swen Hentschel, Herrn Dr. Jens Nieschulze und Herrn Dr. Rainer Schulz für ihre Hilfe bei der Beschreibung der Versuchsflächen und

meinem Mann Dr. Jorge Cancino für seine geduldige Unterstützung.

Der KAAD (Katholischer Akademischer Ausländer-Dienst) hat die Promotion finanziell gefördert.



# INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG.....	1
1.1 Allgemeines zur Rotbuche zur Erhaltung von deren genetischen Ressourcen.....	1
1.2 Zielsetzungen der Arbeit.....	2
1.3 Genetische Marker.....	3
1.3.1. Allgemeine Bemerkungen.....	3
1.3.2. Isoenzyme.....	3
1.3.2.1. Besondere Bedeutung bestimmter Allelvarianten.....	4
1.3.3. DNA Marker.....	6
1.3.3.1. Auf PCR (polymerase chain reaction) basierende Marker.....	6
1.3.3.2.1. SSRs; Mikrosatelliten-DNA: simple sequence repeats.....	6
1.3.3.2.2.1. Evolution der Mikrosatelliten-Marker.....	7
1.3.3.2.2.2. Theoretische Modelle der Mikrosatelliten-Mutationen.....	9
1.3.3.2.2.3. Anwendung der Mikrosatelliten-Marker.....	10
1.3.3.2.2.4. DNA-Sequenzierung.....	11
1.3.3.2.2.4.1. Sanger-Coulson-Sequenzierung (Dideoxy-Sequenzierung).....	11
1.3.3.2.2.4.2. Taq-cycle-Sequenzierung.....	12
1.3.3.3. Bisheriger Einsatz bei Fagaceen.....	12
2. MATERIAL UND METHODEN.....	13
2.1. Pflanzenmaterial.....	13
2.1.1. Buchenbestand Abt 3100c (FoA Dassel, ehemals FoA Knobben).....	13
2.1.2. Buchenbestand Abt. 1083 (FoA Eschershausen).....	16
2.1.3. Eckern der ausgewählten Bäume Nr. 9 und 95 der Abt. 3100c des FoA Dassel.....	20
2.1.4. Eckern des isolierten Baumes in der Abt. 62 des FoA Seesen.....	20
2.2. Methoden.....	22
2.2.1. Isoenzymanalysen.....	22
2.2.2. DNA-Analysen.....	23
2.2.2.1. Isolierung der DNA aus Samen und Knospen.....	23
2.2.2.2. Agarose- und Polyacrylamid (PAA)-Gelelektrophorese.....	23
2.2.2.3. DNA-Amplifizierung von Mikrosatelliten-Markern.....	23
2.2.3. Auftrennung und Sequenzierung von Amplifizierungsfragmenten mittels Kapillarelektrophorese.....	25
2.2.3.1. Probenvorbereitung der Amplifizierungsprodukte für die Kapillar-elektrophorese.....	25
2.2.3.2. Extraktion der DNA aus Agarosegelen.....	25
2.2.3.3. Sequenzierung.....	26
2.2.3.4. Sequenzvergleich.....	27
2.2.3.5. Optimierung eines neuen Mikrosatelliten-Markers.....	27
2.3. Analyse der erhobenen Daten.....	27
2.3.1. Populationsgenetische Parameter.....	27
2.3.2. Elternschaftsanalysen.....	28
2.3.3. Berechnung zusätzlicher Parameter.....	28
2.3.3.1. In der Abteilung 3100c.....	28
2.3.4. Computergestützte Analyse der erhobenen Daten.....	29
3 ERGEBNISSE.....	31
3.1. Entwicklung und Anwendung von Mikrosatelliten-Markern.....	31
3.1.1. Mikrosatelliten für <i>Fagus crenata</i> und <i>F. japonica</i> .....	31
3.1.1.1. Sequenzierung der Amplifizierungsprodukte.....	31
3.1.2. Mikrosatelliten-Marker für <i>Fagus sylvatica</i> L. und <i>F. orientalis</i> .....	34
3.1.3. Allgemeine Betrachtung zur untersuchten Versuchsfläche.....	36
3.2. Ergebnisse der Abteilung 3100c.....	37
3.2.1. Räumliche Verteilung der genetischen Strukturen in der Abt. 3100c.....	39
3.2.2. Fremdpollenflug (bei Windeinfluss).....	40
3.2.3. Räumliche Verteilungen der Häufigkeiten von verschiedenen Allelvarianten.....	42
3.2.4. Räumliche Verteilung der Allelvariante LAP-A <sub>4</sub> .....	45
3.3. Parameter der Mikrosatelliten-Marker in den Abteilungen 3100c und 1083.....	51
3.3.1. Genetische Parameter der Mikrosatelliten-Marker in den Abteilungen 3100c (FoA Dassel) und 1083 (FoA Eschershausen).....	51
3.3.2. Indices von Moran (Moran's I) und genetische Abstände an den Mikrosatelliten-Loci.....	52
3.4. Elternschaftsverhältnisse für Eckern und Jungwuchs der Abt. 3100c.....	53

3.4.1 Abstammungsrekonstruktion für die Eckern des Jahrgangs 1998/99 aus dem nördlichen Bereich der Abt. 3100c.....	53
3.4.2 Genetische Parameter und Vaterschaftsanalyse für Baum 9 .....	54
3.4.2.1 Genetische Parameter und Häufigkeiten von bestimmten Allelvarianten .....	54
3.4.2.2 Vaterschaftsanalyse.....	55
3.4.3 Genetische Parameter und Vaterschaftsanalyse für den Baum 95 .....	55
3.4.3.1 Genetische Parameter und Häufigkeiten von bestimmten Allelvarianten .....	55
3.4.3.2 Elternschaftsanalyse .....	56
3.4.4 Genetische Parameter und Elternschaftsanalyse für den Jungwuchs der Abteilung 3100c.....	62
3.4.4.1 Analyse auf der Basis von Enzymgenloci .....	62
3.4.4.2 Elternschaftsanalyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern .....	62
3.4.1 Analyse auf der Basis von Isoenzymgenloci.....	64
3.4.2 Analyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern.....	65
3.5 Ergebnisse der Abteilung 62 .....	69
3.5.1 Analyse auf der Basis von Enzymgenloci .....	69
3.5.2 Analyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern.....	70
4 DISKUSSION .....	72
4.1. Entwicklung und Einsatz von Mikrosatelliten-Markern .....	72
4.1.1. Potenzielle Probleme bei der Entwicklung und dem Einsatz der Mikrosatelliten-Marker .....	72
4.1.1.1. Besonderheiten für die Primer von Tanaka et al. (1999).....	73
4.1.1.2. Besonderheiten bei den Primern von Pastorelli (et al. (2003)).....	73
4.1.1.3. Besonderheiten bei den Primerpaaren <i>mfc 5</i> , <i>mfs 11</i> und FS 3_04.....	74
4.2 Abteilung 3100c.....	74
4.2.1. Ergebnisse der genetischen Parameterauf der Basis von Isoenzymuntersuchungen .....	74
4.2.1.1 Räumliche genetische Variation.....	74
4.2.1.3. Räumliche Verteilung von Trägern der Allelvariante LAP-A <sub>4</sub> .....	76
4.2.2. Bestätigung von Korrelationen bei Mikrosatelliten-Markern (Moran's Index und genetischer Abstand).....	76
4.2.3. Vergleich zwischen Isoenzymen und Mikrosatelliten-Markern .....	77
4.2.4. Abstammungsrekonstruktion bei Eckern und Naturverjüngung .....	78
4.2.5. Analyse der Einzelbaumnachkommenschaften .....	78
4.2.5.1. Analyse mit Mikrosatelliten .....	78
4.2.5.2. Einfluss der Bestandesstruktur auf den Pollenflug.....	79
4.2.6. Analyse des Jungwuchses .....	79
4.2.6.1. Isoenzyme .....	79
4.2.6.2. Vaterschaftsanalyse mit Mikrosatelliten-Markern .....	80
4.3. Abt. 1083.....	80
4.3.1. Isoenzymmarker .....	80
4.3.2. Vaterschaftsanalyse mit Mikrosatelliten-Markern .....	81
4.4. Isolierter Baum im Bestand 62.....	81
4.4.1. Analyse mit Isoenzymmarkern.....	81
4.4.2. Vaterschaftsanalyse durch Mikrosatelliten-Marker.....	81
4.5. Praxisrelevanz der Ergebnisse.....	82
ZUSAMMENFASSUNG.....	84
LITERATURVERZEICHNIS .....	90
ANHANG II. Räumliche Verteilung von Allelvarianten an Enzymgenloci in der Abt. 3100c .....	105
ANHANG III. Ergänzungen zur Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt. 3100c.....	107
ANHANG IV. Ergänzungen zur Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt. 1083 .....	108

# 1. EINLEITUNG

## **1.1 Allgemeines zur Rotbuche zur Erhaltung von deren genetischen Ressourcen**

Mit der Zunahme der stark bzw. sehr stark geschädigten Buchenwälder in Deutschland wächst die Notwendigkeit, effektivere Konzepte zur Erhaltung von deren genetischen Ressourcen zu entwickeln. Die am meisten bedrohten oder bereits absterbenden Populationen sind nach wirtschaftlichen, ökologischen, waldbaulichen und genetischen Gesichtspunkten zwar häufig erhaltungsbedürftig; das systematische Vorgehen muss sich aber dennoch an solchen Konzepten orientieren, die möglichst langfristige Ziele zu erreichen versprechen (Turok 1995). Angesichts der unvorhersehbaren und raschen, anthropogenen Umweltveränderungen ist eine besondere Vorgehensweise geboten (Hattemer 1988, Ziehe et al. 1989, Hattemer 1990, Gregorius 1991). Der langfristige Schutz einer Genressource in ihrem Habitat lässt eine ununterbrochene Entwicklung adaptiver Prozesse zu. Für lange dynamische Erhaltungsstrategien werden deshalb allgemein in situ Verfahren bevorzugt (Gregorius et al. 1979, Ziehe et al. 1989). Die kontinuierliche natürliche Verjüngung in situ dürfte dabei die Erhaltung adaptiver Potenziale über längere Zeiträume hinweg besonders effektiv gewährleisten (Gregorius 1994).

Die sogenannte natürliche Verjüngung im Waldökosystem ist heute eine nachhaltige Alternative für den Weiterbestand der Wälder. Um dieses Ziel zu erreichen, ist nicht nur das Ausmaß der Verjüngung relevant, sondern auch ihre genetische Ausstattung. Fehlende genetische Variation (durch genetische Erosion oder Inzucht) kann die Verjüngungserfolge erheblich einschränken.

Während der Reproduktion liegt eine Phase vor, in der die genetische Struktur und das Ausmaß der Verjüngung festgelegt werden. Diese Phase und damit das Reproduktionssystem der Waldbäume umfasst drei Bereiche: Die Fertilität der Eltern, das Paarungssystem und die Viabilität der Nachkommen (Ziehe 1982). Die genetische Struktur der Samen kann sich im Vergleich zu den Altbäumen durch die Reproduktion und während der Jungwuchsentwicklung besonders drastisch ändern. Während der eigentlichen Reproduktionsphase ist ein wichtiger Faktor die Verteilung der potenziell reproduzierenden Altbäume; sie könnte durch waldbauliche Maßnahmen modifiziert werden oder verändert worden sein. Diese Verteilung hat ebenfalls Einfluss auf die Art und Weise der Kombination von Gameten zu Zygoten. Im Vergleich zum Altbestand führen zudem Fertilitätsselektion,

Inkompatibilitäten, Drift- oder Inzuchteffekte in der Regel zu anderen genetischen Strukturen unter den Samen. Negative Auswirkungen etwa in Form von Inzuchtdepression oder genetischer Erosion können die Folge sein. Das Material hat in der Phase zwischen Samenstadium und Jungwuchs wiederum die Möglichkeit zur Veränderung in den Häufigkeiten der genetischen Ausstattung. Diese Änderung ist insbesondere von standörtlichen Bedingungen, aber auch anthropogenen Effekten abhängig.

Die europäische Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) ist eine anemophile, allogame Baumart mit einem relativ geringen Anteil an Selbstbefruchtung (Krabel und Ziehe unveröffentlicht), der in genetischer Sicht ein leichtes Defizit an Heterozygoten im Vergleich zu Hardy-Weinberg-Strukturen (wie sie bei Zufallskombination von Gameten und gleichen Allelstrukturen unter weiblichen und männlichen Gameten entstünden) erwarten läßt.

Die Rotbuche gehört zu den ökologisch und ökonomisch relevanten Baumarten. Die genetische Variation wurde bereits sehr intensiv untersucht (z. B. Thiébaud et al. 1982, Müller-Starck und Starke 1993, Leonardi und Menozzi 1995, Paule et al. 1995, Hattemer und Ziehe 1996, Konnert et al. 2000). Mit Hilfe von Isoenzymen wurde bei der Buche ein ähnliches Niveau der genetischen Variation wie bei vielen anderen Baumarten gefunden (Hamrick et al. 1992); unter den Fagaceen scheint die Eiche aber mehr Varianten und Variation (Müller-Starck und Ziehe 1991) zu besitzen. Normalerweise beobachtet man innerhalb von Populationen beachtliche, zwischen Populationen aber vergleichsweise kleine genetische Variation (z. B. Müller-Starck und Ziehe 1991, Larsen 1995, Turok 1995, Leonardi und Menozzi 1995, Paule et al. 1995, Starke et al. 1995, Hattemer und Ziehe 1996, Ziehe et al. 1998, Konnert et al. 2000).

Das Ausmaß beobachteter signifikanter Autokorrelationen in den räumlichen Strukturen von Altbuchen ist an Enzymgenloci bisher eher klein (Merzeau et al. 1994, Leonardi und Menozzi 1996, Doúnavi 2000) eingeschätzt worden. Im Vergleich der genetischen Strukturen zweier aufeinander folgender Generationen, d. h. unter Altbäumen und ihren Eckern, wurden zum Teil aber erhebliche Änderungen festgestellt (Müller-Starck und Ziehe 1991, Fromm 1992, Starke und Müller-Starck 1992, Hattemer et al. 1993, Müller-Starck 1996, Ziehe et al. 1998).

## **1.2. Zielsetzungen der Arbeit**

Zielsetzungen der vorliegenden Untersuchung sind Beschreibung und Analyse von Parametern und Strukturen, die eine Rolle für den Verjüngungserfolg spielen. Hierzu wurde u. a. eine Vaterschaftsanalyse bei Eckern und Jungwuchs durchgeführt. Das einbezogene

Material stammt sowohl aus einem kleinen isolierten Reinbestand (Abt.3100c, FoA Dassel im Solling) mit variabler Bestandesdichte, als auch von einer Versuchsfläche in einem Mischbestand (Abt. 1083, FoA Eschershausen im Solling), in der die Versuchspartzen (Verjüngungsinselfn) unterschiedliche Grade der Isolation bzw. Abschirmung durch Fichten aufweisen. Zum Vergleich wurde für eine isolierte Buche (Abt. 62, FoA Seesen im Westharz) deren Nachkommenschaft und das Ausmaß an Genfluss charakterisiert.

### **1.3. Genetische Marker**

#### **1.3.1. Allgemeine Bemerkungen**

In der zweiten Hälfte des letzten Jahrhunderts wurden verschiedene Techniken entwickelt, um die genetische Variation verschiedener biologischer Kollektive, wie z. B. die von natürlichen Populationen, zu bestimmen. Mit der Veröffentlichung von Mendel (1866) wurden die ersten genetischen Marker für die moderne Genetik festgelegt und später deren Vererbungsanalyse etabliert.

So können für die Identifizierung von Polymorphismen, d.h. von genetischer Variation, morphologische Merkmale oder auch die Analyse sekundärer Inhaltsstoffe eingesetzt werden. Bei beiden Methoden kann jedoch der betrachtete Genomabschnitt nicht klar eingegrenzt werden, da es sich hierbei um komplexe Merkmale handelt, die das Zusammenspiel vieler Gene voraussetzen.

Im Folgenden werden biochemische und molekulargenetische Methoden zur Identifizierung genetischer Variation vorgestellt, die sich im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Methoden auf einzelne Genomabschnitten beziehen.

#### **1.3.2. Isoenzyme**

Isoenzyme sind die wichtigsten biochemischen Genmarker zur Untersuchung des genetischen Systems von Pflanzen (Finkeldey 1999). Die verschiedenen Molekülformen eines Enzyms mit gleicher oder sehr ähnlicher katalytischer Funktion nennt man Isoenzyme. Bei der Isoenzymanalyse wird die katalytische Funktion von Proteinen und deren unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld ausgenutzt. Werden Isoenzyme durch verschiedene Allele eines bestimmten Genlocus kodiert, spricht man von Alloenzymen.

Nach Bergmann und Hattemer (1998) zeichnen sich Isoenzyme durch folgende Eigenschaften aus:

1. Umweltunabhängigkeit, d.h. das Verhalten der Isoenzyme ist unabhängig von der das Individuum umgebenden Umwelt. Aufgrund dieser Eigenschaft können Isoenzyme als genetische Marker betrachtet werden.
2. Hohe ontogenische Stabilität. Die Isoenzyme besitzen ihre katalytische Funktion in vielen verschiedenen Stadien der Pflanzenentwicklung und ihre Elektrophoresemuster sind konstant.
3. Für die Analyse der Isoenzyme wird nur sehr wenig Pflanzenmaterial benötigt. Bereits ein kleiner Samen ist für eine elektrophoretische Trennung ausreichend.
4. Zahlreiche Enzymsysteme und Proben können gleichzeitig untersucht werden.
5. Kodominanz-Ausprägung, d.h. heterozygote Individuen können von den Homozygoten unterschieden werden. Allerdings können rezessive „Null-Allele“ auftreten.
6. Zahlreiche Isoenzyme können in einer einzigen experimentellen Untersuchung ausgewertet werden.
7. Der Vererbungsmodus vieler Isoenzymssysteme ist bereits bekannt oder kann leicht überprüft werden.
8. Im Vergleich zu anderen Methoden ist nur eine vergleichsweise einfache Ausstattung des Labors erforderlich.

#### **1.3.2.1. Besondere Bedeutung bestimmter Allelvarianten**

Einige Allelvarianten und Genotypen haben bei der Naturverjüngungserfolg der Buche einen besonderen Einfluss. So wird die genetische Anpassungsfähigkeit der Populationen an neue Umweltbedingungen in Abhängigkeit von der Präsenz seltener Allele mit „präadaptiver“ Funktion betrachtet, welche adaptive Kapazitäten darstellen (Hattemer et al. 1982, Bergmann et al. 1990, Finkeldey 1993, Turok et al. 1998).

Die folgenden allelischen Varianten erscheinen wegen ihrer Anpassungsrelevanz betrachtenswert:

- **LAP-A<sub>4</sub>**

Die Allelvariante LAP-A<sub>4</sub> wurde in vielen Untersuchungen als bedeutsam für die Überlebensfähigkeit von Jungwuchs unter Stressbelastungen charakterisiert (Müller-Starck und Ziehe 1991, Müller-Starck 1993, Hattemer et al. 1993 und Ziehe et al. 1999). Deswegen

wurde in dieser Untersuchung die Häufigkeit dieser Allelvariante mit besonderem Interesse betrachtet.

- **PGM-A<sub>2</sub>**

Diese Allelvariante scheint unter Umweltbelastungen zumindest im heterozygoten Zustand tolerante Eigenschaften zu entwickeln. Konnert et al. (2000) berichteten in einer bundesweiten Auswertung über eine beträchtliche Häufigkeit von PGM-A<sub>2</sub> in belasteten Mittelgebirgsregionen.

- **IDH-A<sub>2</sub>**

Die Individuen mit dem Genotyp IDH-A<sub>2</sub>A<sub>2</sub> zeigten zwar unter verschiedenen Standortsbedingungen einen Nachteil in ihrer Viabilität (Starke et al. 1996). Die Allelvariante A<sub>2</sub> hat aber weitere Bedeutung im Zusammenhang mit dem Befall durch *Cryptococcus fagisuga* Lind. (Gora et al. 1994), welches eine Eintrittspforte für nachfolgende Pilze bedeuten kann.

- **MDH-B**

Die Varianten des Isoenzymystems MDH-B wurden in Meliorationsversuchen als potenzielle Indikatoren für den Verjüngungserfolg gewertet. Der Genotyp MDH-B<sub>3</sub>B<sub>4</sub> erwies sich unter zwei verschiedenen Standortsbedingungen als besonders überlebensfähig (Starke et al. 1996). Die Allelvariante MDH-B<sub>4</sub> wurde allerdings insgesamt mit einer geringen Häufigkeit beobachtet (Starke et al. 1996).

- **6PGDH-A**

Für den Enzymgenlocus 6PGDH-A beobachteten Konnert und Spiecker (1996) eine größere Häufigkeit des heterozygoten Genotyps A<sub>2</sub>A<sub>3</sub> unter jenen Buchen, die bereits einen Zieldurchmesser erreicht hatten. Bei A<sub>3</sub> handelt es sich um die deutlich seltenere der beiden in der Regel beobachteten Varianten an 6PGDH-A. Obwohl dieser Befund in anderen Untersuchungen nicht immer bestätigt wurde, könnte sich hier eine von lokalen Umweltbedingungen abhängige Förderung des Wachstums durch A<sub>3</sub> gezeigt haben.

### **1.3.3. DNA Marker**

#### **1.3.3.1. Auf PCR (polymerase chain reaction) basierende Marker**

Mit dieser Technik werden bestimmte Fragmente der DNA amplifiziert. Doppelsträngige DNA wird durch Hitze denaturiert und dabei in zwei Einzelstränge zerlegt. An einem dieser Einzelstränge werden kurze komplementäre Oligonukleotide (Primer, 10-25 Nukleotide) angelagert (annealed) und dienen als Startpunkt für die DNA-Polymerase, die nach dem Muster des Einzelstranges den komplementären Doppelstrang erzeugt. Diese Reaktionen sind temperaturabhängig und werden während der Amplifizierung mit Hilfe eines „Thermocyclers“ für viele Temperaturzyklen durchgeführt. Das gewünschte DNA-Fragment wird so exponentiell amplifiziert (Müller 2001).

Die im Folgenden beschriebenen molekulargenetischen Marker basieren auf dieser Technik.

##### **1.3.3.2.1. SSRs; Mikrosatelliten-DNA: simple sequence repeats**

Die Mikrosatelliten (SSRs) sind nicht kodierende Sequenzen mit repetitivem Charakter. Die Länge der sich wiederholenden Sequenzmotive beträgt 2 bis 4 bp (Forrest 1994). Ursprünglich wurde der Begriff Mikrosatelliten nur für das repetitive dinukleotide Motiv CA/GT benutzt (Litt und Luty 1989, Weber und May 1989). Da es sich um kurze, sich wiederholende Sequenzen handelt, führten Tautz (1989) den Begriff „simple sequence“ (einfache Sequenz) und Edwards et al. (1991) den Begriff „simple tandem repeats“ (einfache Tandemwiederholungen) ein. Sind diese Wiederholungen nicht unterbrochen und in ausreichender Länge vorhanden, können sie als genetische Marker benutzt werden, die sich durch einen hohen Polymorphiegrad auszeichnen (Powell et al. 1996). Die geschätzten Mikrosatelliten-Mutationsraten sind z.B. bei *Escherichia coli* ca.  $10^{-2}$  Mutationsereignisse pro Locus und Replikation (Henderson und Peters 1992, Strand et al. 1993), in *Drosophila* ca.  $6 \times 10^{-6}$  (Schug et al. 1997). Für das menschliche Genom wurden  $10^{-3}$  Ereignisse pro Locus und Generation gefunden (Weber und Wong 1993). Generell werden für die Mutationsrate der Mikrosatelliten-Sequenzen  $10^{-4}$  bis  $10^{-5}$  Mutationsereignisse pro Locus und Generation (Edwards et al. 1992, Ellegren 1992, Schlötterer und Tautz 1992) angenommen.

In allen Genomen ist das Sequenzmotiv  $(A)_n/(T)_n$  das am häufigsten wiederholte Motiv (Hancock 1999), danach folgen die Motive AT/TA und CT/GA (Lagercrantz et al. 1993). Diese Gruppe umfasst bei Größen mit mehr als sechs Repetitionen ca. 75% aller bisher analysierten Mikrosatelliten (Lagercrantz et al. 1993, Hancock 1999).

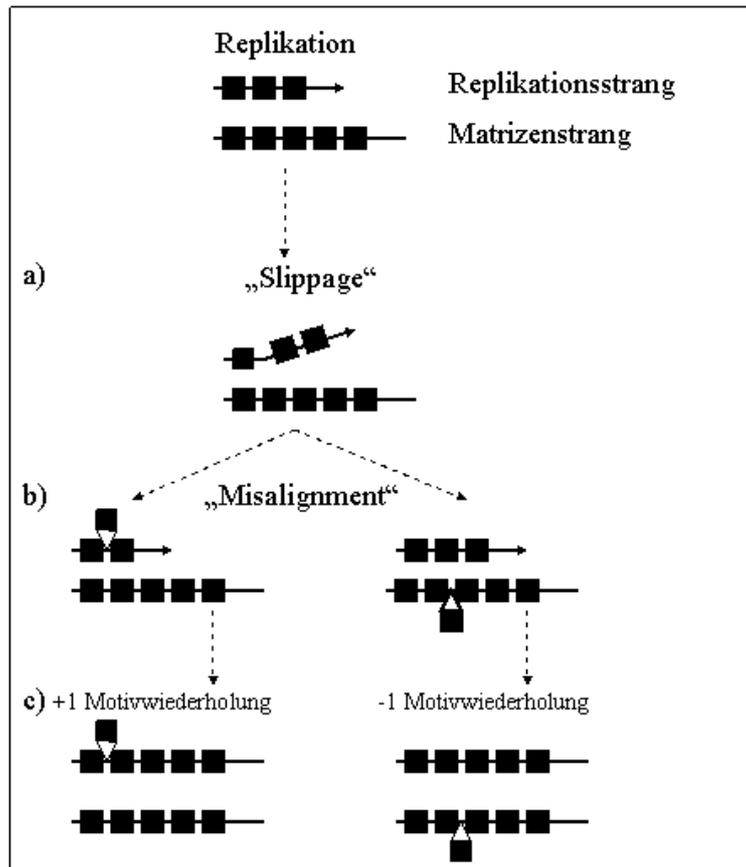
Microsatelliten sind normalerweise über das gesamte Genom verteilt (Dietrich et al. 1996); allerdings werden sie nur sehr selten innerhalb kodierender Regionen von Genen gefunden (Hancock 1995).

#### **1.3.3.2.2.1. Evolution der Mikrosatelliten-Marker**

Die Mutationsrate der Mikrosatelliten-Sequenzen kann durch zwei potenzielle Mechanismen erklärt werden. Der erste Mechanismus stellt die Rekombination zwischen DNA-Molekülen durch ungleiches Crossing-over oder durch Genkonversion dar (Smith 1976, Jeffreys et al. 1994). Der zweite legt das „slipped-strand mispairing (SSM)“ (Abb. 1.1) zugrunde, wobei während der DNA-Replikation die DNA-Stränge nicht normal gepaart sind. In Studien mit Hefe und *E. coli*, als Modellorganismen, konnte gezeigt werden, dass die „slippage“-Replikation der wichtigste Mechanismus zur Erzeugung von Mutationen bei Mikrosatelliten-Sequenzen ist (Levinson und Gutman 1987, Henderson und Peters 1992).

Die einfachste Form des „SSM“ stellt die lokale Denaturierung und Verschiebung der DNA-Stränge dar; danach erfolgt an der Stelle, an der sich eine kurze Tandem-Motivsequenz befindet, ein „mispairing“ der komplementären Basen. Folgen dem „mispairing“ Replikation oder Reparatur, können daraus Insertionen oder Deletionen eines oder mehrerer kurzer Motivwiederholungseinheiten (Abb. 1.1) (Levinson und Gutman 1987) entstehen.

In *E. coli* und Hefe (Levinson und Gutman 1987, Wierdl et al. 1997) sind diese Längenveränderungen die am häufigsten auftretenden Mutationen. Die Länge der Motivwiederholung der Mikrosatelliten-Sequenzen kann die Mutationsrate beeinflussen. Längere Motiv-Wiederholungen sind polymorpher als kurze Motivwiederholungen, welches damit begründet wird, dass sich eine stabile „misaligned“-Konfiguration in längeren Motivwiederholungen besser etablieren kann (Karhu 2001).



**Abb. 1.1.** Modell der Mutationsprozesse bei Mikrosatelliten-Loci nach Karhu (2001).

- a) „slippage“ der DNA-Polymerase während der Replikation
- b) „misalignment“ des Matrizenstranges oder des neuen Replikationsstranges
- c) Fortsetzung der Replikation

Die DNA-Stränge sind durch Linien, die Motivwiederholungseinheit ist durch kleine schwarze Rechtecke gekennzeichnet. Die kleinen Pfeile zeigen die Richtung der Replikation an.

Ein weiterer Parameter, der die Mutationsrate beeinflussen kann, ist die „Reinheit“ der Motivwiederholung. Gemischte Mikrosatelliten-Motivwiederholungen (aufgrund der Insertion oder des Ersatzes von Basen) scheinen niedrigere Mutationsraten zu besitzen, als sogenannte „reine“ Motivwiederholungen. Dies wird dadurch erklärt, dass bei gemischten Mikrosatelliten-Sequenzen ein „slippage“ nicht so einfach möglich ist.

Ferner scheint die Mutationsrate zusätzlich geschlechtsabhängig zu sein. So wurde bei *Hirundo rustica* in männlichen Individuen die doppelte Mutationsrate von der in weiblichen Individuen gefunden (Primmer et al. 1998).

Viele Studien zeigen, dass die Insertion von Motivwiederholungseinheiten häufiger ist als die Deletion dieser Einheiten. So konnte nachgewiesen werden, dass in Keimlinien von *Hirundo rustica* die Insertion von Motivwiederholungseinheiten signifikant häufiger vorkommt (Primmer et al. 1998). Nach wie vor bleibt unklar, ob diese Mutationen nur in hypervariablen und langen Mikrosatelliten oder in allen Typen von Mikrosatelliten auftreten können (Karhu 2001).

Ellegren (2000) postulierte, dass der Verlust von Motivwiederholungen häufiger lange Allele betrifft als kurze und begründet dies mit einem Selektionsmechanismus. Samadi et al. (1998) diskutieren die Anzahl Allele mit langen Motivwiederholungen; Taylor et al. (1999) vermuten, dass gemischte Motivsequenzen mit kurzen Motivsequenzen in Wechselwirkung stehen und damit eine Grenze für die Anzahl der verschiedenen Allele an Mikrosatelliten-Genloci besteht.

Alle diese Untersuchungen zeigen, dass generell der Mutationsprozess von Mikrosatelliten-Sequenzen ein sehr komplexer Prozess zu sein scheint. Es ist also sehr wahrscheinlich, dass dieser Prozess für unterschiedliche Loci und Allele nicht zu vereinheitlichen ist.

#### **1.3.3.2.2. Theoretische Modelle der Mikrosatelliten-Mutationen**

Um die evolutionären Prozesse zu verstehen, die zu Populationsdifferenzierungen führen, wurden verschiedene theoretische Modelle entwickelt. Zwei dieser Modelle sollen näher betrachtet werden. Das „infinite allele model“ (IAM) (Kimura und Crow 1964) betrachtet Mutationen als irgendeine Veränderung der Anzahl der Tandemmotivwiederholungen und das Ergebnis ist immer ein neues Allel, das vorher nicht in der Population existiert hat. Nimmt man jedoch das „slipped-strand mispairing“ als wichtigsten Mechanismus zur Erzeugung von Längenvariation an, so sind Allele mit ähnlicher Größe näher miteinander verwandt als Allele mit sehr unterschiedlicher Größe.

Das „stepwise mutation model“ (SSM) (Kimura und Ohta 1978) wurde zwar für Isoenzyme entwickelt, beschreibt aber auch für Mikrosatelliten den evolutionären Prozess besser. Um die Varianz der Anzahl von Motivwiederholungen zu quantifizieren, wurden unter dem „stepwise mutation model“ (SMM) verschiedene Schätzungen entwickelt. Mit Hilfe von Mikrosatelliten-Daten wurden phylogenetische Beziehungen, genetische Abstände und Populationsdifferenzierungen quantifiziert. Diesen Schätzungen liegen folgende Annahmen zugrunde: (i) Mutation bewirkt die Veränderung von nur einer Motivwiederholungseinheit, (ii) die Mutationsrate ist konstant und unabhängig von der Motivilänge, (iii) es gibt keine Asymmetrie in der Mutationsverteilung und (iv) keine Größenbeschränkung für Allele.

Signifikante Unterschiede zwischen den bekannten Divergenzzeiten und den genetischen Abständen von Mikrosatelliten (Garza et al. 1995) implizieren, dass eine oder mehrere dieser grundlegenden Annahmen falsch oder zumindest nicht für alle Mikrosatelliten-Loci gültig sind (Ellegren 2000). Daher wurden weitere Faktoren in diese Modelle eingeführt, die für die Evolution der Mikrosatelliten relevant sind, wie z. B. die Größenbeschränkung der Allele (Garza et al. 1995, Feldman et al. 1997), die Wahrscheinlichkeit von „multistep“-Mutationen (Di Rienzo et al. 1994) und gerichtete Veränderungen der Allelgrößen (Karhu 2001). In diesen Modellen wurden jedoch nicht die Abhängigkeit der Mutationsrate von der Anzahl der Motivwiederholungen und die Reinheit der Motivwiederholungen betrachtet (Karhu 2001).

Zusätzlich zu diesen Modellen, beschreiben Di Rienzo et al. (1994) das „two phase model“ (TPM), in dem nur ein begrenzter Anteil Mutationen einige Motivwiederholungen beeinflussen. Eher selten wird das „K-allele model“ (KAM) in der relevanten Literatur zitiert. In diesem Modell gibt es für die Allele K mögliche Zustände und jedes Allel kann mit gleicher Wahrscheinlichkeit in Richtung eines anderen Zustandes mutieren (Crow und Kimura 1970).

#### **1.3.3.2.2.3. Anwendung der Mikrosatelliten-Marker**

Mikrosatelliten stellen für viele Studien vorzüglich geeignete Marker dar, da sie kodominant und hochvariabel sind. Mikrosatelliten-Marker wurden zuerst für genetische Kartierungen benutzt (Weissenbach et al. 1992) und als diagnostische Marker zur Identifizierung menschlicher Krankheiten eingesetzt (Murray et al. 1992).

Mittlerweile werden diese Marker auch für verschiedene Fragestellungen in natürlichen, pflanzlichen Populationen verwendet. So sind Mikrosatelliten-Marker z. B. geeignet für Genflussstudien, Berechnungen der effektiven Populationsgröße ( $N_e$ ) sowie für Analysen zur Verbreitung und Migration von Pollen und Samen, unter anderem durch die Bestimmung von Vaterschafts- und Verwandtschaftsverhältnissen.

Ferner können mit Hilfe der Mikrosatelliten die Effekte und das Niveau von Selbstbefruchtungsraten eingeschätzt werden (Sweigart et al. 1999). Basierend auf Isoenzymanalysen gab es in dem meisten Fällen nur recht ungenaue Schätzungen der individuellen Selbstbefruchtungsrate.

#### **1.3.3.2.2.4. DNA-Sequenzierung**

Diese Methode erlaubt es, durch die Identifizierung der Basensequenz die genotypische Struktur von Individuen an einem bestimmten Locus zu charakterisieren. Mittlerweile können solche Untersuchungen auch auf Populationsebene durchgeführt werden (Finkeldey 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde für die Überprüfung und Entwicklung von Mikrosatelliten-Markern die DNA-Sequenzierungstechnik angewendet.

Für die DNA-Sequenzierung gibt es hauptsächlich zwei Methoden: Maxam und Gilbert (aus Nicholl 1995) entwickelten eine Technik, bei der man die DNA an bestimmten Stellen mit Chemikalien spaltet und so eine Reihe von Fragmenten erzeugt, die sich nur in einem Nukleotid unterscheiden. Dasselbe Ergebnis erzielt man auch mit der Methode von Sanger und Coulson (aus Nicholl 1995). Diese Methode besteht aus der enzymatischen Synthese von DNA-Strängen, die an einem modifizierten Nukleotid abbricht. Die Analyse der entstandenen Fragmente erfolgt bei beiden Methoden durch Gelelektrophorese.

##### **1.3.3.2.2.4.1. Sanger-Coulson-Sequenzierung (Didesoxy-Sequenzierung)**

Diese Methode wird am häufigsten für die Sequenzierung benutzt. Sie basiert darauf, dass einzelsträngige DNA vorliegt und die Synthese des komplementären Stranges in der Anwesenheit von Didesoxyribonukleotiden durchgeführt wird. Die Didesoxyribonukleotide können über ihre 5'-Triphosphatgruppen in eine wachsende DNA-Kette eingebaut werden, aber keine Phosphodiesterbrücken mit dem nächsten anzuhängenden Desoxyribonukleotid bilden (Nicholl 1995).

Die Polymerisationsreaktion läuft in vier getrennten Reaktionsansätzen ab. Alle Ansätze enthalten einzelsträngige DNA als Matrize, einen Primer, der komplementär zum 3'-Ende der Matrize ist, die Desoxyribonukleotide und eine DNA-Polymerase. Außerdem enthält jeder Ansatz eine bestimmte Menge eines der vier Didesoxyribonukleotide. Der Einbau eines solchen Nukleotids führt zum Kettenabbruch. Durch die geschickte Wahl des Verhältnisses von Didesoxyribonukleotiden zu Desoxyribonukleotiden erfolgt der Kettenabbruch statistisch über mehrere hundert Basen in den neu synthetisierten Strängen. Die Produkte der vier Reaktionsansätze werden in Polyacrylamidgelen nach ihrer Länge aufgetrennt und sichtbar gemacht. Die Sequenz wird von unten nach oben, also vom 5'-Ende zum 3'-Ende des synthetisierten Stranges ermittelt (Nicholl 1995).

#### **1.3.3.2.2.4.2. Taq-cycle-Sequenzierung**

Bei dieser Methode wird Taq-Polymerase für die Kettenverlängerung analog der Didesoxymethode nach Sanger eingesetzt, d.h. neben den für die PCR notwendigen Reagenzien befinden sich auch fluoreszenzmarkierte Didesoxyribonukleotide und im Gegensatz zur herkömmlichen PCR nur ein Primer im Reaktionsansatz. Die Reaktionsprodukte werden anschließend, wie auch schon zuvor, elektrophoretisch aufgetrennt.

#### **1.3.3.3. Bisheriger Einsatz bei Fagaceen**

In dem Genus *Fagus* sind bereits für *Fagus crenata* und *F. japonica* hochpolymorphe Mikrosatelliten-Marker (SSRs) entwickelt worden (Tanaka et al. 1999).

Für *Fagus sylvatica* wurden bisher verschiedene DNA-Analysen durchgeführt. Untersuchungen zur cpDNA zeigten bei *Fagus sylvatica* L. wenig (Vornam und Herzog 1996) oder keine Variation (Doúnavi 2000). Starke Differenzierung fand man allerdings auf europäischer Ebene (Demesure et al. 1996). Die Analyse der nuklearen DNA mit Hilfe von RAPD und I-SSR Markern (Troggio et al. 1996) verdeutlicht, dass einige Fragestellungen nur mit hochpolymorphen, kodominanten Mikrosatelliten zu lösen sind. In der Untersuchung von Pastorelli et al (2003) werden Mikrosatelliten-Primer für *Fagus sylvatica* L. vorgestellt, die neben den von Tanaka et al. (1999) für *Fagus crenata* entwickelten Markern auch für die hier beschriebenen Untersuchungen eingesetzt wurden.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Pflanzenmaterial

Es wurden jeweils Knospen von Altbäumen und Jungwuchs gewonnen sowie Eckern sowohl von Einzelbäumen als auch in Probekreisen auf dem Boden gesammelt und jeweils getrennt untersucht.

Im Prinzip erfolgten die Untersuchungen entlang eines hinsichtlich der Isolation der Buchen bestehenden Gradienten mit

- einem kleinen, durch Fichtenbestände isolierten Buchenreinbestand (Abt. 3100c, FoA Dassel im Solling),
- Verjüngunginseln in Buchen-Fichten-Mischbeständen (Abt. 1083, FoA Eschershausen im Solling) und
- einer durch Fichten weitgehend isolierten Buche (Abt. 62, FoA Seesen im Westharz).

**Tab. 2.1:** Zusammenfassung des in die Untersuchung einbezogenen Materials

<b>Bestand</b>	<b>Jahr</b>	<b>Stadium und Fläche</b>
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	Blüte 1992	Knospen des Altbestands
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	Blüte 1992	Eckern
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	Blüte 1998	Eckern
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	2001	Jungwuchs
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	2002	Jungwuchs
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	Blüte 2002	Einzelbaumabsaaten
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	2001	Knospen des Altbestands
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	2001	Jungwuchs
<b>Abteilung 62 (FoA Seesen)</b>	Blüte 2002	Eckern des isolierten Baumes

#### 2.1.1. Buchenbestand Abt 3100c (FoA Dassel, ehemals FoA Knobben)

Der Grund für die Auswahl gerade dieses Bestandes war die Isolation des Altholzvorkommens (vgl. Abb. 2.1). Angaben über die Lage sowie Standorteigenschaften dieses Bestandes (Bestandesfoto Abb. 2.2) sind in Tabelle 2.3 aufgelistet. Die räumliche Verteilung der Altbäume ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Es handelt sich um ehemals 99

Altbuchen, mit deren Untersuchung an Enzymgenloci im Rahmen einer Dissertation begonnen wurde (Müller-Starck 1996).

**Tab. 2.2:** Zusammenfassung des in die Untersuchung an molekularen Markern einbezogenen Jungwuchsmaterials

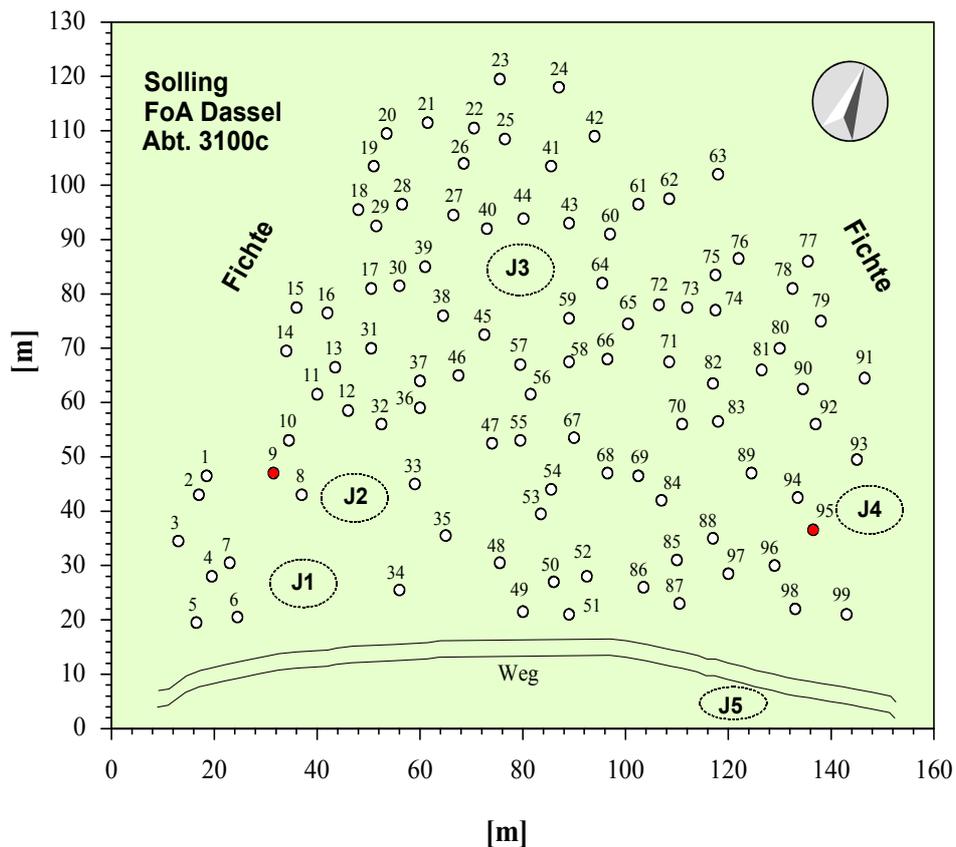
<b>Bestand</b>	<b>Versuchsfläche</b>	<b>Anzahl der untersuchten Jungwuchspflanzen</b>
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	J1= Südlücke Südteil 1	13
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	J2= Südlücke Südteil 2	12
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	J3= Lücke Nordteil	35
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	J4= Südostteil nahe Baum 95	10
<b>Abteilung 3100c (FoA Dassel)</b>	J5= unter Fichten	20
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	B3	20
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	B4	16
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	B5	10
<b>Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)</b>	<i>Div3</i> (C in Abb. 3.22)	23

**Tab. 2.3:** Standorteigenschaften des untersuchten Buchenreinbestandes

<b>Forstamt</b>	Dassel (Solling), früher Knobben
<b>Abteilung</b>	3100c, früher 100c
<b>Alter</b>	ca. 200 Jahre
<b>Leistungsklasse</b>	4
<b>Bestockungsgrad</b>	0.8
<b>Fläche</b>	1,3 ha
<b>Höhenlage ü. NN</b>	370 Meter
<b>Entfernung der nächstgelegenen Buchenvorkommen</b>	500 Meter
<b>Standort</b>	Lößlehmdecke über Buntsandstein

Einen weiteren Eindruck des Bestandes kann auch das später verwendete Luftbild vermitteln (Abb. 3.7).

## Isolierter Buchenbestand



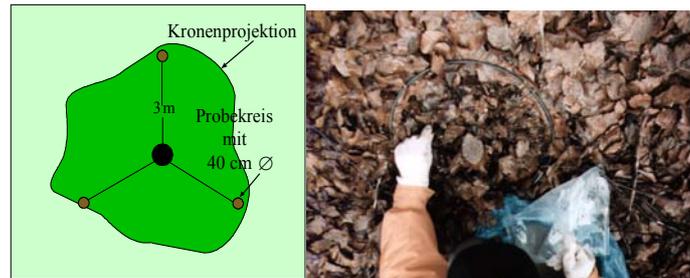
- Versuchsfläche 1: J1= Südlücke Südteil 1
- Versuchsfläche 2: J2= Südlücke Südteil 2
- Versuchsfläche 3: J3= Lücke Nordteil
- Versuchsfläche 4: J4= Südostteil nahe Baum 95
- Versuchsfläche 5: J5= unter Fichten

**Abb. 2.1:** Kartierter Buchenbestand im Solling (Müller-Starck 1996). Die Eckern der rot markierten Bäume Nr. 9 und 95 wurden für Pollenfluguntersuchungen eingesetzt



**Abb 2.2:** Einblick in den Nordbereich der Buchenfläche der Abt. 3100c, FoA Dassel

Zur weiteren Untersuchung des effektiv gewordenen Pollens und der Samenverbreitung wurde Eckernmaterial verwendet, bei dem man um jeden Altbaum in einer Entfernung von drei Metern innerhalb von drei Kreisen mit einem Durchmesser von jeweils 40 cm ebenfalls die Eckern aufgesammelt. Die drei Kreise bildeten dabei die Ecken eines gleichseitigen Dreiecks mit der Buche im Mittelpunkt (Abb. 2.3). Die Probenahme der Eckern erfolgten in zwei verschiedenen Mastjahren, davon 1992/93 im Rahmen einer früheren Dissertation (Müller-Starck 1996).



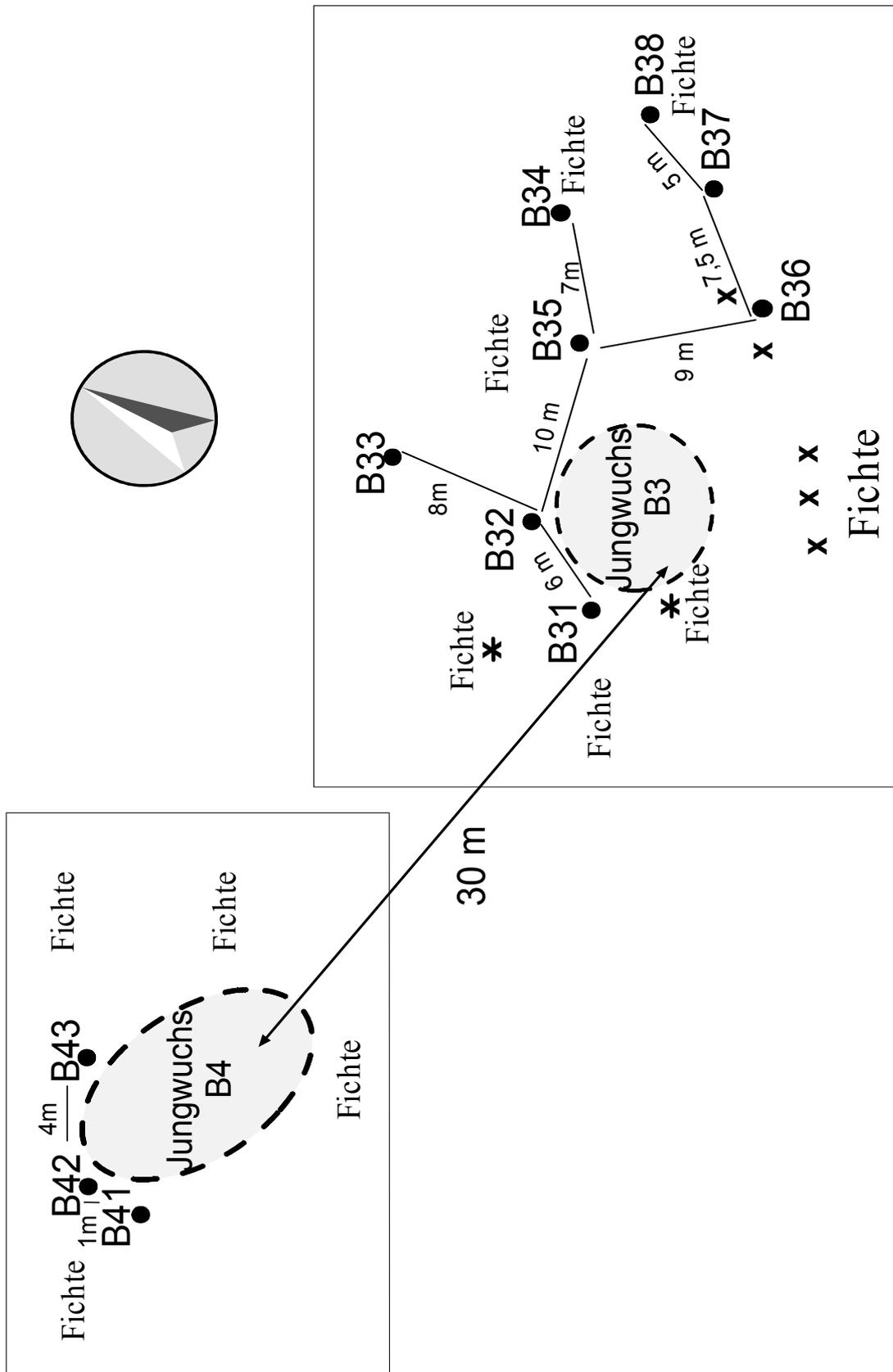
**Abb. 2.3:** Schematische Darstellung der Kronenprojektion einer Buche mit den dazugehörigen Probekreisen, in denen Eckern gesammelt wurden, sowie ein Foto der Sammelaktion

### 2.1.2. Buchenbestand Abt. 1083 (FoA Eschershausen)

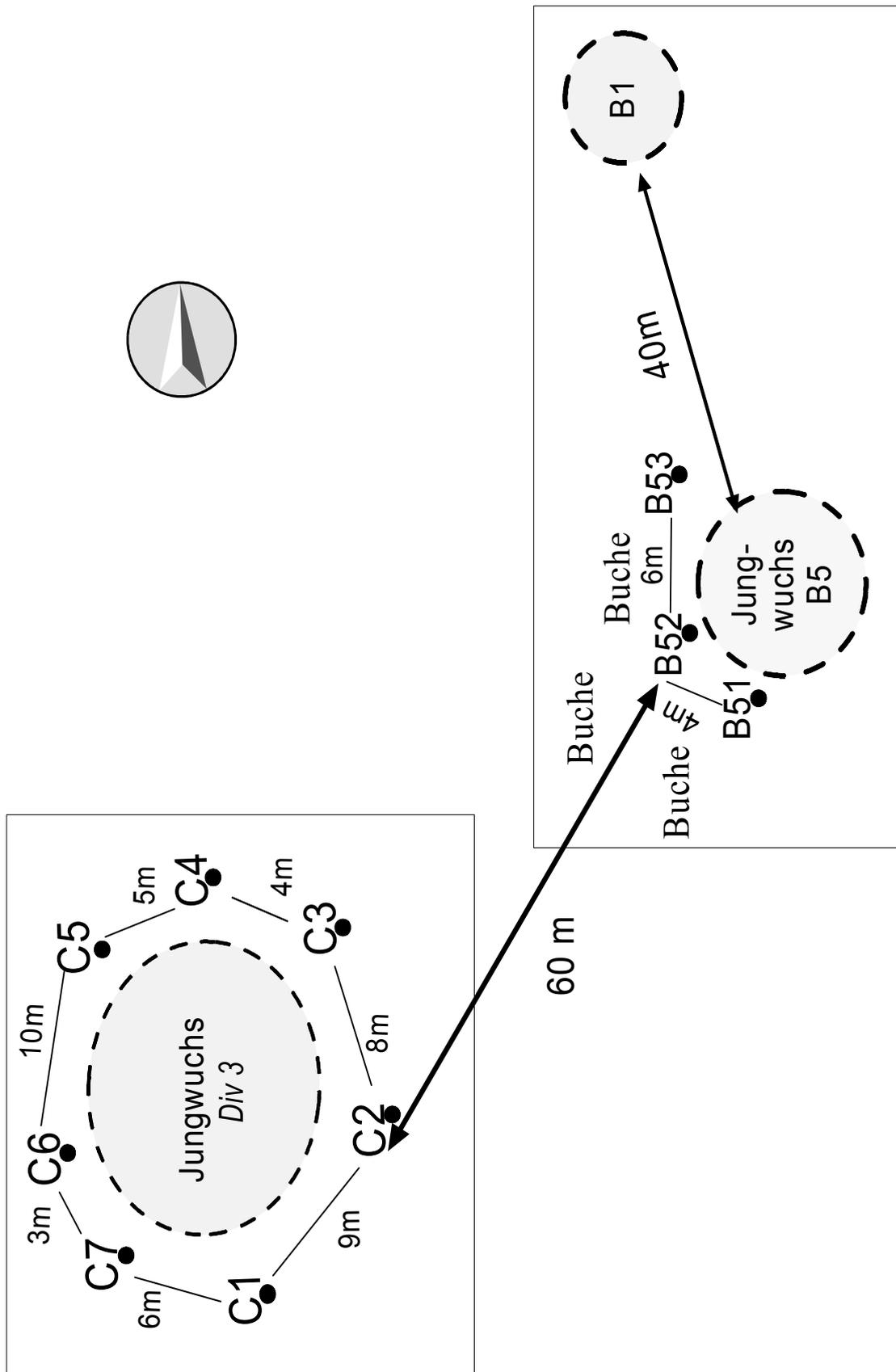
Die Abt. 1083 besteht hauptsächlich aus Buche und Fichte und deren Naturverjüngung und ist mit Eberesche und Bergahorn gemischt. Die zu untersuchenden Verjüngungsflächen wurden abhängig von ihrer Abschirmung durch Fichten ausgewählt. Standorteigenschaften des untersuchten Buchenmischbestands sind in Tab. 2.4 aufgelistet.

**Tab. 2.4:** Standorteigenschaften des untersuchten Buchenmischbestands

<b>Forstamt</b>	FoA Eschershausen
<b>Abteilung</b>	1083
<b>Alter (Hauptschicht)</b>	Buche 125, Fichte 132
<b>Leistungsklasse</b>	Buche 6, Fichte 11
<b>Bestockungsgrad</b>	Buche 0,7, Fichte 0,7
<b>Fläche</b>	19,4 ha
<b>Höhenlage ü. NN</b>	400 Meter
<b>Entfernung der nächstgelegenen Buchenvorkommen</b>	100 Meter
<b>Standort</b>	¾ der Fläche ziemlich gut nährstoffversorgt ¼ der Fläche gut nährstoffversorgt



**Abb. 2.4:** Schematische räumliche Verteilung von Versuchsflächen innerhalb der Abteilung 1083 des FoA Eschershausen im Solling



**Abb. 2.5:** Schematische räumliche Verteilung weiterer Versuchsflächen innerhalb der Abteilung 1083 des FoA Eschershausen im Solling



**Abb. 2.6:** Nordwestliche Ansicht der Verjüngungsfläche B5. Die roten Pfeile zeigen die untersuchten Altbäume an



**Abb. 2.7:** Nordöstliche Ansicht der Verjüngungsfläche Div3

Die Lage der Verjüngungsfläche in der Abt. 1083 des FoA Eschershausen im Solling ist in den Abbildungen 2.4 und 2.5 schematisch präsentiert.

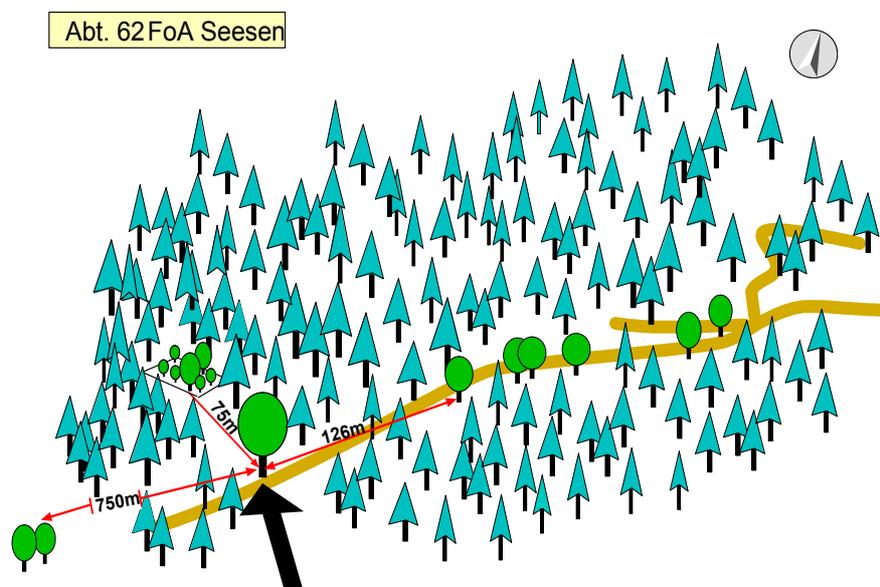
Die Abbildungen 2.6 und 2.7 zeigen die Umgebung der Versuchsflächen in der Abteilung 1083. In der unmittelbaren Nachbarschaft der Verjüngungsflächen B5 und *Div3* steht nur Buche (Abb. 2.6 und 2.7). Zur Orientierung kann auch das im Ergebnisteil verwendete Luftbild (Abb. 3.22) herangezogen werden.

### 2.1.3 Eckern der ausgewählten Bäume Nr. 9 und 95 der Abt. 3100c des FoA Dassel

Im Jahr 2001 wurden von den Bäumen 9 und 95 Zweige und deren Eckern gewonnen (vgl. Abb. 2.1 zur Position der Bäume). Die Laboruntersuchung dieser Eckern erfolgte an zehn Isoenzym- und zwei Mikrosatelliten-Loci.

### 2.1.4. Eckern des isolierten Baumes in der Abt. 62 des FoA Seesen

Im Bestand der Abt. 62 des FoA Seesen wurden von einer isolierten Buche Zweige und deren Eckern aus dem oberen Kronenteil in unterschiedlichen Himmelsrichtungen gewonnen. Die nächststehende reproduktionsfähige Buche befindet sich 75 Meter entfernt in einer eingezäunten Anlage junger, überwiegend noch nicht reproduktionsfähiger Buchen (vgl. Abb. 2.8 und 2.9). Auf der Basis von Isoenzymen und Mikrosatelliten-Markern wurden Untersuchungen durchgeführt.



**Abb. 2.8:** Schematische räumliche Verteilung potenzieller Polleneltern innerhalb der Abteilung 62. Der Pfeil zeigt die Position der isolierten Buche an.



**Abb. 2.9:** Fichtenabschirmung der isolierten Buche in der Abteilung 62 des FoA Seesen (Westharz)

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Isoenzymanalysen

Die Genotypisierung des Untersuchungsmaterials (Knospen und Samen) mittels Isoenzym-Marker erfolgte durch horizontale Stärkegelelektrophorese. Die Auswahl der untersuchten Enzymsysteme ist in den Tabellen 2.5 und 2.6 dargestellt; die Vorgehensweise entsprach der von Müller-Starck und Starke (1993) und Müller-Starck et al. (2001). Material, Methoden und Ergebnisse zum Altbestand und Eckernjahrgang 1992/93 des Bestandes der Abteilung 3100c (Dassel) sind von R. Müller-Starck in ihrer Dissertation (1996) bereits teilweise dokumentiert worden.

**Tab. 2.5:** Übersicht der analysierten Enzymsysteme und der verwendeten Puffersysteme (siehe auch Tab. 2.6)

Enzym	Puffer system	EC- Code	Genlocus
Glutamat-Oxaloacetat Transaminase	2	2.6.1.1	GOT-B
Isocitrat-Dehydrogenase	4,5	1.1.1.42	IDH-A
Leucin-Aminopeptidase	1	3.4.11.1	LAP-A
Malat-Dehydrogenase	4,5	1.1.1.37	MDH-B,C
Menadion-Reduktase	2	1.6.99.2	MNR-A
6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	3,4	1.1.1.44	6-PGDH-A,B,C
Phosphoglucose-Isomerase	1	5.3.1.9	PGI-B
Phosphoglucomutase	4	5.4.2.2	PGM-A

**Tab. 2.6:** Übersicht der verwendeten Puffersysteme.

No.	Elektrodenpuffer	pH	Gelpuffer	pH
1	0.05 M LiOH-0.19 M Borsäure	8.1	0.05 M Tris-0.01 M Zitronensäure (mit 10% Elektrodenpuffer)	8.1
2	0.06 M NaOH-0.03 M Borsäure	8.0	0.07 M Tris-0.02 M HCl	8.7
3	0.14 M Tris-0.04 M Zitronensäure	7.8	Verdünnter Elektrodenpuffer (2.5:1)	
4	0.14 M Tris-0.04 M Zitronensäure	7.0	Verdünnter Elektrodenpuffer (2.5:1)	
5	0.14 M Tris-0.04 M Zitronensäure	7.0	0.04 M Tris, 0.001 M EDTA und 0.05 M Histidin HCl	5.7

## **2.2.2. DNA-Analysen**

### **2.2.2.1. Isolierung der DNA aus Samen und Knospen**

Für die DNA-Isolierung aus Knospen und Samen wurde der DNeasy™ Plant Minikit (Qiagen, Hilden) verwendet. Als Lysis-Puffer diente hier ein von Carlson et al. (1991) beschriebener CTAB-Puffer. Nach der Salzpräzipitation der Proteine und Polysaccharide wird die DNA an eine Matrix gebunden und nach zwei Waschschrritten wieder von der Matrix abgelöst. Dieses Verfahren ist zeitsparend und erlaubt einen hohen Probendurchsatz (Csaikl et al. 1998).

### **2.2.2.2. Agarose- und Polyacrylamid (PAA)-Gelelektrophorese**

Die Menge und Qualität der isolierten DNA wurde mit Hilfe der Agarosegel-Elektrophorese bestimmt. Dazu wurden Aliquots der gelösten DNA in 0.8%igen Agarosegelen mit 1 X TAE (40 mM Tris-Acetat pH 7.8, 1 mM EDTA) als Elektrodenpuffer aufgetrennt. Die DNA wurde mit Ethidiumbromid angefärbt und die Gele unter UV-Licht (302 nm) mit einer Digitalkamera fotografiert. Als Mengenstandard wurden 50ng  $\lambda$ -DNA eingesetzt.

Die DNA-Amplifizierungsprodukte wurden nach der PCR ebenfalls mittels Agarosegel-Elektrophorese analysiert, wobei die Agarosekonzentration je nach Größe der Amplifizierungsprodukte zwischen 1.5% und 2.5% variierte. Zur Längenbestimmung der Amplifizierungsprodukte wurden die Längenstandards VI (pBR 328/ *Bgl* I und *Hinf* I geschnitten) und XIV (100bp-Leiter) (Roche, Mannheim) verwendet.

Die Analyse erfolgte mit Hilfe von Polyacrylamidgelen in 8%igen Gelen mit 1 X TBE (90 mM Tris-Borat, pH 8.0, 2 mM EDTA) als Elektrodenpuffer. Die Fragmente wurden mit SYBR-Gold (MoBiTec, Göttingen) angefärbt.

### **2.2.2.3. DNA-Amplifizierung von Mikrosatelliten-Markern**

Die PCR-Amplifizierung erfolgte mit Mikrosatelliten-Primern, die von Tanaka et al. (1999) für *Fagus crenata* und von Pastorelli et al. (2003) für *Fagus sylvatica* L. und *F. orientalis* Lipsky entwickelt wurden. In der folgenden Tabelle sind die angewendeten Primer aufgelistet.

**Tab. 2.7:** Sequenzen der zur Untersuchung eingesetzten Primer und die „Annealingtemperatur“ bei der PCR

<b>Locus</b>	<b>Primersequenz (5'→3')</b>	<b>Annealingtemperatur (°C)</b>	<b>Autor</b>
<i>mfc 2f</i>	ACA ACT AAT CCC ACC AGT CC	62	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 2r</i>	GGC CTA AAG CGA CAA CTC TA		
<i>mfc 3f</i>	TAA TGG GAT GGA GGG TGG AT	55	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 3r</i>	GGA AGA CAA ACA ATG GAA AG		
<i>mfc 4f</i>	ATA AAG CAA CTG AAT AAA GA	52	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 4r</i>	GTC AAG AGA GGG AAG AGA GT		
<i>mfc 5f</i>	ACT GGG ACA AAA AAA CAA AA	58	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 5r</i>	GAA GGA CCA AGG CAC ATA AA		
<i>mfc 7f</i>	AAA ATA CAC TGC CCC CAA AA	60	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 7r</i>	CAG GTT TTG GTT TCT TAC AC		
<i>mfc 9f</i>	TTC CCT CCT CTT CTC TAA AT	55	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 9r</i>	TTA TAC TTC CTC TCT CAT CCC		
<i>mfc 11f</i>	ACA GAT AAA AAC AGA AGC CA	58	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 11r</i>	TTT GGT TTT GTT GAG TTT AG		
<i>mfs 11f</i>	GGGGGTGGTTTCAAGTTTC	55*	Vornam et al. (2003)
<i>mfs 11r</i>	GAAGCCAATTATCACACCAAAAAG		
<i>mfc 12f</i>	ACA CCT CAC AAT CCA CGA AA	56	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 12r</i>	CCC AAT AAC TAA GAA TAC CA		
<i>mfc 13f</i>	GAG AGC AGG ATG GGA TGA AA	55	Tanaka et al. (1999)
<i>mfc 13r</i>	ACA GCA CCT CTC CTT CTC TT		
<b>FS 1_15f</b>	TCA AAC CCA GTA AAT TTC TCA	60	Pastorelli et al. (2003)
<b>FS 1_15r</b>	GCC TCA ATG AAC TCA AAA AC		
<b>FS 1_03f</b>	CAC AGC TTG ACA CAT TCC AAC	60	Pastorelli et al. (2003)
<b>FS 1_03r</b>	TGG TAA AGC ACT TTT TCC CAC T		
<b>FS 1_11f</b>	TGA ATT CAA TCA TTT GAC CAT TC	63	Pastorelli et al. (2003)
<b>FS 1_11r</b>	GGA AGG GTG CTT CAA TTT GG		
<b>FS 3_04f</b>	AGA TGA ACC ACT TCA AAT TC	60	Pastorelli et al. (2003)
<b>FS 3_04r</b>	TCT CCT CAG CAA CAT ACC TC		

\*) neu entwickelter Primer

Das Reaktionsvolumen und die „Annealingtemperatur“ wurden speziell für *Fagus sylvatica* L. optimiert.

**PCR-Reaktionsansatz:**

2 µl „Template“ DNA (5-10 ng)

1.8 µl pro Primer (5pmol) (unmarkiert oder fluoreszenzmarkiert)

1.9 µl H<sub>2</sub>O

7.5 µl Hot Star Master Mix (Qiagen, Hilden)

**Temperaturprofil der Amplifizierungsreaktion:**

95°C für 15 min.

94°C (Tanaka et. al 1999) oder 95°C (Pastorelli et. al 2003) für 1 min.

„annealing Temperatur“ (je nach Primer) für 30 sek.

72°C für 1 min für 30 Zyklen.

72°C für 30 min für den letzten Zyklus.

Die Amplifizierungsprodukte wurden mittels vertikaler Polyacrylamid-Gelelektrophorese und Kapillarelektrophorese analysiert. Für die Kapillarelektrophorese wurden fluoreszenzmarkierte Primer verwendet (6-FAM, HEX).

**2.2.3. Auftrennung und Sequenzierung von Amplifizierungsfragmenten mittels Kapillarelektrophorese**

**2.2.3.1. Probenvorbereitung der Amplifizierungsprodukte für die Kapillarelektrophorese**

Die PCR-Produkte wurden in den meisten Fällen 1:400 verdünnt. Zu 2 µl dieser Verdünnung wurden 12 µl Hi-Di Formamid gegeben. Die Proben wurden bei 95°C für 2 Minuten denaturiert und auf Eis gestellt. Alle Proben enthielten GS 500 ROX als internen Standard.

**2.2.3.2. Extraktion der DNA aus Agarosegelen**

Nach der Amplifizierung und Elektrophorese wurden die angefärbten DNA-Fragmente aus dem Gel ausgeschnitten. Die DNA wurde mit Hilfe des QIAEX<sup>®</sup> II Gel-Extraktions-Kits (Qiagen, Hilden) extrahiert. Die Vorgehensweise entsprach den Angaben des Herstellers. Die so extrahierte DNA wurde direkt zur Sequenzierung eingesetzt.

### 2.2.3.3. Sequenzierung

Die Sequenzierungsreaktion wurde mit dem Big Dye<sup>®</sup> Terminator v.3.1. Cycles Sequencing Kit (Applied Biosystems) durchgeführt.

#### Reaktionsansatz:

„Ready Reaction Premix(2,5X)“ (enthält dNTPs, ddNTPs Terminatoren, Polymerase)	2 µl
BigDye SequencingBuffer(5X)	1 µl
DNA-Template	10-100 ng
Primer (nur für eine Richtung)	1,6 pmol
Wasser (HPLC-H <sub>2</sub> O) auffüllen bis	10 µl

#### Thermocycler Protokoll (25 Zyklen):

96°C	10 sec
45° - 60°C	10 sec
60°C	4 min

Die amplifizierte DNA-Fragmente wurden mit Hilfe einer Ethanol-fällung konzentriert und gereinigt.

#### Reaktionsansatz für die Ethanol-fällung:

Nach der Amplifizierung wurden zum Reaktionsansatz 40 µl H<sub>2</sub>O, 5 µl 3 M NaAC pH 4,6 und 150 µl 100% EtOH gegeben und bei 25 min und 13.000 rpm zentrifugiert.

Nach der vorsichtigen Entfernung von EtOH wurde das Pellet mit 125 µl 80% EtOH gewaschen und 10 min bei max rpm zentrifugiert. Nachdem erneut das EtOH vorsichtig entfernt wurde, konnte das Pellet 30-45 min auf dem Peltier Thermal Cycler (PTC-0200 version 4.0, MJ Research) bei 50°C getrocknet werden.

Nach der Zugabe von 15 µl HPLC-H<sub>2</sub>O (Merck) wurde 5 min bei Raumtemperatur inkubiert und die Proben für die Kapillarelektrophorese vorbereitet.

### 2.2.3.4 Sequenzvergleich

Die Analyse und das Editieren der Sequenzen erfolgte mit dem Programm „DNA Sequencing analysis software 3.7 (Applied Biosystems). Das „Alignment“ der Sequenzen wurden mit dem Programm „Clustal W multiple alignment“ (Thompson et al 1994) durchgeführt.

### 2.2.3.5. Optimierung eines neuen Mikrosatelliten-Markers

Für den Locus *mfc* 11 wurden mit Hilfe des Programms Primer 3 von Steve Rozen und dem Whitehead Institute / MIT Center for Genome Research ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3\\_www.cgi](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi)) neue Primer entwickelt. Die Primer wurden auf die Bildung von „self-annealing“, Dimer- und Haarnadelstrukturen hin getestet.

## 2.3. Analyse der erhobenen Daten

### 2.3.1. Populationsgenetische Parameter

Die genetische Variation in den Eckern und in der Naturverjüngung wurde durch die genetische Diversität und die Heterozygotie charakterisiert. Die folgenden Maße wurden für Isoenzym- und Mikrosatelliten-Genloci berechnet (Hattemer et al. 1993):

Die allelische Diversität  $v_{(A)}$  an einem bestimmten Genort A charakterisiert die „effektive“ Anzahl der Allele und berechnet sich wie folgt:

$$v_{(A)} = \frac{1}{\sum_i p_{i(A)}^2} \quad \text{mit } p_{i(A)} := \text{relative Häufigkeit des } i\text{-ten Allels am Genort A .}$$

Die mittlere effektive Anzahl von Allelen kann man auch über mehrere Genorte hinweg beschreiben. Die effektive Anzahl von Genen des „Genbestands“ ergibt sich aus dem harmonischen Mittel der Werte an den einzelnen Genorten. Es gilt also:

$$\bar{v} = \left( \frac{1}{m} \sum_A \frac{1}{v_{(A)}} \right)^{-1} \quad \text{mit Summation über die Genloci und } m := \text{Anzahl der untersuchten}$$

Genloci.

Die beobachtete Heterozygotie  $H_o$  an einem Genort A entspricht dem Anteil der Heterozygoten. Es gilt:

$$H_{o(A)} = \sum_j \sum_{i < j} P_{ij(A)} = 1 - \sum_i P_{ii(A)} \quad , \quad \text{wo die } P_{ij} (i \leq j) \text{ die relative Häufigkeit der}$$

(ungeordneten) Träger von  $A_i$  und  $A_j$  bezeichnen.

Die mittlere beobachtete Heterozygotie über mehrere ( $m$ ) Genorte ergibt sich als einfaches arithmetisches Mittel:

$$\overline{H_o} = \frac{\sum H_{o(A)}}{m}$$

## 2.3.2 Elternschaftsanalysen

Elternschaftsanalysen wurden für die Naturverjüngung der einbezogenen Abteilungen und für die Samen ausgewählter Bäume (Bäume 9 und 95 der Abt. 3100c und die isolierte Buche der Abt. 62) sowie für die vom Boden gesammelten Samen eines Teilbereiches der Abteilung 3100c (nördlicher Bereich) durchgeführt.

Die Elternschaftsanalysen wurden nach dem Ausschlussprinzip durchgeführt. Man bestimmt die Genotypen von Nachkommen und potenziellen Eltern an allen verfügbaren Genloci. Aus dem Vergleich wird auf den möglichen Beitrag des Samenernters und eines möglichen Samenernters zurückgeschlossen. Anschließend wird überprüft, welcher der Bäume als Pollenernter zur Kombination von Nachkomme und Samenernter in Frage kommt (Ellegrand 1984, Jones und Arderen 2003). Die Effektivität dieser Analyse ist abhängig von der Anzahl verschiedener Genotypen in der untersuchten Population und dem Ausmaß nutzbarer genetischer Variation (Brown et al 1989).

## 2.3.3. Berechnung zusätzlicher Parameter

### 2.3.3.1 In der Abteilung 3100c

Für die beiden Parameter  $v_2$  und  $H_o$  und die Häufigkeit der Allelvarianten LAP-A<sub>4</sub>, PGM-A<sub>2</sub>, IDH-A<sub>2</sub>, 6PGDH-A<sub>3</sub>, und MDH-B<sub>4</sub> wurde deren räumliche Verteilung in der Bestandesfläche der Abteilung 3100c mit dem Programm GS+ Geostatistics for the Environmental Sciences, Version 5.3.2 dargestellt. In den Einstellungen wurden in der Regel ein Gitterpunktabstand von jeweils einem Meter sowie die Berücksichtigung von 16 Nachbarn und ein Suchradius von 142 Metern gewählt.

Für die Probekreise erfolgte unter der Annahme eines panmiktischen Reproduktionssystems die Ermittlung der zugehörigen Werte für Diversität und Heterozygotie, wobei:

- die Abstammung aller Eckern eines Probekreises vom zugehörigen Altbaum,
- die reguläre Segregation der Samen- und Polleneltern an den einbezogenen Genloci und
- Zufallsbefruchtung durch Pollen aus einer Pollenwolke vorausgesetzt wurde, zu der alle Altbäume gleichmäßig beitragen, zu erwarten wäre.

#### **2.3.4. Computergestützte Analyse der erhobenen Daten**

Die Berechnung der genetischen Strukturen und deren genetischen Parameter erfolgte mit Hilfe des Programmsystems GSED (Gillet 1994) und GENALEX (Peakall und Smouse 2001, siehe: <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEX/GenALEXGuideV5.pdf>).

Für die Abteilung 3100c wurden mit den Mikrosatelliten-Markern *mfc 5* und *mfs 11* Distogramme für die räumliche Struktur der Altbäume erzeugt. Die Darstellungen basierten auf dem Programm Spatial Genetic Software (SGS) Version 1.0c (Degen et. al 2001) auf der Basis des genetischen Abstandes nach Gregorius (1978).

Die Werte für Moran's I (Moran 1950) wurde über eine modifizierte Funktion des R-Computerprogramms für Windows (The R Development Core Team 2003) Paket „spdep“ von Bivand (2003) (<http://www.r-project.org/>) berechnet. Die Kodierung der Daten geschah so, dass den einzelnen Bäumen Allelfrequenzwerte von 0, 0,5 oder von 1 für jedes Allel an jedem Locus zugewiesen wurden. Eine detaillierte Beschreibung der Analyse ist bei Streiff et al. (1998) zu finden.

In beiden Programmen wurde die statistische Bedeutung beider räumlicher Autokorrelationsparameter durch die Anwendung einer Permutationsanalyse überprüft, um strukturierte Verteilungen der errechneten Parameter zu erkennen. Es wurden jeweils 1000 Permutationen durchgeführt.

Um die hier gewonnenen Daten für die Abstammungsanalyse zu verarbeiten, ist das Computerprogramm „ABSTAMMUNG“ entwickelt worden. Dafür wurde mit Hilfe der Computersprache „Pascal“ das Programm „Delphi“ (Version 5 Professional) so genutzt, dass es möglich ist, in einfacher Form das Ausschlussprinzip anzuwenden. Die Dateien etwa der Isoenzyme, Mikrosatelliten oder Baumkoordinaten werden hier in getrennter Form eingefügt, um die Abstammung der einzelnen Individuen oder auch Individuengruppen von möglichen

Pollen- oder Sameneltern zu berechnen. Dabei spielt es keine Rolle, ob es sich um einzelne oder gruppierte Samen, Jungwuchs, Einzelbäume oder Baumgruppen handelt. Man muss allerdings beachten, dass mit dieser Methode der Anteil der nicht von einem hypothetischen Samenelter abstammenden Individuen unterschätzt und der Anteil der aus Selbstbefruchtung hervorgegangenen Individuen überschätzt werden kann (Gregorius 1991).

## 3 ERGEBNISSE

### 3.1 Entwicklung und Anwendung von Mikrosatelliten-Markern

#### 3.1.1 Mikrosatelliten für *Fagus crenata* und *F. japonica*

Drei der neun für *Fagus crenata* entwickelten Primer (Tanaka et al. 1999) erzeugten auch hier polymorphe Amplifizierungsprodukte mit einer unterschiedlichen Anzahl von Allelen für die jeweiligen Genorte. Die angewendeten Mikrosatelliten-Marker zeigten insgesamt eine hohe Variation. Bei *Fagus sylvatica* L. wurden für den Locus *mfc* 5 23 Allele (Abb. 3.1), für den neu entwickelten Locus *mfs* 11 9 Allele und für den Locus *mfc* 9-2 5 Allele gefunden. Die Loci *mfc* 2, 4 und 7 produzierten ein Multilocus-Bandenmuster und die Primer-Paare *mfc* 3, 12 und 13 lieferten kein Amplifizierungsprodukt. Am Genort *mfc* 9-2 zeigten die Altbäume der Abteilung 3100c einen unerwartet hohen Homozygotenanteil, der das Vorhandensein von Nullallelen vermuten lässt. Für die Elternschaftsanalyse wurde daher dieser Locus nicht in Betracht gezogen.

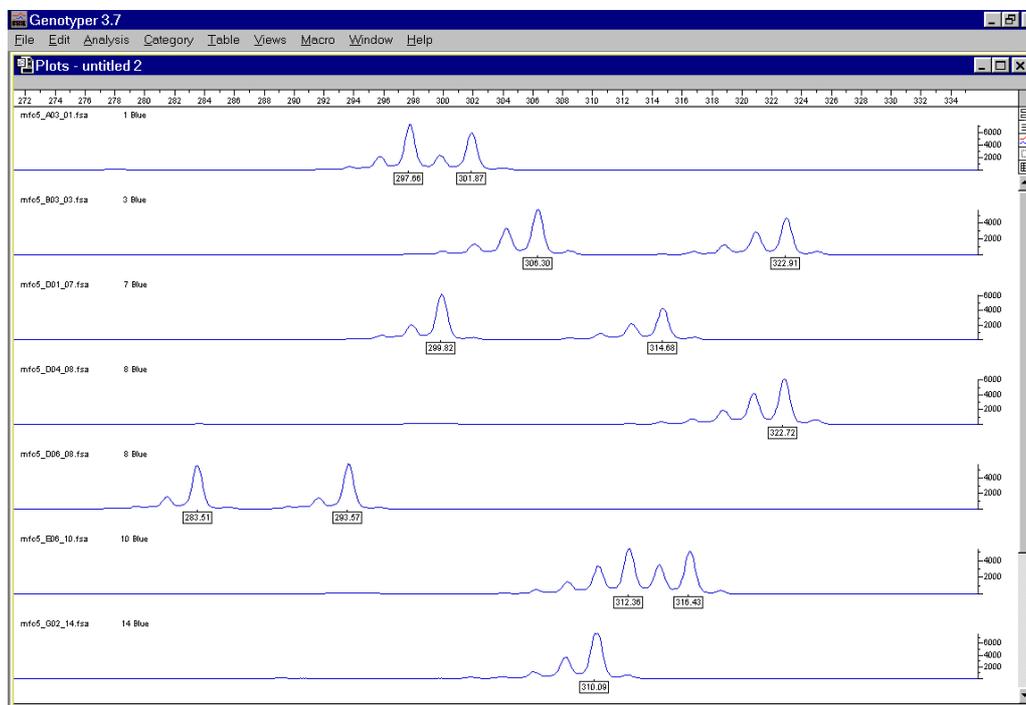
Im Vergleich sind die Werte für die mittlere Heterozygotie an *mfc* 5 niedriger als die in *Fagus crenata* und *F. japonica* gezeigten. Tanaka et al. (1999) beobachteten für diese Variable 0,84 beziehungsweise 0,87. In der vorliegenden Arbeit erreicht die Heterozygotie den Wert 0,60. Für den hier entwickelten Mikrosatelliten-Marker *mfs* 11 ergibt sich kein Unterschied zur Heterozygotie von *mfc* 11 für *F. crenata*. Der Wert liegt im Fall von *F. japonica* höher. Von den drei untersuchten Primern ergab der Primer FS 3\_04 von Pastorelli et al. (2003) den niedrigsten Wert.

##### 3.1.1.1 Sequenzierung der Amplifizierungsprodukte

Die Sequenzierung der amplifizierten SSR-Loci in *Fagus sylvatica* L. erlaubte eine Überprüfung der Wiederholungseinheit der identifizierten Allele für die drei Primerpaare *mfc* 5, *mfc* 9-2 und *mfc* 11. Der Unterschied zwischen den Basenpaaren eines bestimmten Allels sollte dabei mit dem Unterschied der repetitiven Sequenzen übereinstimmen (Tab. 3.1). So liefert z. B. das Primerpaar für den Genort *mfc* 5 Allele mit einer Größe von 282 bp und 300 bp und entsprechend der Wiederholungseinheit wurden neun weitere Allele zwischen diesen beiden Allelen identifiziert.

**Tab. 3.1:** Anzahl der Basenpaare und Beschreibung der repetitiven Sequenz der Mikrosatelliten

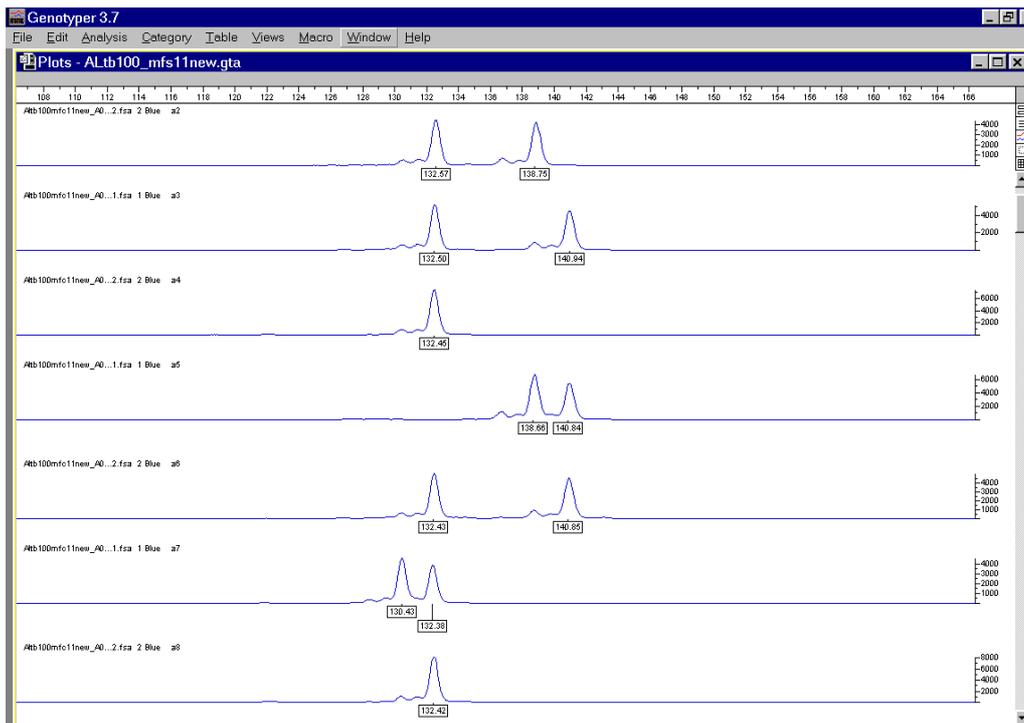
Mikrosatelliten	Anzahl der Basenpaare	repetitive Sequenz
<i>mfc 5</i>	282bp	(CT) <sub>15</sub>
	300bp	(CT) <sub>6</sub> TT (CT) <sub>17</sub>
	321bp	(CT) <sub>6</sub> TT (CT) <sub>26</sub> C
<i>mfc 9-2</i>	182bp	(CT) <sub>5</sub>
	196bp	(CT) <sub>10</sub>
	199bp	(CT) <sub>11</sub> C
<i>mfc 11</i>	319bp	(CT) <sub>10</sub>
	325bp	(CT) <sub>13</sub>
	327bp	(CT) <sub>14</sub>



**Abb. 3.1:** Beispiele der Amplifizierungsprodukte für das Primerpaar *mfc 5* in den sieben ausgewählten Altbäumen der Abteilung 3100c

Die Sequenzierung der Amplifizierungsprodukte (Abb. 3.2) für den Locus *mfc 11* erlaubte es, einen spezifischen Mikrosatelliten-Primer für *Fagus sylvatica* L. zu entwickeln. Der Locus wurde mit *mfs 11* bezeichnet. Mit Hilfe dieses neuen Primerpaares (*mfs 11*) (Abb.3.3) konnten in der Abteilung 3100c von den 54 mit *mfc 11* als homozygote Individuen klassifizierten (mit der Anwendung von) Altbäumen 20 Individuen als unter *mfs 11* Heterozygote reklassifiziert werden.

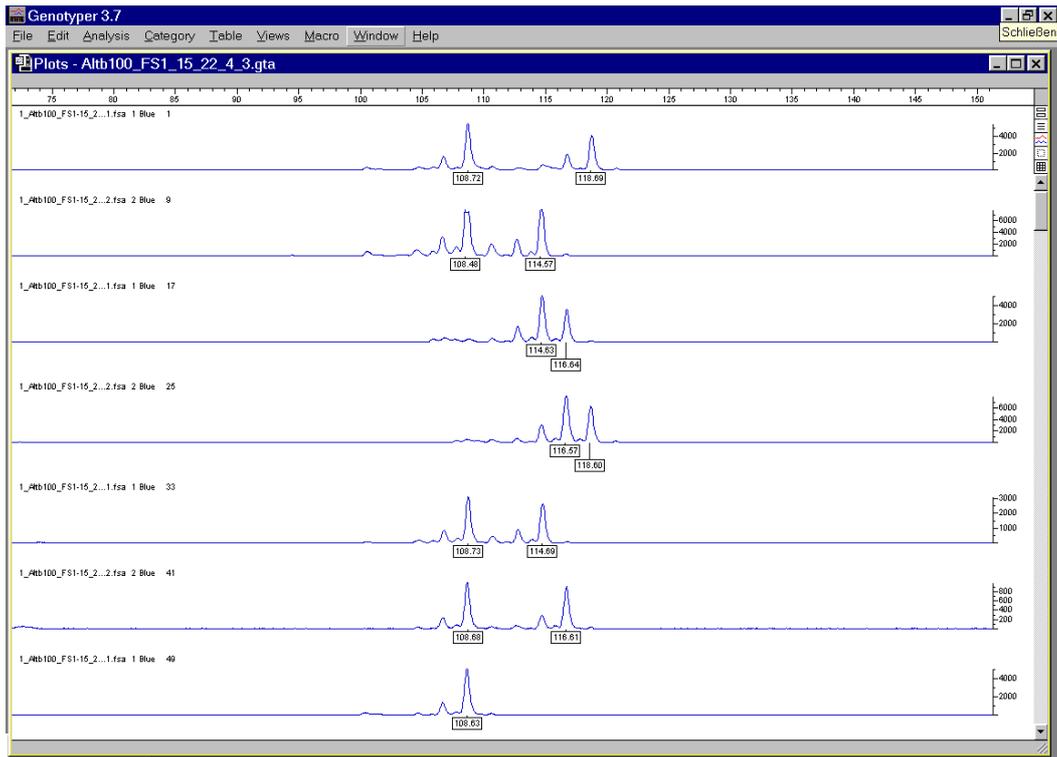




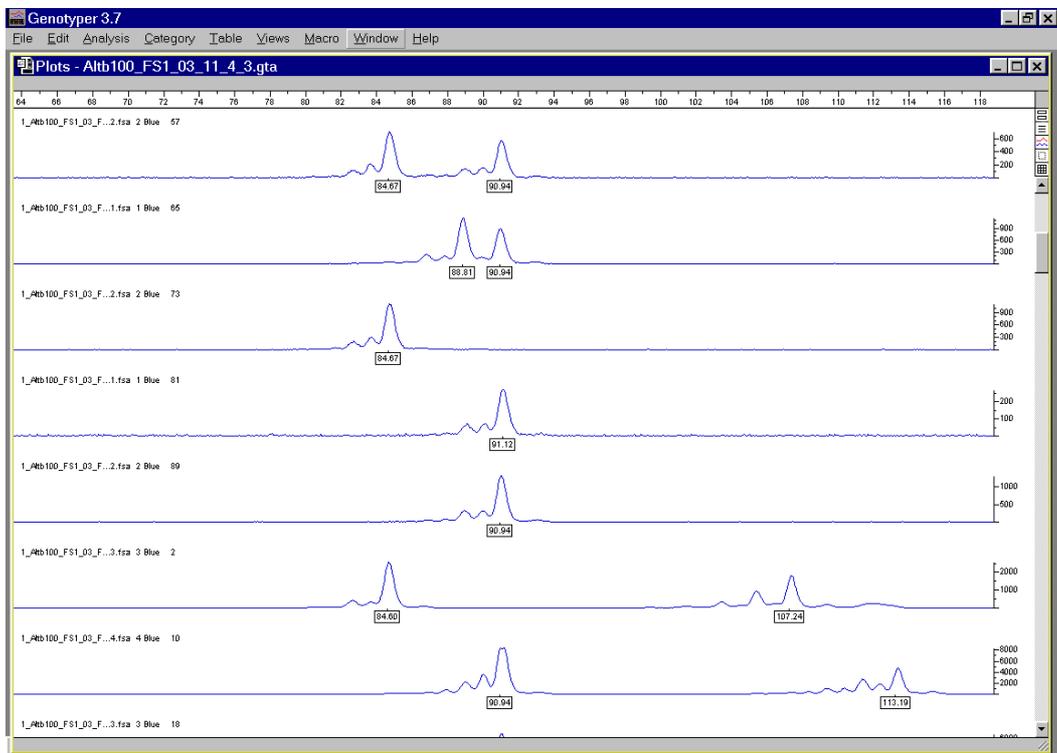
**Abb. 3.3:** Amplifizierungsprodukte für das Primerpaar *mfs* 11 der DNA der sieben ausgewählten Altbäume aus der Abt. 3100c

### 3.1.2 Mikrosatelliten-Marker für *Fagus sylvatica* L. und *F. orientalis*

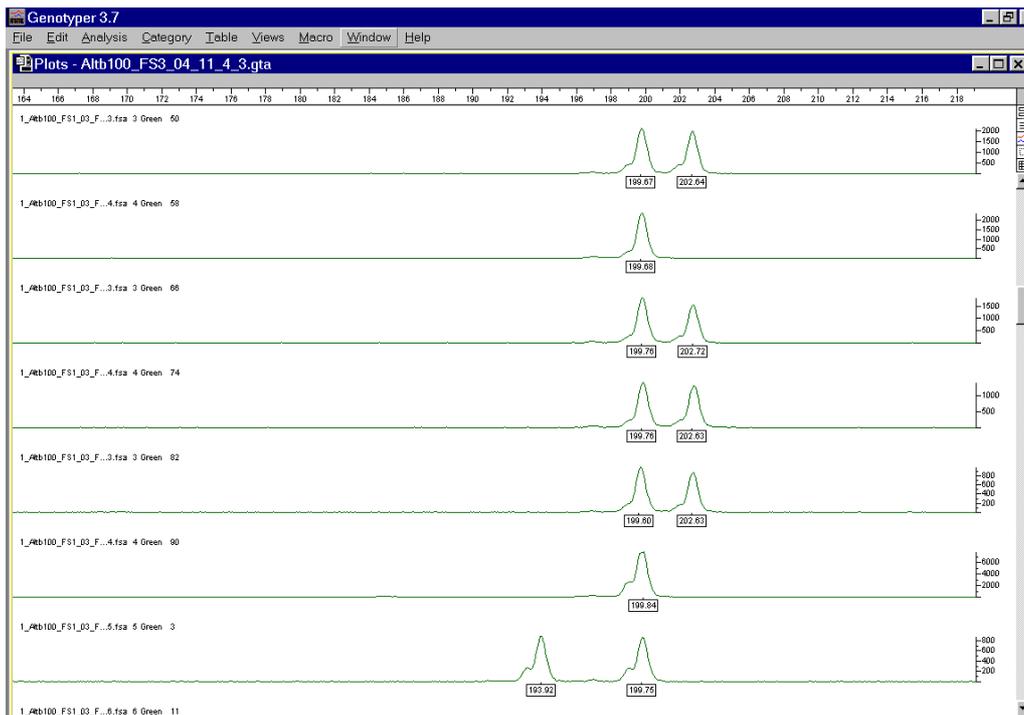
Es wurden die von Pastorelli et al. (2003) für *Fagus sylvatica* L. und *F. orientalis* entwickelten Primerpaare benutzt. Die Auswahl bezog nur solche Primerpaare ein, die Mendel-Segregation zeigten und offensichtlich keine Nullallele aufwiesen. Die vier ausgewählten Primerpaare wurden analog zu Pastorelli et al. (2003) mit FS 1\_15 (Abb. 3.4), FS 1\_03 (Abb. 3.5), FS 1\_11 und FS 3\_04 (Abb. 3.6) bezeichnet. Die PCR-Amplifizierung erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie von Pastorelli et al. (2003) beschrieben.



**Abb. 3.4:** Amplifizierungsprodukte für sieben ausgewählte Altbäume der Abt. 3100c mit dem Primerpaar FS 1\_15



**Abb. 3.5:** Amplifizierungsprodukte für sieben ausgewählte Altbäume der Abt. 3100c mit dem Primerpaar FS 1\_03



**Abb. 3.6:** Amplifizierungsprodukte für sieben ausgewählte Altbäume der Abt. 3100c mit dem Primerpaar FS 3\_04

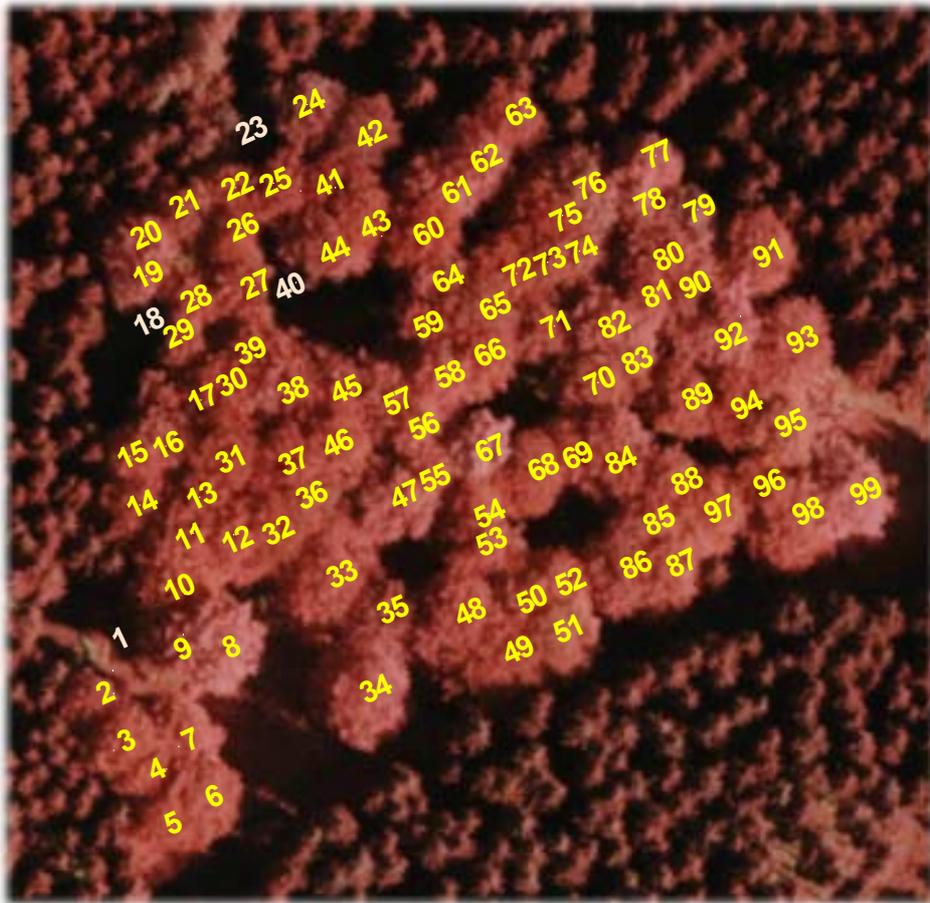
### 3.1.3 Allgemeine Betrachtung zur untersuchten Versuchsfläche

Innerhalb der Abteilung 1083 des FoA Eschershausen lagen die Stichprobenumfänge der unmittelbar benachbarten Altbäume zu den jeweiligen Verjüngungsflächen nicht konstant vor. Die Stichprobennahme hat besonders bei kleinen Stichprobengrößen (Ziehe et al. 1998) Einfluss auf die gefundene genetische Variation. Beispielsweise wurden für die Versuchsfläche B5 lediglich drei Altbäume und für die Versuchsfläche *Div3* sieben Altbäume beprobt.

Die Verteilung von Jungwuchs innerhalb der Versuchsfläche und das unterschiedliche Alter der gewonnenen Proben könnte auch eine besondere Rolle für die berechneten Werte spielen. Die gesammelten Jungwuchsproben stammen nicht notwendigerweise von Eckern und Keimlingen desselben Jahrgangs.

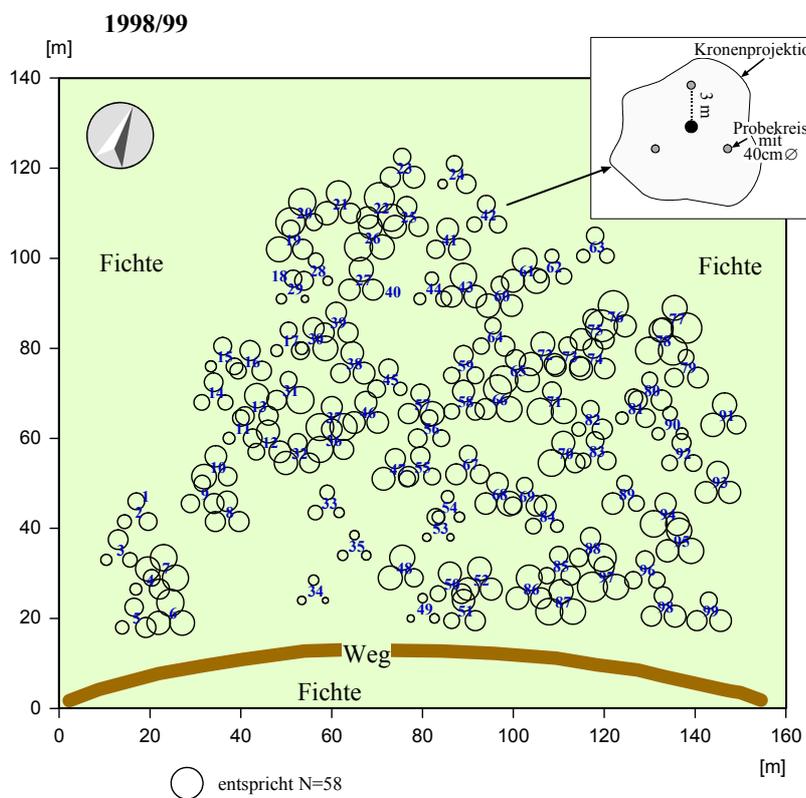
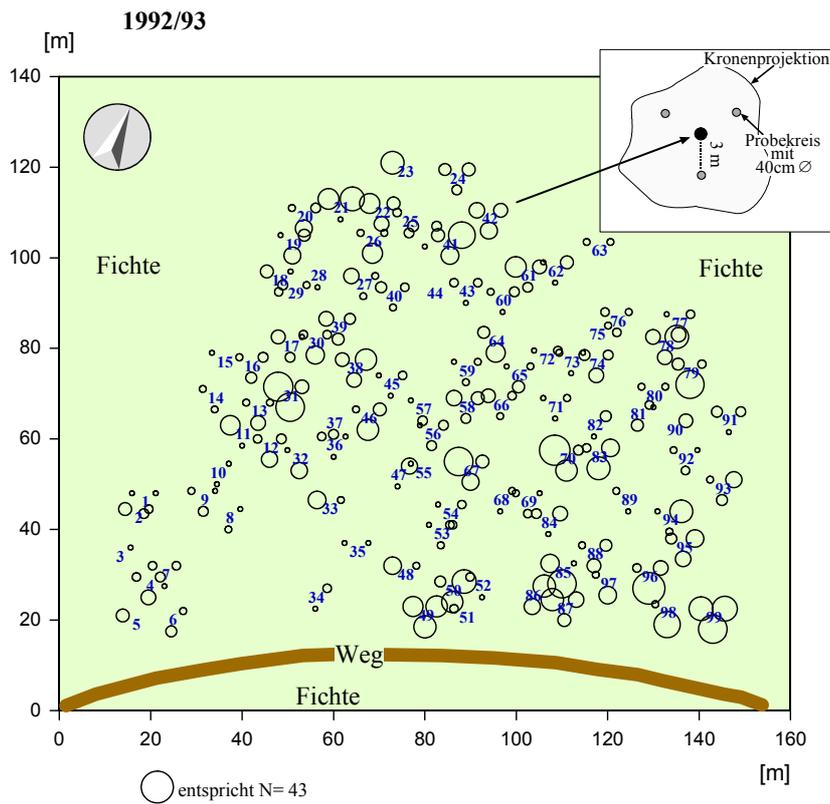
Die Jungwuchspflanzen innerhalb der Versuchsflächen dürfte unterschiedlichen Selektionsprozessen ausgesetzt gewesen sein. Für die Versuchsfläche J2 in der Abteilung 3100c (Südlücke Südteil 2) sind beispielsweise die Bodeneigenschaften nicht homogen. Der dem Baum 33 nächstgelegene Jungwuchs könnte zudem mehr Schatten bekommen haben als die Naturverjüngung im mittleren Bereich der Versuchsfläche (vgl. Abb. 2.1).

### 3.2 Ergebnisse der Abteilung 3100c



**Abb. 3.7:** Luftbild der Abteilung 3100c des FoA Dassel im Solling mit eingetragenen Baumnummern in den Kronenbereichen der Buchen. Die Altbuchen mit den Nummern 1, 18, 23 und 40 waren zum Zeitpunkt der Luftaufnahme bereits ausgefallen. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Buchenfläche von Fichten eingeschlossen ist.

Die Kronenüberlappung ist in manchen Bereichen der Abteilung 3100c deutlich zu erkennen (Abb. 3.7). Diese Situation könnte insbesondere für die nordwestlichen, nordöstlichen und südlichen Bereiche die besonderen Ergebnisse der Abstammungsrekonstruktion der untersuchten Eckern, die auf dem Boden gesammelt wurden, erklären. Das Vorhandensein von Lücken dürfte auch den Pollenflug beeinflussen.



**Abb. 3.8:** Darstellung der räumlichen Verteilung der Eckernstichproben: Die Nummern bezeichnen Positionen der Altbuchen, die grünen Kreise die Probekreise der Eckern, wobei die Kreisfläche proportional zur Anzahl untersuchter Eckern gewählt wurde. Der obere Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der untere auf 1998/99.

### **3.2.1. Räumliche Verteilung der genetischen Strukturen in der Abt. 3100c**

Die Menge der geernteten Samen war während der beiden Reproduktionsperioden unterschiedlich. In der zweiten Periode wurden 300% mehr Eckern gesammelt als in der ersten Periode. Die Verteilung der Eckern innerhalb der Kreisstichproben war zudem 1992/93 sehr ungleichmäßig. Im südwestlichen Bereich wurde eine besonders kleine Anzahl von Eckern innerhalb der Kreisstichproben beobachtet (Abb. 3.8). Im südöstlichen Sektor war dieses anders; hier wurden in den beiden Jahrgängen vergleichsweise viele Eckern beobachtet. In der zweiten Reproduktionsperiode lag allerdings insgesamt eine ähnlich hohe Anzahl von Eckern je Probekreis vor.

Die genetischen Strukturen zeigten im Ausmaß genetischer Variation für beide Reproduktionsperioden ebenfalls Ähnlichkeiten; im südöstlichen Sektor wurden immer die höhere Variation gemessen. Es ist hervorzuheben, dass auch die Genbestandsdiversität und die mittlere Heterozygotie in der ersten Reproduktionsperiode viel ungleichmäßiger verteilt sind, in der zweiten Reproduktionsperiode war an die räumlichen Verteilungen weit homogener (Abb.3.10 und 3.11).

Obwohl die genetische Ausstattung der Eckern über beide Jahrgänge räumlich variabel vorliegen, bleiben einige der gebildeten Muster in beiden Reproduktionsperioden durchaus unverändert. Dieser Effekt ist nicht allein auf die genetische Ausstattung der Altbuchen zurückzuführen, sondern es zeigen sich auch in der flächigen Verteilung der Strukturparameter deutliche Abweichungen von panmiktischen Reproduktionsverhältnissen.

Die als panmiktisch beschriebenen Verhältnisse berücksichtigen die räumliche Verteilung der Samenernter und dort vorliegende räumliche Autokorrelationen. Abweichungen von diesen Verhältnissen gibt es im südwestlichen und südöstlichen Bereich; im ersteren Bereich erwartet man unter der genannten Annahme eine größere genetische Diversität als die beobachtete. Das Gegenteil ist im südöstlichen Bereich zu erkennen, wo eine deutlich höhere Genbestandsdiversität in den Kreisstichproben festgestellt wurde (Abb. 3.12).

Die Richtung und Stärke des vorherrschenden Windes dürfte eine wichtige Rolle für diese Resultate spielen. Die vorherrschende Windrichtung (Nordwest), die die Hauptrichtung des Genflusses über die Pollen- und Samenverbreitung vorgibt, könnte die größere genetische Diversität im südöstlichen Bereich erklären.

In der ersten untersuchten Reproduktionsperiode war die Verteilung in der Anzahl der Eckern je Kreisstichprobe ungleichmäßig (im südöstlichen Bereich gab es eine größere Menge

Eckern als im südwestlichen Bereich). Für die zweite Periode kann man vermuten, dass die Menge der Altbäume, die an der Reproduktion teilgenommen haben, deutlich größer war als in der Periode 1992/93. Dieses verursacht möglicherweise eine Situation mit einer gleichmäßigere Reproduktion und damit homogeneren räumlichen Verteilung in den genetischen Strukturen.

Eine positive Korrelation zwischen der Anzahl Eckern je Kreisstichprobe und der genetischen Diversität wurde für 1992/93 festgestellt. Dabei gilt allerdings in erster Linie für relativ kleine Anzahlen an Eckern pro Kreisstichprobe: Je größer die Anzahl der Eckern, desto größer ist die genetische Diversität und auch die Streuung ihrer Werte. Sie stabilisiert sich bei höheren Anzahlen an Eckern je Kreisfläche auf eine Diversität ( $v_2$ ) im Genbestand von 1,53 (Abb. 3.13 und 3.14).

Für die mittlere Heterozygotie ist das Bild etwas anders. Die mittlere Heterozygotie der Abteilung 3100c erscheint weitgehend unabhängig von der Anzahl der Eckern je Kreisstichprobe. Der mittlere Wert liegt bei ca. 0,33. Die Streuung der Werte verringert sich mit der Zunahme der Anzahl an Eckern je Kreisstichprobe (Abbildungen 3.15 und 3.16). Es wird aus diesen Abbildungen offensichtlich, dass man für brauchbare Schätzungen dieser Variablen mindestens 30 bis 40 Eckern pro Kreisstichprobe benötigt. Einzelheiten zur linearen Regression in den Abbildungen 3.14 bis 3.16 sind nicht weiter ausgeführt. Die Regressionsgeraden dienen nur der groben Orientierung. Ein Ansatz nicht linearer Regression wäre angesichts des ganz offensichtlich fehlenden Zusammenhangs insbesondere im Jahrgang 1998/99 nicht angemessen.

### **3.2.2. Fremdpollenflug (bei Windeinfluss)**

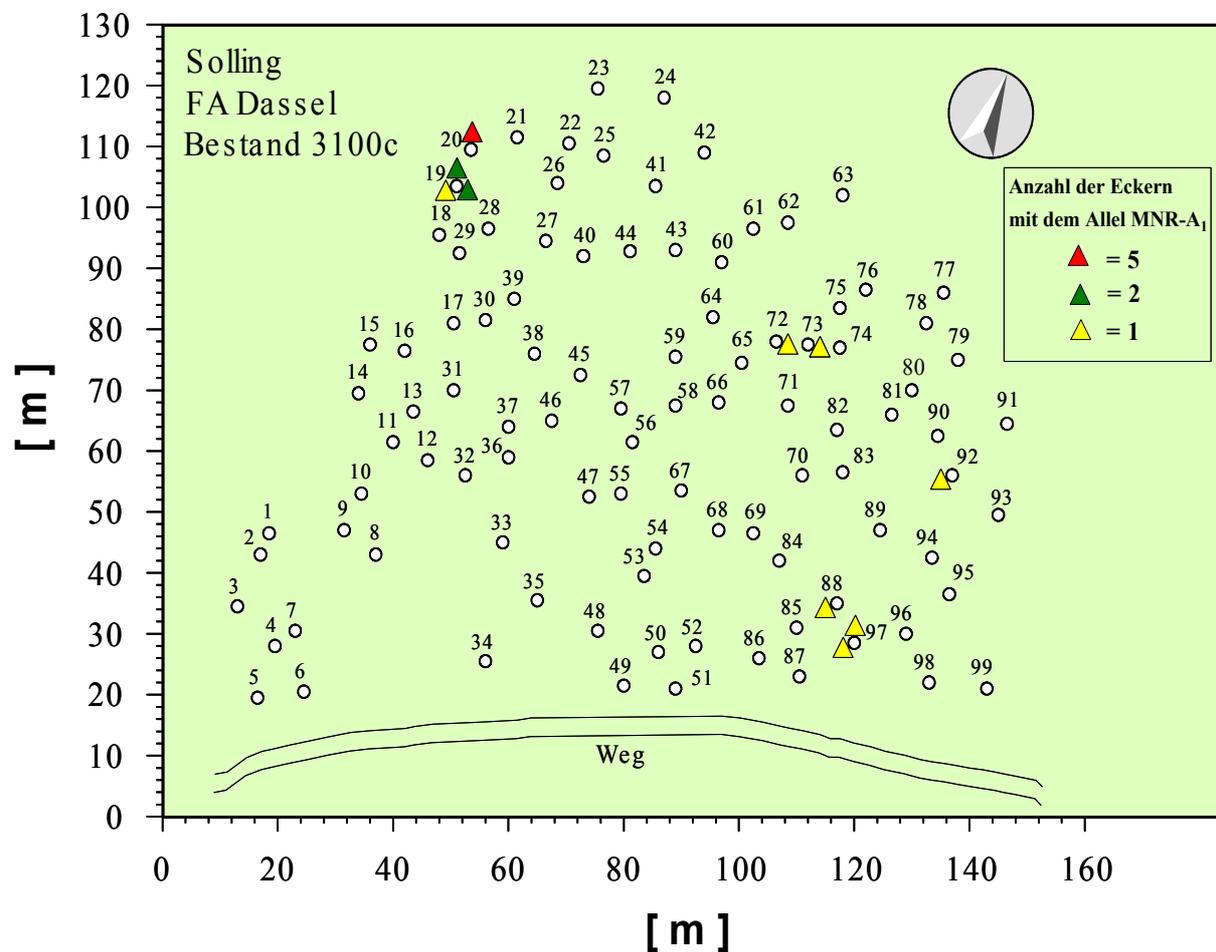
Innerhalb der Kreisstichproben wurden insbesondere im Jahrgang 1998/99 Allele gefunden, die nicht in der genetischen Ausstattung der Altbäume der Abteilung vorliegen. Besondere Bedeutung haben hier die folgenden Allele: MNR-A<sub>1</sub>, MNR-A<sub>4</sub> und LAP-A<sub>1</sub>.

Der vermutete Einfluss der vorwiegend nordwestlichen Windrichtung wurde anhand der Allelvariante MNR-A<sub>1</sub> überprüft. Obwohl diese nicht in der genetischen Ausstattung der Altbäume auftrat, konnte sie in den untersuchten Eckern einiger Kreisstichproben nachgewiesen werden. Das Allel MNR-A<sub>1</sub> wurde verstärkt im nordwestlichen Randbereich des Bestandes in den Kreisstichproben 20N (5 Eckern), 19N (2 Eckern) und 19L (2 Eckern) gefunden. Im mittleren Bereich wurden für die Kreisstichproben 72L und 97L je eine Ecker

beobachtet. Am südwestlichen Bestandesrand wurde je eine Ecker mit MNR-A<sub>1</sub> in den Kreisstichproben 92L, 88L und 97N registriert (Abb. 3.9 und Anhang I).

In allen Kreisstichproben kamen insgesamt 101 Eckern mit der Variante MNR-A<sub>4</sub> vor. Die meisten davon (90 Eckern) wurden im nördlichen Bereich erfasst und eine beträchtliche Anzahl (14 Eckern) fand sich in der nördlichen Kreisstichprobe des Baumes 6 (s. Anhang I).

Die Allelvariante LAP-A<sub>1</sub> wurde insgesamt in 16 Eckern angetroffen. Die Verteilung der Eckern mit diesem Allel (Anhang I) kann in diesem Fall nicht plausibel durch eine Verdriftung mit einer vorherrschenden Windrichtung erklärt werden. Dazu müssten genauere Untersuchungen angeschlossen werden.

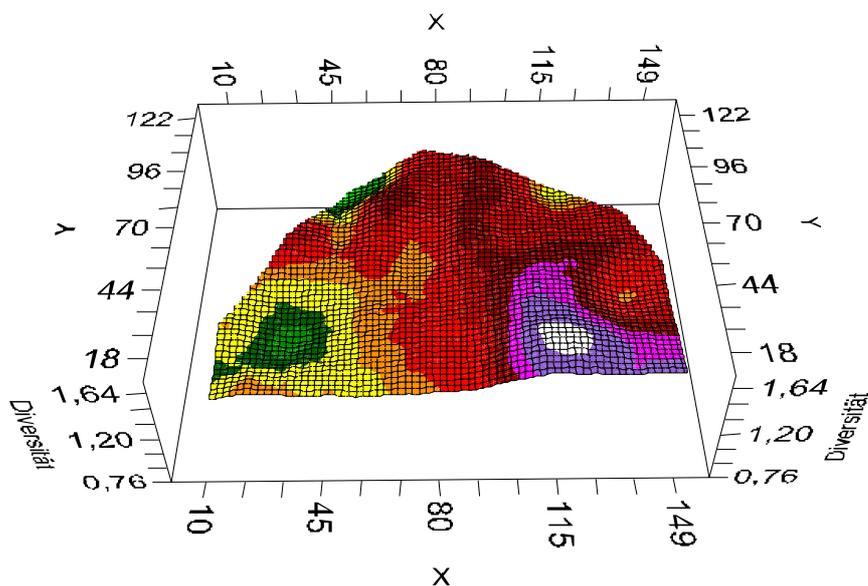
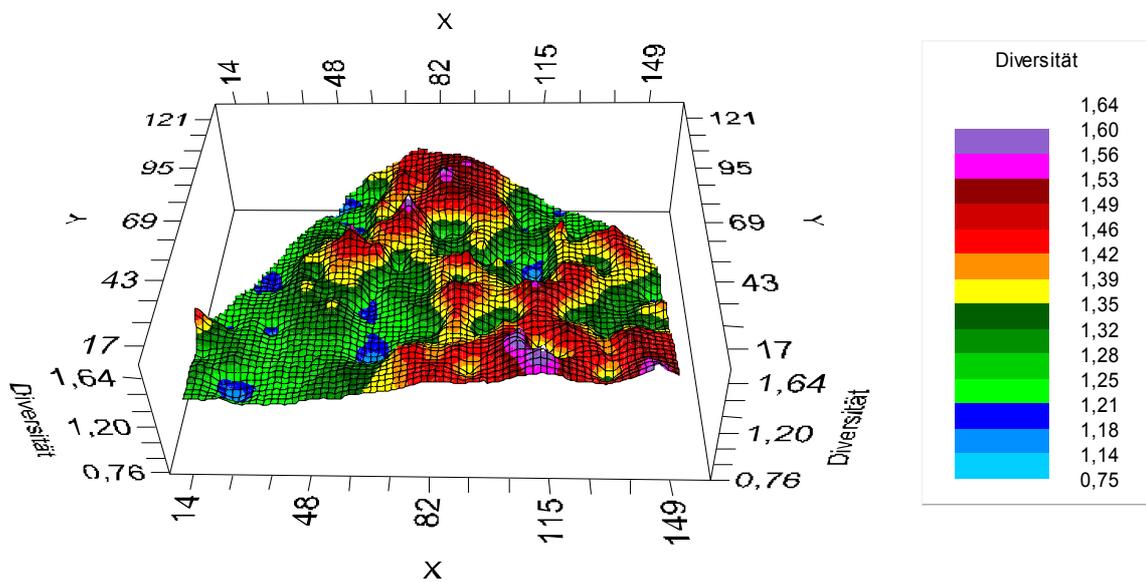


**Abb. 3.9:** Anzahl der Eckern mit dem Allel MNR-A<sub>1</sub> innerhalb der Kreisstichproben für den Jahrgang 1998/99

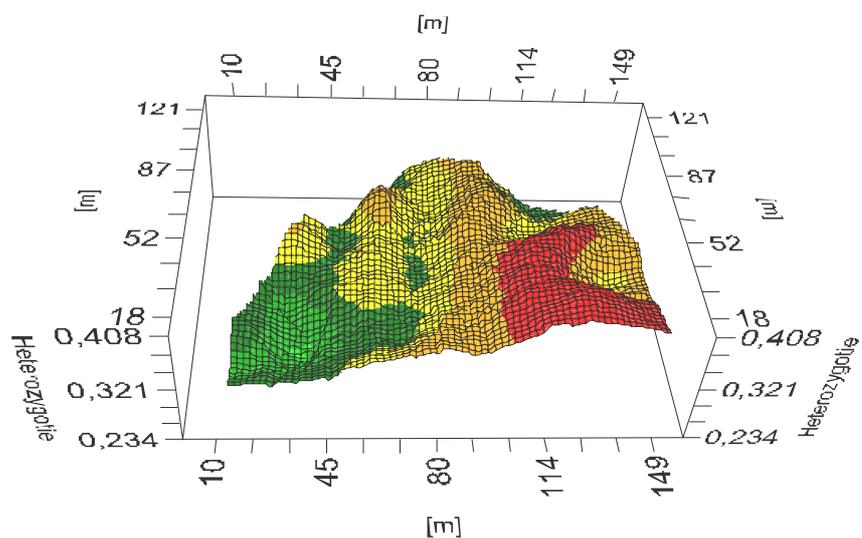
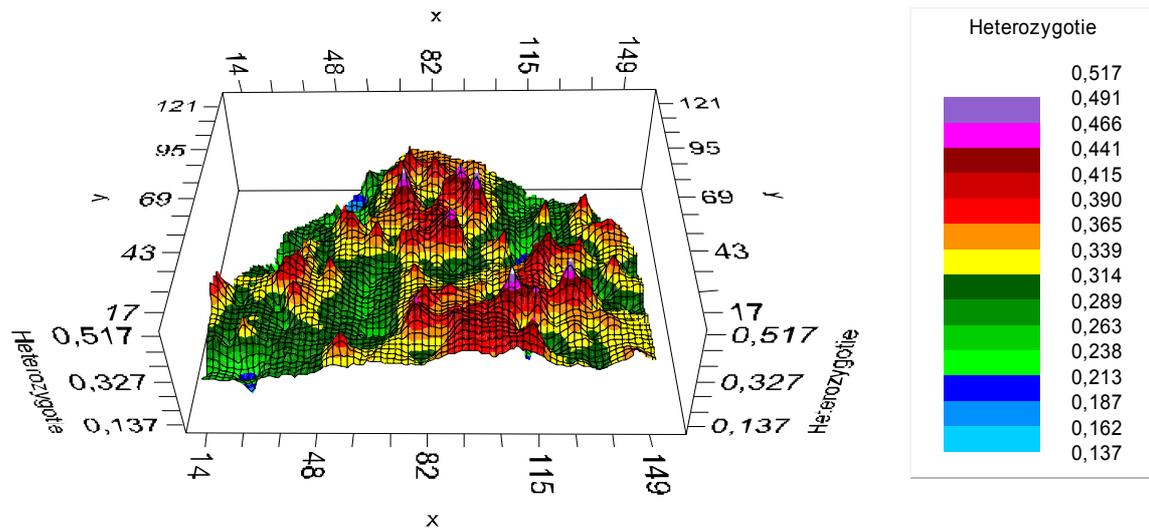
Wenn man die drei Enzymgenloci zusammen betrachtet (s. Anhang I), kann man keine eindeutige Richtung des Fremdpolleneinfluges erkennen.

### **3.2.3. Räumliche Verteilungen der Häufigkeiten von verschiedenen Allelvarianten**

Der südöstliche Bereich weist in den beiden Jahrgängen jeweils die höheren relativen Häufigkeiten für die adaptiv als vorteilhaft eingestufteten Allelvarianten IDH-A<sub>2</sub>, PGM-A<sub>2</sub>, MDH-B<sub>4</sub> auf. Im südöstlichen Bereich kommt auch 6PGDH-A<sub>3</sub> während der Reproduktionsperiode 1998/99 mit einer beachtlich hohen Häufigkeit vor. Dort werden ebenfalls die höheren Werte der Genbestandsdiversität gefunden. Hier ist festzustellen, dass die in diesem Bereich produzierten Eckern nicht nur eine höhere genetische Variation und damit höher eingeschätzte Anpassungsfähigkeit, sondern wegen der Präsenz dieser Varianten auch eine höhere Angepasstheit (Anhang II) aufweisen.



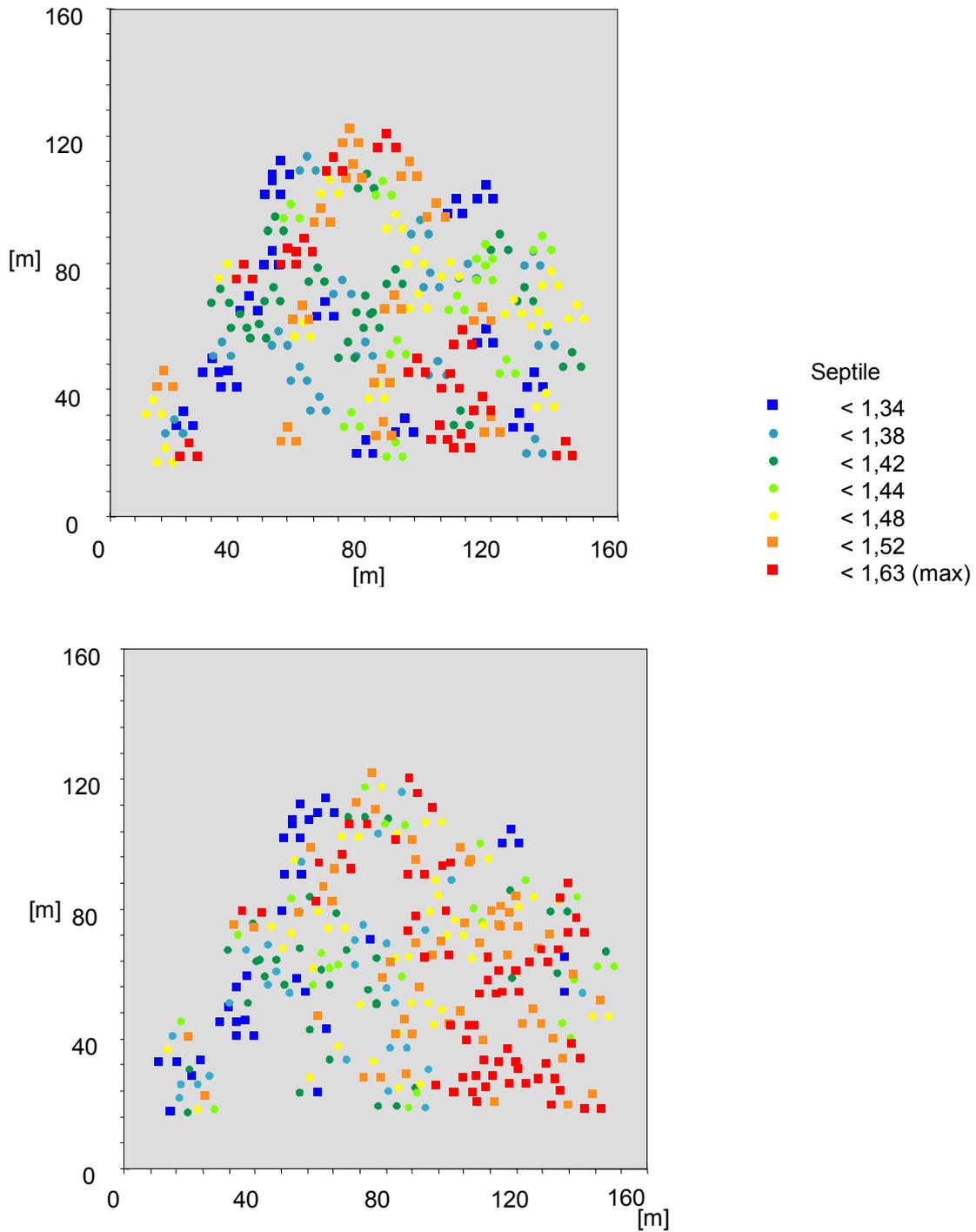
**Abb. 3.10:** Räumliche interpolierte Verteilung der Genbestandsdiversität der Eckern über neun Enzymgenorte (mit Ausnahme von 6PGDH-B und -C alle aus Tab. 2.5). Aus den Befunden der Eckern innerhalb der Probekreise wurde die Information über die gesamte Bestandesfläche interpoliert. Der obere Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der untere auf 1998/99.



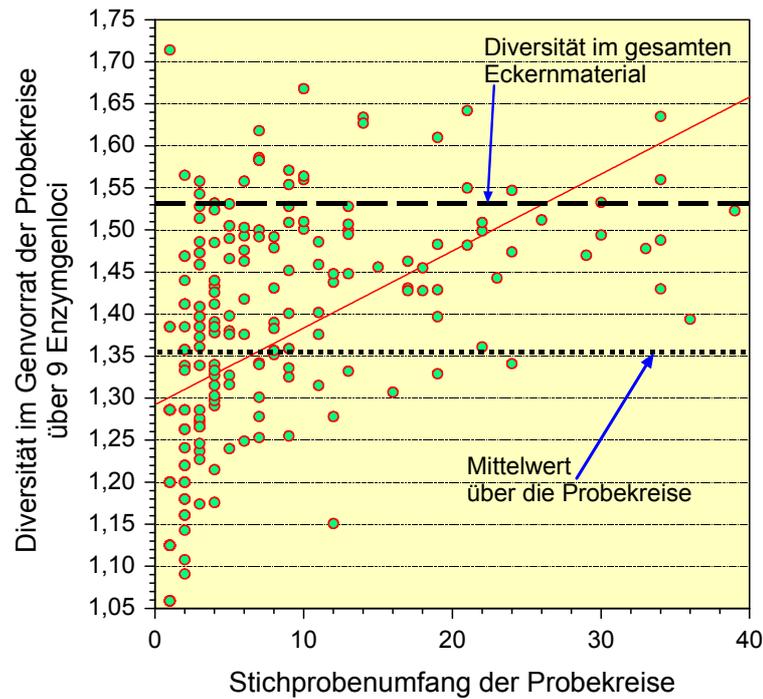
**Abb. 3.11:** Räumliche interpolierte Verteilung der mittleren Heterozygotie der Eckern über neun Enzymgenorte (mit Ausnahme von 6PGDH-B und -C alle aus Tab. 2.5). Aus den Befunden der Eckern innerhalb der Probekreise wurde die Information über die gesamte Bestandesfläche interpoliert. Der obere Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der untere auf 1998/99.

### **3.2.4. Räumliche Verteilung der Allelvariante LAP-A<sub>4</sub>**

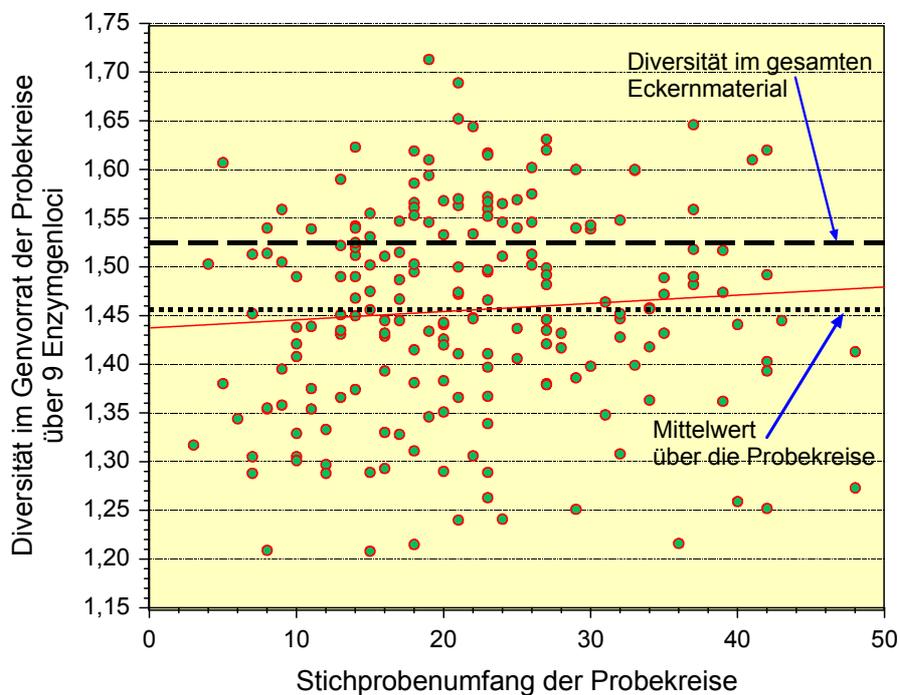
Schon Kim (1985) und später Müller-Starck (1993) stellten fest, dass unter bestimmten Umweltbedingungen in der Phase zwischen Keimung und zweijährigem Jungwuchs Selektion zugunsten von LAP-A<sub>4</sub> stattgefunden haben musste. Die heterozygoten Träger dieser Varianten waren unter Freilandbedingungen offenbar besonders viabel. Im vorliegenden Fall wurde während beider Reproduktionsperioden im südwestlichen Bereich der Abteilung 3100c eine überraschend hohe relative Häufigkeit von LAP-A<sub>4</sub> beobachtet. Die Verjüngung innerhalb des südwestlichen Streifens könnte somit in den beiden Jahrgängen eine größere Überlebenswahrscheinlichkeit als die im südöstlichen Bereich haben. In der ersten Reproduktionsperiode wurde allerdings auch im nördlichen Bereich eine höhere relative Häufigkeit des Allels LAP-A<sub>4</sub> gefunden. Somit ist festzustellen, dass die vermutete Überlebensfähigkeit der Naturverjüngung in den beiden Jahrgängen ein durchaus heterogenes Muster darstellt. Die in beiden Jahrgängen im südwestlichen Bereich vorliegende beträchtliche Häufigkeit dürfte von einigen heterozygoten Altbäumen und einem homozygoten stammen. Die starke Präsenz dieses Allels im Jahrgang 1992/93 im nördlichen Bereich ist möglicherweise wesentlich auf wenige heterozygote und in diesem Jahrgang in der Reproduktion effiziente Buchen zurückzuführen (Abb. 3.17 und 3.18).



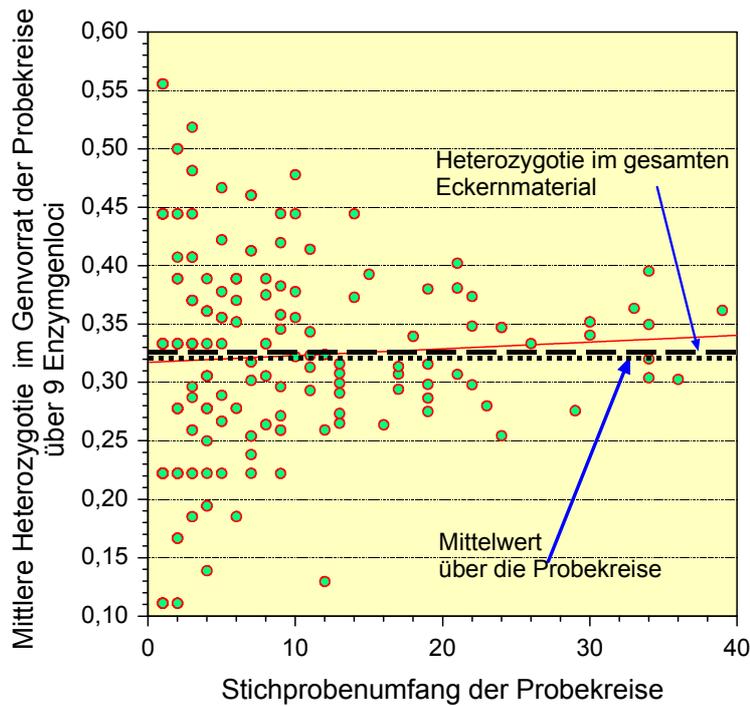
**Abb. 3.12:** Erwartete Genbestandsdiversität in den Eckern der Probekreise aus der Abteilung 3100c des FoA Dassel im Solling unter der Annahme panmiktischer Reproduktion (oben) und die Beobachtungen der Reproduktionsphase 1998/99 (unten).



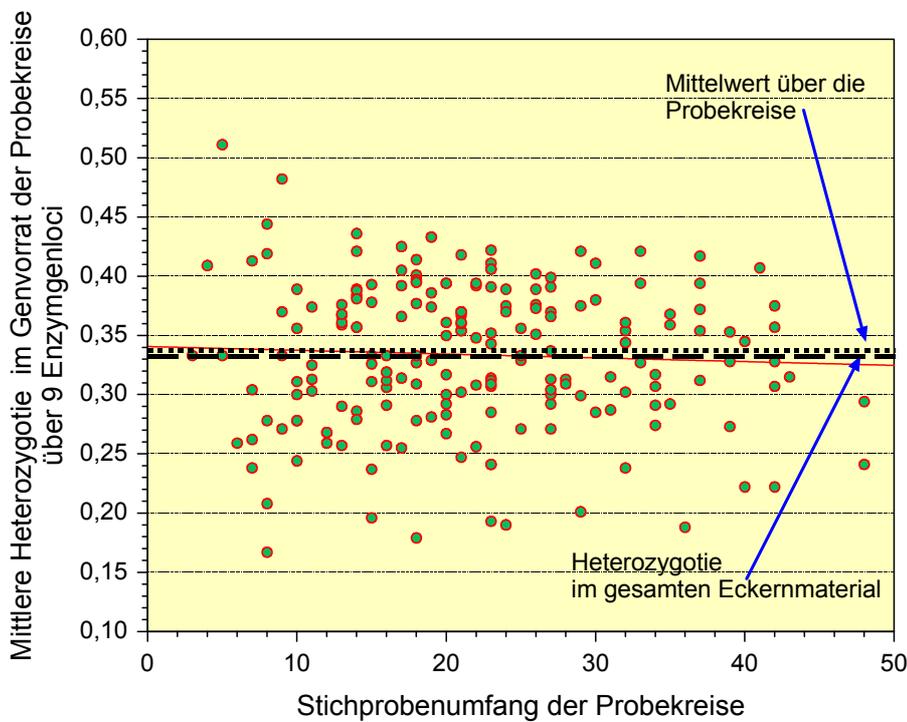
**Abb. 3.13:** Anzahl untersuchter Eckern in den Probekreisen des Jahrgangs 1992/93 und die dort jeweils vorgefundene genetische Diversität im Genbestand von neun Enzymgenloci (Genloci mit Ausnahme von 6PGDH-B und -C aus Tab. 2.5). Zusätzlich sind die genetische Diversität im gesamten Eckernmaterial und der Mittelwert der Diversitäten über die Probekreise eingetragen.



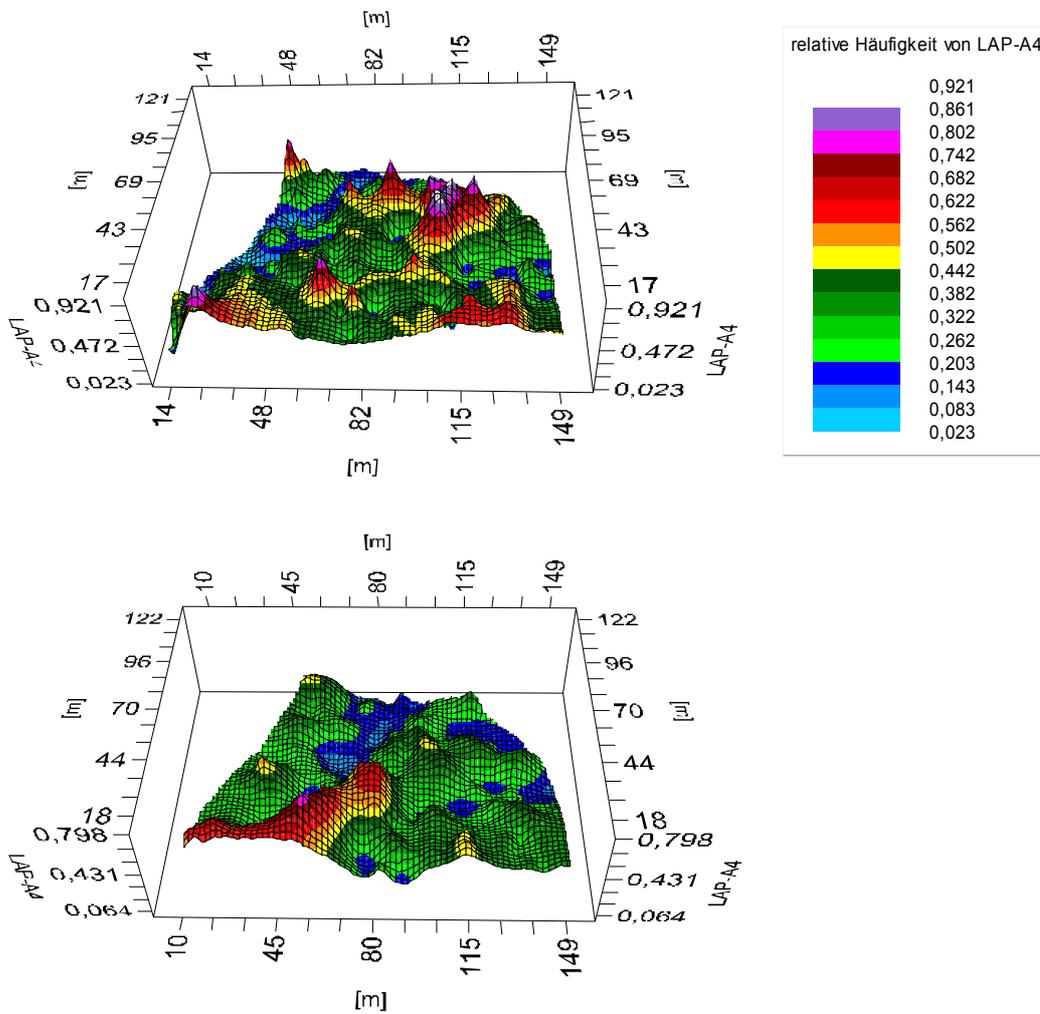
**Abb. 3.14:** Anzahl untersuchter Eckern in den Probekreisen des Jahrgangs 1998/99 und die dort jeweils vorgefundene genetische Diversität im Genbestand von neun Enzymgenloci (s. o.). Zusätzlich sind die genetische Diversität im gesamten Eckernmaterial und der Mittelwert der Diversitäten über die Probekreise eingetragen.



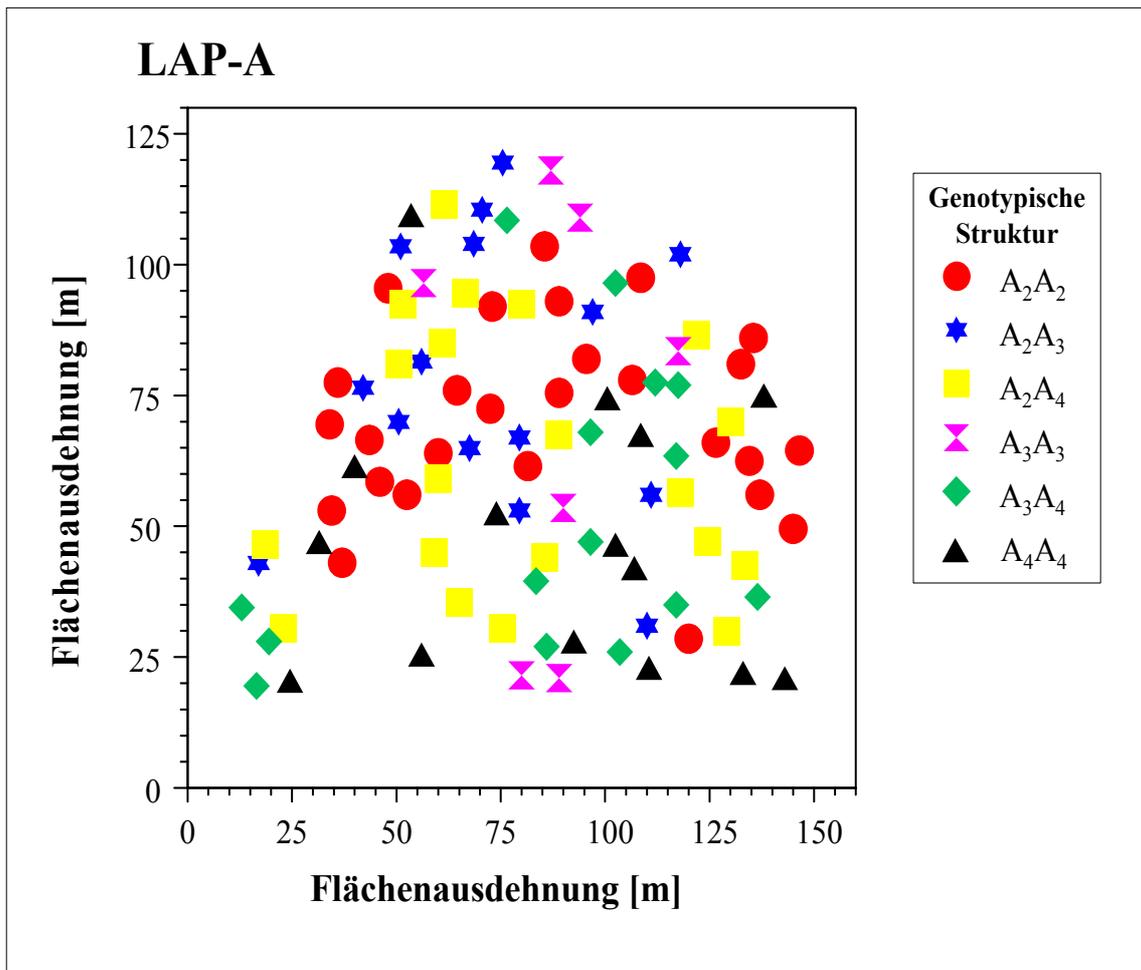
**Abb. 3.15:** Anzahl untersuchter Eckern in den Probekreisen des Jahrgangs 1992/93 und die dort jeweils vorgefundene mittlere Heterozygotie über neun Enzymgenloci. Zusätzlich sind die Heterozygotie im gesamten Eckerkernmaterial und der Mittelwert der Heterozygotie über die Probekreise eingetragen



**Abb. 3.16:** Anzahl untersuchter Eckern in den Probekreisen des Jahrgangs 1992/93 und die dort jeweils vorgefundene mittlere Heterozygotie über neun Enzymgenloci. Zusätzlich sind die mittlere Heterozygotie im gesamten Eckerkernmaterial und der Mittelwert der Heterozygotie über die Probekreise



**Abb. 3.17:** Räumlich interpolierte Verteilung der Variante LAP-A<sub>4</sub> in der Abteilung 3100c (FoA Dassel) unter den Eckern der erfassten Probekreise. Der obere Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der untere auf 1998/99.



**Abb. 3.18:** Genotypen am Isoenzym-Genort LAP-A unter den Altbäumen der Abteilung 3100c des FoA Dassel. LAP-A<sub>4</sub> und A<sub>5</sub> sind hier zu LAP-A<sub>4</sub> zusammengefasst.

### 3.3 Parameter der Mikrosatelliten-Marker in den Abteilungen 3100c und 1083

#### 3.3.1 Genetische Parameter der Mikrosatelliten-Marker in den Abteilungen 3100c (FoA Dassel) und 1083 ( FoA Eschershausen)

**Tab. 3.2:** Genbestandsdiversitäten ( $v_2$ ) und jeweils mittlere beobachtete Heterozygotie ( $H_o$ ) an zwei bzw. drei Mikrosatelliten-Loci für den Rein- bzw. Mischbestand

Bestand	Versuchsfläche (Jungwuchs)	Anzahl der untersuchten Individuen	$v_2$	$H_o$	$v_2$	$H_o$
			( <i>mfc</i> 5, <i>mfs</i> 11 und FS 3_04)	( <i>mfc</i> 5, <i>mfs</i> 11 und FS 3_04)	( <i>mfc</i> 5 und <i>mfs</i> 11)	( <i>mfc</i> 5 und <i>mfs</i> 11)
3100c	Südlücke Südteil 1	13	2,46	0,59	4,10	0,73
3100c	Südlücke Südteil 2	12	2,05	0,50	3,24	0,67
3100c	Lücke Nordteil	35	2,61	0,48	4,19	0,57
3100c	Südostteil nahe B95	10	2,76	0,60	3,82	0,65
3100c	unter Fichten	20	2,53	0,67	3,67	0,80
3100c	Altbestand	96	2,59	0,51	4,43	0,62
1083	B3	20	2,78	0,47	4,41	0,48
1083	B4	16	2,17	0,45	3,36	0,56
1083	B5	10	3,35	0,63	4,21	0,55
1083	<i>Div3</i>	23	2,34	0,53	4,24	0,69

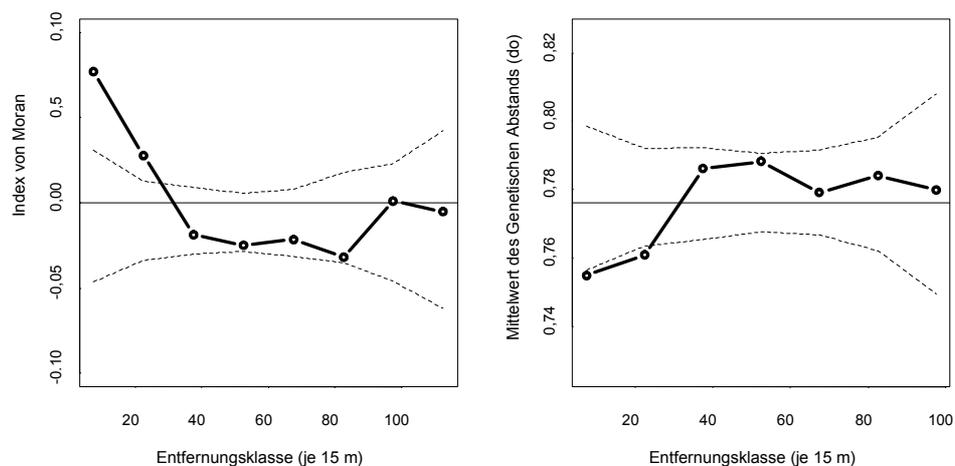
Die Ergebnisse der Tabelle 3.2 sind durch die Stichprobenumfänge und die Variabilitäten der einzelnen Loci stark beeinflusst. Die Betrachtung der einzelnen Loci ergibt hier bereits erhebliche Unterschiede. Beispielsweise hat die genetische Diversität an *mfc* 5 in der nördlichen Stichprobe (Lücke Nordteil der Abt. 3100c) den Wert 7,83 und die gleiche Stichprobe an FS 3\_04 den Wert 1,49 (Tab. 3.3). Trotzdem kann man erkennen, dass es für die beiden genetischen Parameter einen Trend der Zunahme vom südwestlichen zum südöstlichen Bereich der Abteilung 3100c gibt. Der Unterschied ist allerdings nicht so groß, dass er die Annahme einer selektiven Neutralität der Mikrosatelliten-Loci widerlegen würde.

**Tab. 3.3:** Allelische Diversität ( $v_2$ ) und mittlere Heterozygotie ( $H_o$ ) je Primer in den Jungwuchsstichproben von Rein- bzw. Mischbestand

Bestand	Versuchsfläche	Anzahl der untersuchten Individuen	$v_2$			$H_o$		
			<i>mfc 5</i>	<i>mfs 11</i>	FS 3_04	<i>mfc 5</i>	<i>mfs 11</i>	FS 3_04
3100c	Südlücke Südteil Nummer 1	13	5,28	3,35	1,37	0,77	0,69	0,31
3100c	Südlücke Südteil Nummer 2	12	7,38	2,07	1,18	0,75	0,58	0,17
3100c	Lücke Nordteil	35	7,83	2,86	1,49	0,57	0,57	0,29
3100c	Südostteil nahe B95	10	5,26	2,82	1,85	0,50	0,80	0,50
3100c	unter Fichten	20	5,30	2,99	1,51	0,90	0,70	0,40
3100c	Altbestand	96	9,64	2,87	1,42	0,60	0,62	0,29
1083	B3	20	6,50	3,33	1,60	0,25	0,70	0,45
1083	B4	16	5,16	2,49	1,27	0,47	0,65	0,24
1083	B5	10	6,45	3,12	2,38	0,60	0,50	0,80
1083	Div3	23	5,76	3,36	1,24	0,83	0,54	0,21

### 3.3.2 Indices von Moran (Moran's I) und genetische Abstände an den Mikrosatelliten-Loci

Eine signifikante räumliche Autokorrelation wurde für den Index von Moran wie auch für das Distogramm (Gregorius 1978, Degen et al. 2001) bei gemeinsamer Betrachtung vom *mfc 5* und *mfs 11* gerade in den beiden geringsten Entfernungsklassen beobachtet: Altbäume in einer Distanz von weniger als 30 Metern sind offenbar genetisch ähnlicher als solche, die weiter von einander entfernt stehen (Abb. 3.19).



**Abb. 3.19:** Verhältnisse der räumlichen Autokorrelation in den Allelen der Loci *mfc 5* und *mfs 11*: Moran's I (links) und Distogramm (rechts) nach Vornam et al. (2003). Die markierten Konfidenzbereiche beziehen sich auf 95%

### **3.4 Elternschaftsverhältnisse für Eckern und Jungwuchs der Abt. 3100c**

Drei inzwischen ausgefallene Altbäume (Altbäume 1, 40 und 23) mit unbekanntem Genotyp könnten ihre Mikrosatelliten-Varianten zu den Eckern und Jungwuchspflanzen beigetragen haben. Daher tauchen diese Altbäume in der Elternschaftsanalyse als potenzielle Samen- und/oder Pollenspender sowohl für die Eckern als auch für den Jungwuchs regelmäßig auf.

#### **3.4.1 Abstammungsrekonstruktion für die Eckern des Jahrgangs 1998/99 aus dem nördlichen Bereich der Abt. 3100c**

In den Probekreisen fiel der Prozentanteil der Eckern, die tatsächlich von demjenigen Baum stammen können, dem die Kreisfläche zuzuordnen ist, gerade im nördlichen Bereich sehr unterschiedlich aus. In den meisten Kreisstichproben wurden überhaupt keine Eckern gefunden, die von dem zugehörigen Baum kommen können und als potenzieller Samen- und Pollenelter wurde oft der Baum 40 angenommen. Im diesem Bereich wurde die nördliche Kreisstichprobe von Baum 19 als diejenige mit dem höchsten Anteil an Eckern festgestellt, die von dem zugehörigen Baum, hier Baum 19, stammen können. Der Baum 19 hat wenige Nachbarn und im nördlicher Richtung käme der Baum 20 noch als potenzieller Samenelter in Frage. Für die Kreisstichprobe 19L (südwestlich) war der Prozentanteil der passenden Eckern deutlich niedriger als im nördlichen Probekreis; hier könnten die Bäume 18 und 17 potenzielle Eltern sein. In der Kreisstichprobe 19R (südöstlich) lag der kleinste Prozentanteil der zu Baum 19 kompatiblen Eckern vor. In dieser Richtung finden sich auch die meisten Bäume, die als weitere potenzielle Samen- und Polleneltern angenommen werden können. Insgesamt sind hier etliche mögliche Samen- und Polleneltern in merklich weniger als 50 Meter Entfernung zu finden.

Der Baum 60 kommt für eine Abstammungsrekonstruktion der Eckern bezüglich der verschiedenen Himmelsrichtungen kaum in Frage. Hier wurden zusätzlich die Bäume 59, 61, 63 und 66 als potenzielle Sameneltern identifiziert (Tab. 3.4).

**Tab. 3.4.** Potenzielle Samen- und Pollenspender des nördlichen Bereichs

Stichprobe	Anzahl der untersuchten Eckern	Anzahl kompatible Eckern <sup>1)</sup> a)	Anderer möglicher Samenelter < 50 m <sup>2)</sup> a)	Pollenspender < 50 m a)
19 N	10	8 (80%) [2 <sup>a</sup> (20% <sup>a</sup> )]	2 (20%) [1 <sup>a</sup> (10%*)]	10 (100%) [3 <sup>a</sup> (30% <sup>a</sup> )]
19 L	10	6 (60%) [1 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	4 (40%) [1 <sup>a</sup> (10%*)]	10 (100%) [4 <sup>a</sup> (40% <sup>a</sup> )]
19 R	10	5 (50%) [1 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	5 (50%) [1 <sup>a</sup> (10%*)]	10 (100%) [2 <sup>a</sup> (20% <sup>a</sup> )]
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>19 (63%)</b> [4 <sup>a</sup> (13% <sup>a</sup> )]	<b>11 (37%)</b> [3 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	<b>30(100%)</b> [9 <sup>a</sup> (30% <sup>a</sup> )]
60 N	10	3 (30%)		
60 L	10	5 (50%)		
60 R	10	0 (0%)		
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>8 (27%)</b>		

a) maximale Anzahl bzw. maximaler prozentualer Anteil der Selbstbefruchtung

1) Eckern, die zu dem in Spalte 1 bezeichneten Baum stammen können

2) Eckern, die nicht von dem zugehörigen Baum stammen können, jedoch einen möglichen Samenelter in weniger als 50 Meter Entfernung haben

### 3.4.2 Genetische Parameter und Vaterschaftsanalyse für Baum 9

#### 3.4.2.1 Genetische Parameter und Häufigkeiten von bestimmten Allelvarianten

Die Eckern eines Zweiges wurden nach Möglichkeit in ihrer Position von der Spitze zur Basis bei der Untersuchung getrennt gehalten. War eine Positionierung nicht mehr möglich, wurden sie als „Mischprobe“ dieses Zweiges gemeinsam untersucht.

Die auf dem Baum 9 gesammelten Eckern zeigten im Vergleich mit den Eckern des Baumes 95 mindestens für die Mischprobe niedrigere Werte in der genetischen Diversität und mittleren Heterozygotie (Tab. 3.5 und 3.7).

Für die Allelvariante MDH-B<sub>4</sub> wurde ein Unterschied zwischen den gesammelten Eckern und der Mischprobe von dem nach Süden gerichteten Zweig beobachtet. Das spricht für eine Variation in der Allelausstattung der Eckern an diesem Zweig.

**Tab. 3.5.** Genetische Diversität ( $v_2$ ) im Genvorrat von acht Enzymgenloci (wie in Tab. 2.5, jedoch ohne GOT-B, 6PGDH-B und 6PGDH-C) und mittlere Heterozygotie ( $H_o$ ) der acht Genloci sowie relative Häufigkeiten bestimmter Allelvarianten und Genotypen für Baum 9

Zweig Baum 9 *)	Anzahl der Eckern	$v_2$	$H_o$	IDH-A <sub>2</sub>	IDH-A <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	LAP-A <sub>4</sub>	LAP-A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	6PGDH-A <sub>3</sub>	PGM-A <sub>2</sub>	MDH-B <sub>4</sub>
1	11	-	-	0.04	0.09	-	-	0.14	0.14	0.14
2	14	1.32	0.22	0.08	0.15	0.5	0.31	0.15	0.19	0.00
<b>Total</b>	<b>25</b>	-	-	<b>0.06</b>	<b>0.12</b>	-	-	<b>0.14</b>	<b>0.17</b>	<b>0.06</b>

\*) 1 = Zweig in Richtung Süden

2 = Mischprobe von 1

### 3.4.2.2 Vaterschaftsanalyse

Es wurde eine Vaterschaftsanalyse anhand der Primer *mfc* 5, *mfs* 11. und FS 3\_04 durchgeführt. Für die Eckern des Baumes 9 waren die meisten potenziellen Pollenspende die nächststehenden Bäume (71%). Es gibt aber auch Eckern mit einem nächststehenden Pollenelter in einem Abstand von mehr als 100 Metern. Deswegen ist die Annahme einer Beschränkung des Pollenfluges auf geringere Distanzen nicht zwingend. Durch den zusätzlichen Einsatz des Primers FS 3\_04 wurden weitgehend die gleichen Ergebnisse für die Vaterschaftsanalyse erzielt (Tab. 3.6).

**Tab. 3.6.** Charakterisierung des Pollenfluges für den Baum 9, i) auf der Basis von *mfc* 5 und *mfs* 11. ii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04

i)

Zweig Baum 9 *)	Gesamtzahl Eckern	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
1	11	9 (82%) [2 <sup>a</sup> (18% <sup>a</sup> )]	2 (18%)	0 (0%)	2 (18%)	0 (0%)
2	14	10 (71%)	2 (14%)	2 (14%)	2 (14%)	0 (0%)
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>19 (76%) [2<sup>a</sup>(8%<sup>a</sup>)]</b>	<b>4 (16%)</b>	<b>2 (8%)</b>	<b>4 (16%)</b>	<b>0 (%)</b>

ii)

Zweig Baum 9 *)	Gesamtzahl Eckern	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
1	11	9 (%) [2 <sup>a</sup> (18% <sup>a</sup> )]	2 (18%)	0 (0%)	2 (18%)	0 (0%)
2	14	10 (71%)	2 (14%)	2 (14%)	2 (14%)	0 (0%)
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>19 (76%) [2<sup>a</sup>(8%<sup>a</sup>)]</b>	<b>4 (16%)</b>	<b>2 (8%)</b>	<b>4 (16%)</b>	<b>0 (%)</b>

(a) Eckern mit Mindestdistanz eines möglichen Pollenelters < 50 m [a] maximale Anzahl und maximaler Anteil der Selbstbefruchtung]

(b) Eckern mit Mindestdistanz des Pollenelters > 50 m

(c) Eckern mit Distanz des Pollenelters > 100 m

(d) Eckern mit nur einem möglichen Pollenelter innerhalb des Bestandes

(e) Eckern mit einem Pollenelter außerhalb des Bestandes

\*) 1 = Zweig in Richtung Süden

2 = Mischprobe von 1

### 3.4.3 Genetische Parameter und Vaterschaftsanalyse für den Baum 95

#### 3.4.3.1 Genetische Parameter und Häufigkeiten von bestimmten Allelvarianten

Die Werte der genetischen Variationsparameter ( $v_2$  und  $H_o$ ) zeigten keine großen Unterschiede zwischen den verschiedenen Stichproben. Der Einfluss der Position der Zweige am Baum (verschiedene Himmelsrichtungen) auf die genetische Ausstattung der Eckern wurde in den Häufigkeiten bestimmter Allelvarianten und Genotypen festgestellt. In den Eckern der südlichen Stichproben wurde der Genotyp LAP-A<sub>4</sub>A<sub>4</sub> deutlich häufiger gefunden als in denen der nordöstlichen Stichproben. Eine ähnliche Situation liegt für die Allelvariante MDH-B<sub>4</sub> (Tab. 3.7) vor.

Beim Vergleich der Genbestandsdiversität und der mittleren Heterozygotie kann man erkennen, dass die Werte für die Eckern des Baumes 9 insgesamt niedriger liegen als für den Baum 95.

**Tab. 3.7.** Diversität ( $v_2$ ) im Genvorrat von acht Enzymgenloci (wie oben) und mittlere Heterozygotie ( $H_o$ ) der acht Genloci sowie relative Häufigkeiten bestimmter Allelvarianten und Genotypen

Zweig Baum 95 *)	Anzahl der Eckern	$v_2$	$H_o$	IDH-A <sub>2</sub>	IDH-A <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	LAP-A <sub>4</sub>	LAP-A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	6PGDH-A <sub>3</sub>	PGM-A <sub>2</sub>	MDH-B <sub>4</sub>
1	24	1.47	0.39	0.21	0.42	0.35	0.17	0.33	0.69	0.06
2	12	1.49	0.40	0.42	0.33	0.50	0.25	0.21	0.67	0.04
3	6	1.38	0.30	0.21	0.43	0.43	0.29	0.36	0.71	0.00
4	21	1.42	0.39	0.20	0.41	0.27	0.00	0.32	0.75	0.02
5	6	1.42	0.40	0.50	0.67	0.42	0.00	0.25	0.58	0.00
6	7	1.39	0.34	0.29	0.57	0.36	0.14	0.36	0.86	0.00
<b>Mittelwert</b>		<b>1.46</b>	<b>0.38</b>	<b>0.26</b>	<b>0.44</b>	<b>0.36</b>	<b>0.13</b>	<b>0.31</b>	<b>0.71</b>	<b>0.03</b>

- \*) 1 = Zweig in Richtung Süden, Probe Nr. 1  
 2 = Zweig in Richtung Süden, Probe Nr. 2  
 3 = Mischprobe von 2  
 4 = Zweig mit Richtung Nordosten, Probe Nr. 1  
 5 = Zweig mit Richtung Nordosten, Probe Nr. 2  
 6 = Mischprobe von 5

### 3.4.3.2 Elternschaftsanalyse

Der nächststehende potenzielle Pollenelter der meisten Eckern von Baum 95 hatte einen Abstand von weniger als 50 Meter. Der Anteil an Selbstbefruchtung unter den viablen Eckern betrug maximal 1%. Der minimale externe Pollenanteil lag bei 16%. (Tabelle 3.8). Insgesamt kann man sagen, dass benachbarte Bäume hier einen großen Anteil an der Nachkommenschaft haben.

**Tab. 3.8.** Charakterisierung des Pollenfluges für den Baum 95 auf der Basis von *mfc* 5 und *mfs* 11 und den Enzymgenloci MDH-C, IDH-A und PGM-A

Zweig Baum 95 *)	Anzahl der Eckern	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)
1	24	17 (71%)	4 (17%)	1 (4%)	5 (21%)	8 (33%)	2 (8%)
2	12	11 (92%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (25%)	3 (25%)	1 (8%)
3	6	4 (67%)	2 (33%)	0 (0%)	1 (17%)	2 (33%)	0 (0%)
4	21	14 (67%)	4 (19%)	2 (9%)	1 (5%)	11 (52%)	1 (5%)
5	6	5 (83%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (33%)	2 (33%)	1 (17%)
6	7	5 (71%) [1 <sup>a</sup> (14% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	1 (14%)	0 (0%)	3 (43%)	1 (14%)
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>56 (74%)</b> [1 <sup>a</sup> (1% <sup>a</sup> )]	<b>10 (13%)</b>	<b>4 (5%)</b>	<b>12 (16%)</b>	<b>29 (38%)</b>	<b>6 (8%)</b>

(a) Eckern mit Mindestdistanz eines möglichen Pollenelters < 50 m [ <sup>a</sup> maximale Anzahl und maximaler Anteil der Selbstbefruchtung]

(b) Eckern mit Mindestdistanz des Pollenelters > 50 m und < 100 m

(c) Eckern mit Distanz des Pollenelters > 100 m, jedoch innerhalb des Bestandes

(d) Eckern mit Baum 88 als möglichem Pollenelter

(e) Eckern mit nur einem möglichen Pollenelter innerhalb des Bestandes

(f) Eckern mit Polleneltern außerhalb des Bestandes

\*) 1 = Zweig in Richtung Süden, Probe Nr. 1

2 = Zweig in Richtung Süden, Probe Nr. 2

3 = Mischprobe von 2

4 = Zweig mit Richtung Nordosten, Probe Nr. 1

5 = Zweig mit Richtung Nordosten, Probe Nr. 2

6 = Mischprobe von 5

Eckern mit nur einem einzigen möglichen Pollenelter innerhalb des Bestandes sind in der Tabelle 3.9 blau markiert dargestellt. Der vermutete Einfluss der Bestandesstruktur lässt sich an Baum 88 als möglichem Pollenelter erkennen. Zwischen Baum 95 und 88 gibt es eine Lücke, die den Pollenbeitrag vom Baum 88 offensichtlich fördert (Tab. 3.9). In Tabelle 3.9 kann man für die Eckern 11, 12 und 13 eine Häufung des potenziellen Pollens vom Baum 88 erkennen, d.h. im südlichen Bereich (Stichproben 1 bis 3) wurde verstärkt Pollen des Baums 88 auf einem bestimmten Teil eines Zweiges effektiv. Da diese Eckern an den Zweigen benachbart lagen, wurde hier möglicherweise der Pollen von Baum 88 nicht nur an einzelnen Blüten, sondern sogar an ganzen Zweigabschnitten effektiv. Mit Tabelle 3.10 ist ein ähnlicher Fall zu erkennen.

**Tab. 3.9.** Potenzielle Polleneltern der Eckern an einem Zweig im südlichen Kronenbereich des Baumes 95 (Probe Nr. 1). Die blau markierten Baumnummern kennzeichnen, dass es für die entsprechende Ecker nur einen einzigen möglichen Polleneltern innerhalb des Bestandes gab. Baum 88 als potenzieller Polleneltern ist rot markiert.

Ecker	Sameneltern	Anzahl der potenziellen Polleneltern	Nummer der potenziellen Polleneltern
1	95	2	10 39
2	95	1	73
4	95	1	98
5	95	1	93
6	95	9	3 33 34 54 55 66 70 88 89
7	95	1	99
8	95	3	29 79 84
9	95	4	3 25 89 98
10	95	2	3 25
11	95	3	4 16 88
12	95	4	48 55 88 98
13	95	2	3 88
14	95	1	82
15	95	2	29 73
16	95	17	12 16 17 18 22 29 31 35 36 37 39 48 54 63 76 90 92
18	95	8	3 19 23 51 66 67 73 88
20	95	0	*
21	95	1	10
23	95	3	11 17 86
24	95	2	51 76
25	95	1	33
26	95	0	*
27	95	1	93
29	95	6	53 68 71 76 85 99

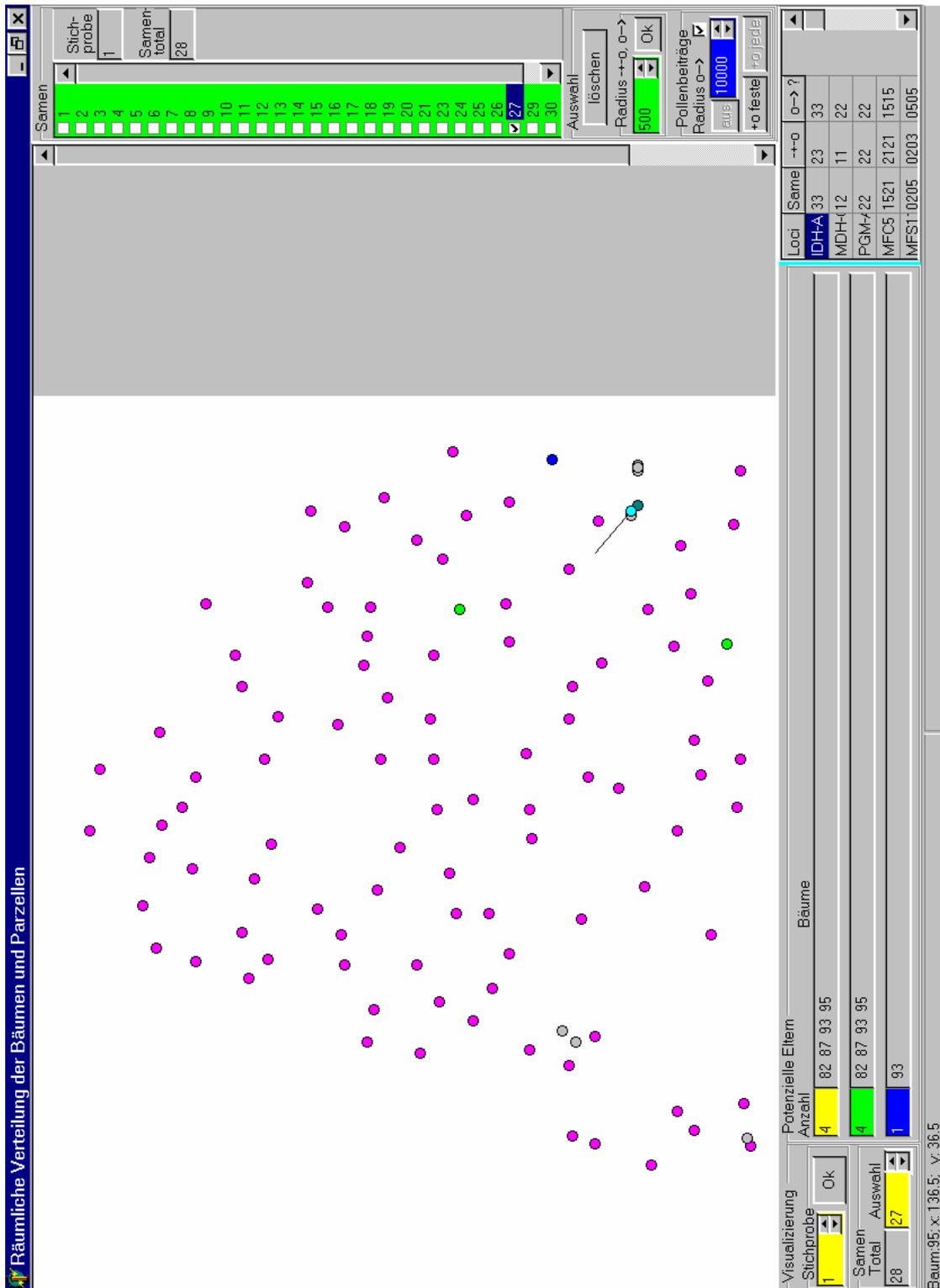
\*) Polleneltern liegen außerhalb des Bestandes

**Tab. 3.10.** Potenzielle Polleneltern der Eckern an einem Zweig im südlichen Kronenbereich des Baumes 95 (Probe Nr. 2). Die blau markierten Baumnummern kennzeichnen, dass es für die entsprechende Ecker nur einen einzigen möglichen Pollenelter innerhalb des Bestands gab. Baum 88 als potenzieller Pollenelter ist rot markiert.

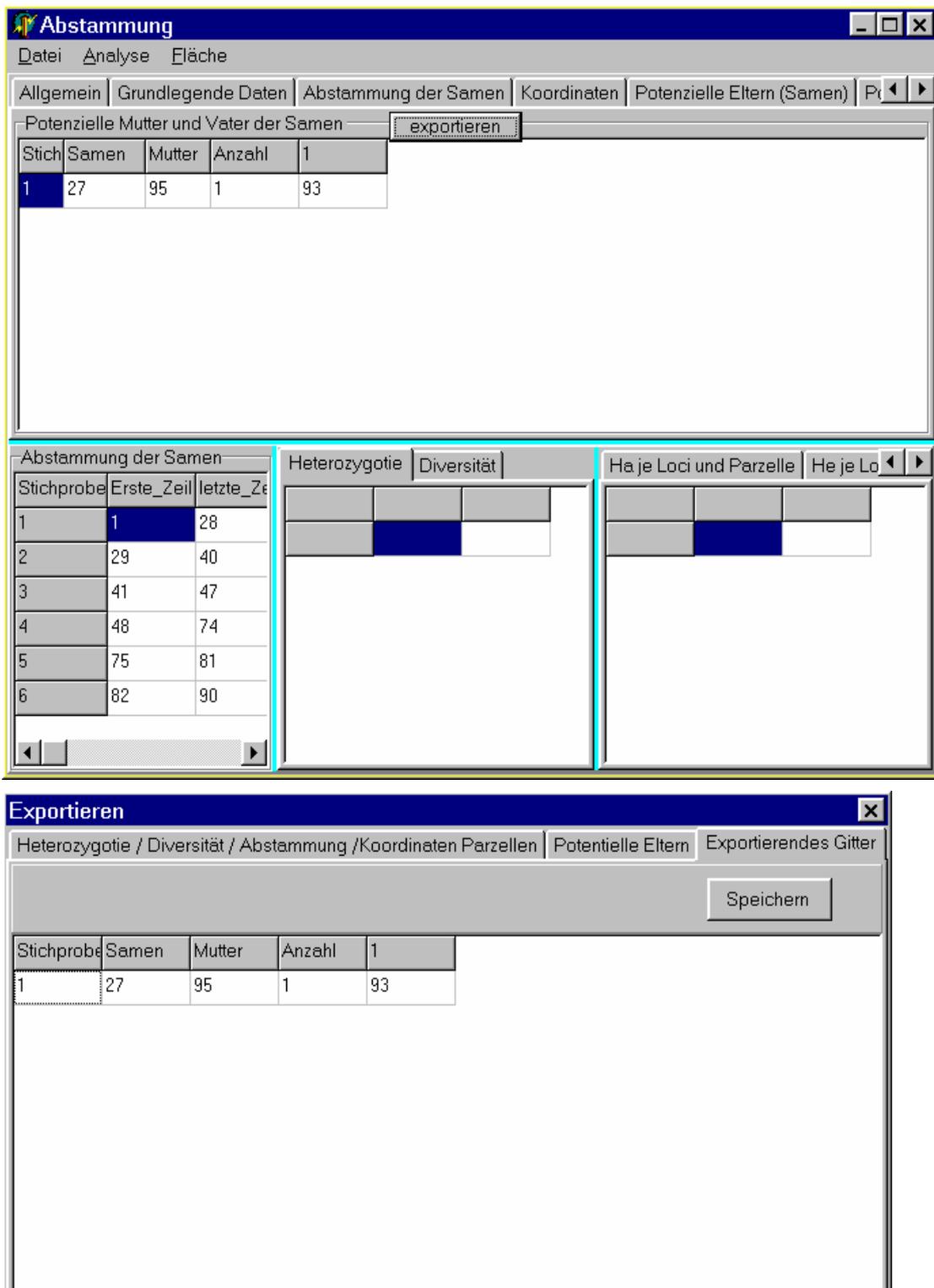
Ecker	Samenelter	Anzahl der potenziellen Pollenspendern	Nummer der potenziellen Pollenspendern
1	95	2	36 86
3	95	3	11 17 86
4	95	0	*
5	95	4	22 29 90 92
6	95	1	97
7	95	9	34 35 51 54 66 67 69 75 84
8	95	5	8 10 14 29 92
9	95	1	94
10	95	1	99
11	95	8	3 9 11 33 34 54 66 88
12	95	4	48 55 88 98
13	95	1	88

\*) Pollenelter liegt außerhalb des Bestandes

Mit den Abbildungen 3.20 und 3.21 werden für die Ecker Nummer 27 an einem Zweig im südlichen Kronenbereich des Baumes 95 (Probe Nr. 1) die Ergebnisse des Computer-Programms „ABSTAMMUNG“ dargestellt.



**Abb. 3.20.** Graphische Darstellung der Ergebnisse des Programms „ABSTAMMUNG“ für den potenziellen Pollenelter der Ecker Nummer 27 an einem Zweig im südlichen Kronenbereich des Baumes 95 (Probe Nr. 1). Die blau markierte Baumnummer kennzeichnet, dass es für die entsprechende Ecker nur einen einzigen möglichen Pollenelter innerhalb des Bestands gab.



**Abb. 3.21.** Darstellung von Arbeitschriften des Programms „ABSTAMMUNG“ für den potenziellen Pollenelter der Ecker Nummer 27 an einem Zweig im südlichen Kronenbereich des Baumes 95 (Probe Nr. 1).

### 3.4.4 Genetische Parameter und Elternschaftsanalyse für den Jungwuchs der Abteilung 3100c

#### 3.4.4.1 Analyse auf der Basis von Enzymgenloci

Der Jungwuchs unter den Fichten besitzt eine hohe genetische Diversität und mittlere Heterozygotie (Tab. 3.11). Das Allel LAP-A<sub>4</sub> trat sehr häufig auf. Es spielt eine besondere Rolle in der Anpassungsfähigkeit der Naturverjüngung (Müller-Starck 1993).

Im südwestlichen Bereich besitzen 92% der Naturverjüngung die Allelvariante PGM-A<sub>2</sub>, die sich in Altbuchen unter Umweltbelastung zumindest im heterozygoten Zustand als toleranzbeitragend erwiesen hat.

Im nördlichen Bereich wurden in der Naturverjüngung recht hohe Häufigkeiten des Allels 6PGDH-A<sub>3</sub> beobachtet. Damit kann man sagen, dass in den genannten Bereichen beträchtliche Anpassungskapazitäten im Jungwuchs vorhanden sind (Abb. 2.1).

**Tab. 3.11.** Genetische Parameter und Häufigkeiten von Allelvarianten für den Jungwuchs der Abt.3100c

Stichprobe *)	Anzahl der jungen Pflanzen	$v_2$	$H_o$	IDH-A <sub>2</sub>	IDH-A <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	LAP-A <sub>4</sub>	LAP-A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	6PGDH-A <sub>3</sub>	PGM-A <sub>2</sub>	MDH-B <sub>4</sub>
1	13	1.30	0.27	0.27	0.54	0.23	0.00	0.00	0.92	0.12
2	12	1.30	0.19	0.04	0.08	0.17	0.00	0.17	0.38	0.00
3	35	1.55	0.39	0.19	0.37	0.21	0.03	0.36	0.37	0.04
4	10	1.53	0.41	0.25	0.50	0.60	0.24	0.25	0.25	0.10
5	20	1.44	0.36	0.25	0.40	0.25	0.10	0.15	0.38	0.15

- \*) 1 = Jungwuchs Südlücke Südteil 1  
 2 = Jungwuchs Südlücke Südteil 2  
 3 = Jungwuchs Lücke Nordteil  
 4 = Jungwuchs unter Fichten  
 5 = Jungwuchs Südostteil nahe dem Baum 95

#### 3.4.4.2 Elternschaftsanalyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern

Die Anwendung der Mikrosatelliten-Marker (*mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04) erlaubte wieder eine Klassifizierung der potenziellen Samen- und Pollenspender. Für alle Stichproben standen die meisten potenziellen Sameneltern weniger als 50 Meter entfernt. Die potenziellen Pollenspender wurden auch in größeren Entfernungen als 50 Meter gefunden. Zudem wurde in der südwestlichen Stichprobe (Nummer 1) die Möglichkeit von externem Pollen bestätigt (Tab. 3.12).

**Tab. 3.12.** Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt. 3100c, i) auf der Basis von *mfc* 5 und *mfs* 11, ii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04.

i)

Stichprobe	Anzahl der jungen Pflanzen	(a) Anzahl (prozentualer Anteil)	(b) Anzahl (prozentualer Anteil)	(c) Anzahl (prozentualer Anteil)	(d) Anzahl (prozentualer Anteil)
1	13	2 (15%)	9 (69%) [2 <sup>a</sup> (15% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	2 (15%) [1 <sup>a</sup> (8% <sup>a</sup> )]
2	12	4 (33%)	7 (58%) [1 <sup>a</sup> (8% <sup>a</sup> )]	1 (8%) [1* (8%*)]	0 (0%)
3	35	24 (68%) [10* (28%*)]	11 (31%) [3 <sup>a</sup> (9% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
4	10	8 (80%) [1* (10%* *)]	2 (20%) [1 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
5	20	15 (80%) [1* (0%)]	5 (20%) [1* (5%*)]	0 (0%)	0 (0%)

ii)

Stichprobe	Anzahl der jungen Pflanzen	(a) Anzahl (prozentualer Anteil)	(b) Anzahl (prozentualer Anteil)	(c) Anzahl (prozentualer Anteil)	(d) Anzahl (prozentualer Anteil)
1	13	2 (15%)	9 (69%) [2 <sup>a</sup> (15% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	2 (15%) [1 <sup>a</sup> (8% <sup>a</sup> )]
2	12	4 (33%)	7 (58%)	1 (8%) [1* (8%*)]	0 (0%)
3	35	24 (68%) [10* (28%*)]	11 (31%) [3 <sup>a</sup> (6% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
4	10	8 (80%) [1* (10%*)]	2 (20%) [1 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
5	20	15 (75%) [1* (5%*)]	5 (25%) [1 <sup>a</sup> (5% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)

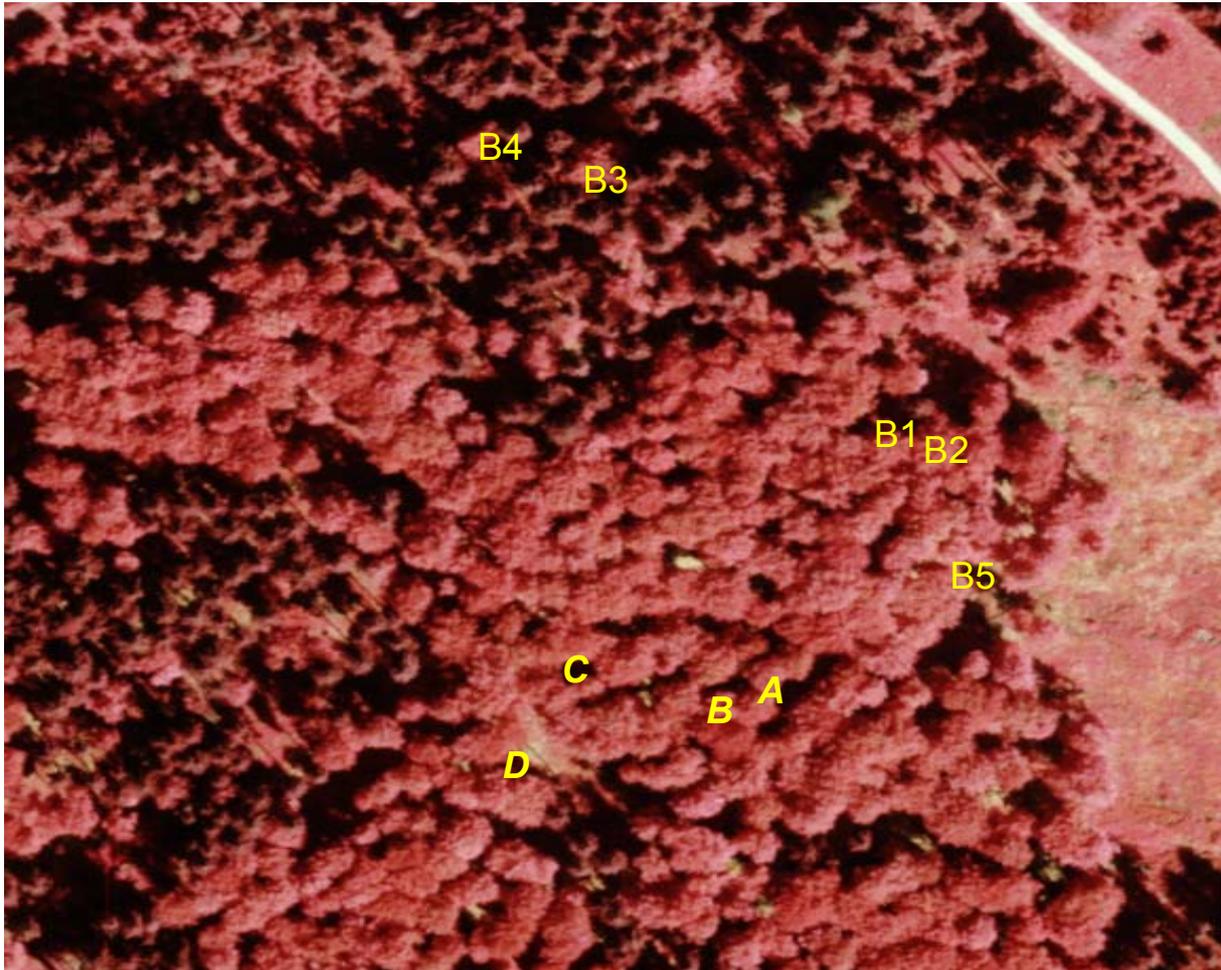
\*maximale Anzahl und maximaler Anteil der Selbstbefruchtung

<sup>a</sup> Pollenelter außerhalb des Bestandes

- a) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter < 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter < 50m
- b) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter < 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter im Bestand > 50m
- c) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter im Bestand > 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter < 50m
- d) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter im Bestand > 50m nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter im Bestand >50m

- 1 = Jungwuchs Südlücke Südteil, Nummer 1
- 2 = Jungwuchs Südlücke Südteil, Nummer 2
- 3 = Jungwuchs Lücke Südteil
- 4 = Jungwuchs unter Fichten
- 5 = Jungwuchs Südostteil nahe B95

### 3.4 Ergebnisse der Abteilung 1083



*C=Div3*

**Abb. 3.22:** Luftbild der Abteilung 1083 des FoA Eschershausen. Die Versuchsfelder wurden gelb markiert

Die ausgewählten Versuchsfelder in der Abt. 1083 liegen in Bereichen mit unterschiedlichen Bestandesstrukturen. Die Versuchsfelder B3 und B4 (Abb. 2.4) sind im Südosten von einer beträchtlichen Fichtenabschirmung, die Versuchsfelder B5 und *Div3* von Buchen umgeben (Abb. 3.22).

#### 3.4.1 Analyse auf der Basis von Isoenzymgenloci

In allen Versuchsfeldern wurde eine relativ hohe genetische Diversität beobachtet. Eine Ausnahme bildet der Jungwuchs der Versuchsfeld B3 mit einer allelischen Diversität von nur 1,36. Für die Altbäume der Versuchsfeld *Div3* wurde eine hohe mittlere Heterozygotie

beobachtet; in der Naturverjüngung wurde diese Situation jedoch nicht vorgefunden (Tab. 3.13).

Die hohe Häufigkeit des Allels IDH-A<sub>2</sub> lag nicht nur in der genotypischen Struktur der Altbäume beobachtet, sondern auch im Jungwuchs vor.

In den Altbäumen der Versuchsfläche B3 war die seltene Allelvariante 6PGDH-A<sub>3</sub> mit 19% relativ häufig. Im Jungwuchs hingegen wurde sie nur mit 5% gefunden. Eine besondere Situation liegt in der Versuchsfläche *Div3* vor (Tab. 3.13), wo diese seltene Allelvariante im Jungwuchs mit 24% auftaucht.

Die Allelvariante MDH-B<sub>4</sub> wurde in der Versuchsfläche B5 mit 15% im Jungwuchs gefunden, obwohl keiner der nächsten Altbäume diese Allelvariante besitzt.

Für PGM-A<sub>2</sub> wurde in den Altbäumen der Versuchsfläche B3 und B4 eine Häufigkeit von 50% beobachtet und im Jungwuchs ein Wert von ca 65% (Tab. 3.13).

**Tab. 3.13.** Genetische Parameter: Genetische Diversität ( $v_2$ ) und mittlere Heterozygotie ( $H_o$ ) sowie Häufigkeiten von Allelvarianten für den Jungwuchs der Abt.1083

Stichprobe	Anzahl der untersuchten Jungpflanzen	$v_2$	$H_o$	IDH-A <sub>2</sub>	IDH-A <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	LAP-A <sub>4</sub>	LAP-A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	6PGDH-A <sub>3</sub>	PGM-A <sub>2</sub>	MDH-B <sub>4</sub>
Altbäume B3	5	1.34	0.22	0.20	0.40	0.00	0.00	0.10	0.70	0.00
Jungwuchs B3	20	1.36	0.30	0.30	0.50	0.10	0.00	0.05	0.65	0.08
Altbäume B4	3	1.41	0.38	0.33	0.67	0.33	0.00	0.00	0.50	0.00
Jungwuchs B4	16	1.44	0.33	0.36	0.28	0.17	0.00	0.03	0.64	0.06
Altbäume B5	3	1.44	0.33	0.33	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00
Jungwuchs B5	10	1.42	0.28	0.25	0.30	0.35	0.20	0.00	0.30	0.15
Altbäume <i>Div3</i>	7	1.52	0.43	0.21	0.43	0.29	0.14	0.07	0.43	0.07
Jungwuchs <i>Div3</i>	23	1.52	0.27	0.34	0.28	0.32	0.16	0.24	0.28	0.06

### 3.4.2 Analyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern

Die folgenden Ergebnisse betreffen nur teilweise die Elternschaftsanalyse, da einige Altbäume kein amplifiziertes Produkt für die Primer FS 1\_15 und FS 1\_03 zeigten. Deswegen wurden nur die Daten mit den Primern *mfc 5*, *mfs 11* und FS 3\_04 analysiert.

Eine große Anzahl von potenziellen Sameneltern innerhalb der vier Versuchsflächen B3, B4 B5 und *Div3* konnte mit *mfc 5* und *mfs 11* identifiziert werden. Man muss berücksichtigen, dass diese Anzahl nur die Möglichkeit der Elternschaft und nicht die tatsächlichen Verhältnisse wiedergibt, d.h. die Anzahl der von ihnen abstammenden Jungpflanzen ist wahrscheinlich niedriger, als es die Verhältnisse vermuten lassen. Wenn man zusätzlich den

Primer FS 3\_04 nutzt, dann ergibt sich für die Versuchsfläche B5 (Abb. 3.24), dass die am nächsten stehenden Altbäume verglichen mit *Div3* einen verhältnismäßig kleinen Anteil möglicher Samen- und Polleneltern stellen. Es gibt aber weiter entfernte Altbäume, die einen Beitrag geliefert haben könnten (Abb. 2.5 und Tab. 3.14).



**Abb. 3.23:** Südöstliche Ansicht der Versuchsfläche B4 in der Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)

Mindestens 20% der mit den zwei Mikrosatelliten-Markern *mfc* 5 und *mfs* 11 getesteten Jungpflanzen haben mögliche Polleneltern in der näheren Umgebung. Eine Besonderheit bildet die Versuchsfläche *Div3*. Sie ist von sieben Altbuchen umgeben, für die nachgewiesen wurde, dass sie für den Jungwuchs besonders häufig als potenzielle Samen- und Polleneltern in Frage kommen (Tab. 3.14).



**Abb. 3.24:** Östliche Ansicht der Versuchsfläche B5 in der Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)

Für alle vier Versuchsflächen wurde auch die Selbstbefruchtungsrate bezüglich der erfassten potenziellen Eltern überprüft. Die beiden Versuchsflächen mit Fichtenabschirmung, B3 und B4 (Abb. 3.23), zeigen hierbei eine maximale Selbstbefruchtungsrate von 20% beziehungsweise 12%. Für das Material der Versuchsflächen B5 und *Div3* wurde ausgeschlossen, dass eine untersuchte Jungwuchspflanzen aus Selbstbefruchtung eines der betrachteten potenziellen Eltern stammt (Abb. 3.25 und Tab. 3.14).



**Abb. 3.25:** Nordöstliche Ansicht der Versuchsfläche *Div3* in der Abteilung 1083 (FoA Eschershausen)

**Tab. 3.14.** Vaterschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt.1083c, i) auf der Basis von *mfc* 5 und *mfs* 11, ii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04

i)

Versuchsfläche	Anzahl der insgesamt untersuchten Jungpflanzen	Elternschaft innerhalb der Versuchsfläche		Elternschaft außerhalb der Versuchsfläche	
		Mögliche Samenelterbeteiligung	Mögliche Samen- und Pollenelterbeteiligung *)	Pollenelterbeteiligung	Samen- und Pollenelterbeteiligung
B3	20	11 (55%)	8 (40%) [3*(15%*)]	3 (15%)	9 (45%)
B4	16	14 (88%)	8 (44%) [6*(38%*)]	6 (38%)	2 (12%)
B5	10	6 (60%)	2 (20%) [2*(20%*)]	4 (40%)	4 (40%)
<i>Div3</i>	23	21 (91%)	10(43%) [2*(9%*)]	11 (49%)	2 (9%)

ii)

Versuchsfläche	Anzahl der insgesamt untersuchten Jungpflanzen	Elternschaft innerhalb der Versuchsfläche		Elternschaft außerhalb der Versuchsfläche	
		Mögliche Samenelterbeteiligung	Mögliche Samen- und Pollenelterbeteiligung *)	Pollen-elterbeteiligung	Samen- und Pollenelterbeteiligung
B3	20	11 (55%)	7(35%) [3*(15%*)]	4 (20%)	9 (45%)
B4	16	14 (88%)	4(25%) [2*(12%*)]	10 (69%)	2 (12%)
B5	10	4 (40%)	0 (0%)	4 (40%)	6 (60%)
<i>Div3</i>	23	21 (91%)	8 (35%)	13 (56%)	2 (9%)

\*) maximale Anzahl und maximaler Anteil der Selbstbefruchtung

### 3.5 Ergebnisse der Abteilung 62



**Abb. 3.26:** Südliche Ansicht des isolierten Baumes in der Abt. 62

#### 3.5.1 Analyse auf der Basis von Enzymgenloci

Die Tabelle 3.17 gibt die Werte für die genetischen Parameter an den Enzymgenloci wieder. Für die Eckern des isolierten Baumes in der Abteilung 62 (Abb. 3.26) wurden überraschend hohe Werte der mittleren Heterozygotie und der genetischen Diversität gefunden. Es konnte aber zwischen den Stichproben „Weg zugewandt“ und „Weg abgewandt“ kein nennenswerter Unterschied festgestellt werden.

**Tab. 3.15.** Genetische Parameter (Diversität ( $v_2$ ) und mittlere Heterozygotie ( $H_o$ ) über neun Genloci) und Häufigkeiten bestimmter Allelvarianten für die Nachkommenschaft des Einzelbaums in der Abt. 62

Stichprobe *)	Anzahl der Eckern	$v_2$	$H_o$	IDH-A <sub>2</sub>	IDH-A <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	LAP-A <sub>4</sub>	LAP-A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	6PGDH-A <sub>3</sub>	PGM-A <sub>2</sub>	MDH-B <sub>4</sub>
1	40	1.50	0.36	0.68	0.65	0.49	0.25	0.06	0.45	0.31
2	31	1.53	0.38	0.66	0.68	0.54	0.36	0.02	0.39	0.34
3	6	1.48	0.40	0.50	1.00	0.42	0.17	0.00	0.33	0.25
4	13	1.54	0.46	0.58	0.85	0.50	0.08	0.04	0.46	0.31
5	9	1.51	0.40	0.61	0.78	0.39	0.11	0.06	0.50	0.28
6	9	1.46	0.40	0.56	0.89	0.33	0.00	0.00	0.39	0.17
7	18	1.51	0.40	0.63	0.75	0.31	0.00	0.09	0.44	0.25
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>1.53</b>	<b>0.38</b>	<b>0.63</b>	<b>0.74</b>	<b>0.46</b>	<b>0.19</b>	<b>0.04</b>	<b>0.43</b>	<b>0.29</b>

- \*) 1 = Oberer Bereich der Krone, vom Weg abgewandt  
 2 = Oberer Bereich der Krone, dem Weg zugewandt  
 3 = Oberer Bereich der Krone, parallel zum Weg  
 4 = Oberer Bereich der Krone innen, dem Weg zugewandt  
 5 = Oberer Bereich der Krone innen Mitte, dem Weg zugewandt  
 6 = Oberer Bereich der Krone Mitte, dem Weg zugewandt  
 7 = Oberer Bereich der Krone innen Mitte, dem Weg abgewandt

### 3.5.2 Analyse auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern

Bei einer Aufgliederung einzelner Beiträge zur Eckernproduktion des Baumes 62 konnten mit der Verwendung von Mikrosatelliten-Markern leicht unterschiedliche Tendenzen erkannt werden. Die nordwestlich stehende Buche ist rundum von Fichten umgeben. Daher kann vermutet werden, dass ihr Pollen weniger zur Eckernproduktion beigetragen hat, obwohl sie mit einem Abstand von 75 Metern die am nächsten stehende Buche ist. Ihr Pollen könnte gleichermaßen in allen Kronenteilen des Baumes 62 effektiv geworden sein. Dies lässt sich aus Tabelle 3.16 in der Spalte 6 (Pollenelter nordwestlich) ablesen. Bei den Beiträgen anderer potenzieller Polleneltern (Spalte 4 und 5) lassen sich leichte Tendenzen einer unterschiedlichen Verteilung des herangebrachten effektiven Pollens erkennen. Die Anwendung von zwei Mikrosatelliten-Markern (*mfc5* und *mfs11*) zeigte, dass 6 von 58 Eckern auf der vom Weg abgewandten Seite Pollen von den Buchen im Westen, jedoch 14 von 68 Eckern auf der dem Weg zugewandten Seite Pollen von diesen enthalten könnten. Nimmt man einen weiteren Mikrosatelliten-Marker hinzu, so bleibt diese Tendenz erhalten, das Ergebnis wird sogar noch etwas deutlicher. Der Einfluss des Weges und damit der potenzielle Beitrag des Pollens von den Buchen im Westen und Osten wurde mit der Nutzung von zwei Mikrosatelliten-Markern auf 23 der untersuchten 58 Eckern im abgewandten Bereich quantifiziert, jedoch auf 32 der 68 untersuchten Eckern auf der Seite zum Weg hin.

Für die beobachtete Selbstbefruchtungsrate lässt sich, wenn auch sehr abgeschwächt, ebenfalls zeigen, dass die Anwendung eines dritten SSRs-Locus die Ergebnisse verschärft: Es konnte für 2% der Eckern ein weiterer (unbekannter) Pollenelter nachgewiesen werden. Die Gesamtanzahl der unbekanntem Polleneltern erhöhte sich dadurch auf 48% (Spalte 7, unterer Teil der Tabelle).

**Tab. 3.16:** Vaterschaftsanalyse für Eckern des Einzelbaumes in der Abt.62, i) auf der Basis von *mfc* 5 und *mfs* 11, ii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04

i)

Stichprobe Zweig )	Gesamt- zahl Eckern	Maximale Selbstbe- fruchtungsrate	Zwei westliche Buchen als mögliche Polleneltern	Sechs östliche Buchen als mögliche Polleneltern	Eine nordwestliche Buche als möglicher Pollenelter	Weitere unbekannte Polleneltern
1	40	5 (12%)	13 (32%)	5 (12%)	4 (10%)	13 (32%)
2	31	5 (16%)	13 (42%)	2 (6%)	1 (3%)	10 (32%)
3	6	1 (16%)	2 (33%)	1 (17%)	1 (17%)	1 (16%)
4	13	1 (8%)	4 (31%)	0 (0%)	2 (15%)	6 (46%)
5	9	0 (0%)	6 (67%)	1 (11%)	0 (0%)	2 (22%)
6	9	1 (11%)	3 (33%)	0 (0%)	1 (11%)	4 (44%)
7	18	2 (11%)	4 (44%)	3 (17%)	4 (22%)	5 (28%)
<b>Total</b>	<b>126</b>	<b>15 (12%)</b>	<b>45 (36%)</b>	<b>12 (10%)</b>	<b>13 (10%)</b>	<b>41 (32%)</b>

ii)

Stichprobe Zweig )	Gesamt- zahl Eckern	Maximale Selbstbe- fruchtungsrate	Zwei westliche Buchen als mögliche Polleneltern	Sechs östliche Buchen als mögliche Polleneltern	Eine nordwestliche Buche als möglicher Pollenelter	Weitere unbekannte Polleneltern
1	40	3 (8%)	12 (30%)	5 (12%)	2 (5%)	18 (45%)
2	31	4 (13%)	11 (35%)	1 (3%)	0 (0%)	15 (48%)
3	6	1 (17%)	2 (33%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (50%)
4	13	1 (8%)	4 (31%)	0 (0%)	2 (8%)	6 (46%)
5	9	0 (0%)	5 (56%)	1 (11%)	0 (0%)	3 (33%)
6	9	1 (11%)	2 (22%)	0 (0%)	1 (11%)	5 (56%)
7	18	2 (11%)	2 (11%)	2 (11%)	2 (11%)	10 (56%)
<b>Total</b>	<b>126</b>	<b>12 (10%)</b>	<b>38 (30%)</b>	<b>9 (7%)</b>	<b>6 (5%)</b>	<b>60 (48%)</b>

- \*) 1 = Oberer Bereich der Krone, vom Weg abgewandt  
 2 = Oberer Bereich der Krone, dem Weg zugewandt  
 3 = Oberer Bereich der Krone, parallel zum Weg  
 4 = Oberer Bereich der Krone innen, dem Weg zugewandt  
 5 = Oberer Bereich der Krone innen Mitte, dem Weg zugewandt  
 6 = Oberer Bereich der Krone Mitte, dem Weg zugewandt  
 7 = Oberer Bereich der Krone innen Mitte, dem Weg abgewandt

## **4 DISKUSSION**

### **4.1. Entwicklung und Einsatz von Mikrosatelliten-Markern**

#### **4.1.1. Potenzielle Probleme bei der Entwicklung und dem Einsatz der Mikrosatelliten-Marker**

Für die vorliegende Arbeit spielt der Einsatz von hochvariablen Mikrosatelliten-Markern eine wichtige Rolle bei der effizienten Unterscheidung elterlicher Beiträge in Eckern und Buchenjungwuchs.

Die Mikrosatelliten haben als Marker jedoch auch einige Nachteile. Das erste Problem stellt die mögliche Reduktion oder der komplette Verlust eines Amplifizierungsproduktes aufgrund eines Basenaustausches oder eines sogenannten „indels“ (Insertions- oder Deletionsereignis) (Ritchie, [http://www.massey.ac.nz/~pritchie/downloads/Lecture\\_12.pdf](http://www.massey.ac.nz/~pritchie/downloads/Lecture_12.pdf)) in der flankierenden Primerregion dar. In solchen Fällen spricht man von Nullallelen. Im heterozygoten Zustand können diese Nullallele nicht oder nur schwer erkannt werden. Dieses Problem kann nur durch die Entwicklung neuer Primersequenzen gelöst werden.

Schwierigkeiten können auch während der eigentlichen Polymerasekettenreaktion auftreten. Die Taq-Polymerase kann während der Reaktion ein sogenanntes „slippage“ produzieren, was als unspezifische Enzymaktivität der Taq-Polymerase bezeichnet wird. Dabei wird von der Taq-Polymerase dem PCR-Produkt ein zusätzliches dATP angehängt, welches für die Auswertung der Allele bzw. deren Größenbestimmung problematisch sein kann (Ginot et al. 1996, Gill et al. 1997).

Ein weiteres Problem kann dann entstehen, wenn zwei Fragmente mit exakt der gleichen Größe amplifiziert werden, die aber nicht aus der gleichen Ahnensequenz („size homoplasy“) abstammen (Estoup und Cornuet 1999).

Hedrick (1999) bestätigte, dass die Werte von häufig verwendeten Differenzierungsmaßen wie  $G_{st}$ , die mit den sehr polymorphen Mikrosatelliten ermittelt wurden, aufgrund der großen Variation innerhalb der Populationen besondere Probleme hervorrufen. In Verbindung mit Familienstrukturen scheint auch der Fixierungsindex  $F$ , welcher einen Homozygotenüberschuss charakterisiert, besonders hoch auszufallen, was auf einen Wahlund-ähnlichen Effekt in der Zusammenfassung von genetisch differenzierten Familien zurückgeführt werden kann (pers. Mitteilung Vornam, Hattemer und Ziehe). Diese Verhältnisse liegen insbesondere in den Daten der Abteilung 3100c (bei *mfc* 5 und *mfs* 11) vor. Nach den Daten aus Vornam et al. (2003) lag der  $F$ -Wert im Fall *mfc*5 beispielweise bei 0,262.

Einige der oben genannten technischen Probleme treten auch mit den hier angewendeten Primern auf. Die folgende Beschreibung gilt für die Primer sowohl von Tanaka et al. (1999) als auch Pastorelli et al. (2003).

#### **4.1.1.1. Besonderheiten für die Primer von Tanaka et al. (1999)**

Taylor et al. (1999) beschreiben, dass insbesondere Mikrosatelliten mit unterbrochener Motivwiederholung bei der Erkennung der repetitiven Sequenz Probleme bereiten. In der vorliegenden Arbeit wurde für den Primer *mfc* 5 (Tab. 3.1) eine unterbrochene Motivwiederholung bestätigt. Allerdings wurde mit diesem Primer auch die größte Anzahl Varianten unter allen einbezogenen Primern gefunden.

#### **4.1.1.2. Besonderheiten bei den Primern von Pastorelli (et al. (2003))**

Für die Primerpaare FS 1\_15 und FS 1\_03 wurde das Auftreten von Artefakten vermutet. In einem Bereich von 92 bp bis 120 bp konnten die Amplifizierungsprodukte des Primerpaares FS 1\_15 ausgewertet werden. Die Banden in dem Bereich von 132 bp konnten aber durch das Auftreten zahlreicher „Stotterbanden“ nicht eindeutig klassifiziert werden. Die gleiche Situation entstand für die Amplifizierungsprodukte des Primerpaares FS 1\_03. Während in dem Bereich von 82 bp bis 118 bp wiederum klare Banden analysiert wurden, zeigten andere Bereiche eine große Anzahl solcher „Stotterbanden“. Das Vorkommen dieser Bandentypen ist nicht selten. So wurden in einer Untersuchung an *Quercus macrocarpa* alle amplifizierten Primer mit Artefaktbanden dargestellt (Dow und Ashley 1998).

Auch die Veränderung der PCR-Bedingungen mit Hilfe eines Temperaturgradienten ließ für diese beiden Primerpaare keine klaren Rückschlüsse zu.

Für die Interpretation der vorliegenden Arbeit mussten sicherheitshalber die Bandenmuster von einigen Allelen der Primerpaare FS 1\_03 und FS 3\_04 von Pastorelli et al. (2003) zusammengefasst werden. Für den Genort FS 1\_03 bezeichnen Varianten mit einer Größe von 98 bp, 100 bp, 102 bp das Allel 8, diejenigen mit einer Größe von 104 bp, 106 bp und 108 bp das Allel 9 und die mit einer Größe von 112 bp, 114 bp, 116 bp und 118 bp das Allel 10. Für den Genort zum Primerpaar FS 3\_04 wurden alle Beobachtungen in einem Bereich zwischen 194 bp und 196 bp als Allel 2 klassifiziert. Das Allel 3 charakterisiert den Bereich zwischen 202 bp und 204 bp und das Allel 5 denjenigen zwischen 205 bp und 206 bp. Diese Gruppierung der aufgetretenen Varianten erklärt für den Primer FS 3\_04 den niedrigen Wert in der allelischen Vielfalt und mittleren Heterozygotie.

#### **4.1.1.3. Besonderheiten bei den Primerpaaren *mfc 5*, *mfs 11* und FS 3\_04**

Die hier beobachteten Werte für die genetischen Parameter der Mikrosatelliten-Marker liegen niedriger als in den Untersuchungen anderer Autoren. Dow und Ashley (1998) fanden bei *Quercus macrocarpa* 14 bis 24 Allele je Locus und beobachteten eine mittlere Heterozygotie von 70% bis 95%. In der vorliegenden Arbeit hat die Zusammenfassung von Allelen (z. B. für FS 3\_04) sicher Einfluss auf die genetische Diversität und mittlere Heterozygotie gehabt. Auch die bei Altbäumen vorgefundene räumliche Strukturierung mit starker Autokorrelation für kurze Entfernungen könnte bei den Primern *mfc 5* und *mfs 11* zu den geringen Werten für diese Parameter geführt haben. Diese Situation ist nicht selten. Rahman et al. (2000) untersuchten *Populus tremuloides*. Bei der Verwendung von sechs Primern haben sie durchschnittlich nur 4.2 Allele je Locus gefunden.

### **4.2 Abteilung 3100c**

#### **4.2.1. Ergebnisse der genetischen Parameter auf der Basis von Isoenzymuntersuchungen**

##### **4.2.1.1 Räumliche genetische Variation**

Die Menge der geernteten Eckern war in beiden reproduktiven Perioden unterschiedlich. In der zweiten Periode wurden 300% mehr Eckern geerntet, als in der ersten Periode. Solche unterschiedlichen Mengen sind insbesondere bei Buche nicht ungewöhnlich. Im Vergleich solcher Jahre ist die Effektivität und die Anzahl der an der Reproduktion beteiligten Altbäume als verschieden zu vermuten. Auch Wang (2001) berichtete von drei verschiedenen Buchenbeständen, in denen er in der zweiten reproduktiven Periode (1998) eine Steigerung der Eckernernte um bis zu 900% gegenüber dem Jahrgang 1994 verzeichnen konnte.

Die hier verwendeten Enzymsysteme zeigten auch bei anderen Baumarten viel genetische Variation (Hamrick et al. 1992). Müller-Starck und Ziehe (1991), Turok (1995), Paule et al. (1995), Leonardi und Menozzi (1995), Hattemer und Ziehe (1996), Ziehe et al. (1998) Konnert et al. (2000) und Wang 2001 berichteten über genetische Inventuren der Buche mit einer hohen genetischen Variation innerhalb einer jedoch kleinen Variation zwischen Populationen. Comps et al. (1991) stellten unterschiedliche Gründe dar, die eine genetische Differenzierung beeinflussen können.

In der vorliegenden Arbeit variieren die Werte für die mittlere Heterozygotie von 23% bis 52%. Diese Werte liegen höher als die früherer Untersuchungen von Buchenbeständen (Kim 1980, 1985, Müller-Starck 1985, Comps et al. 1990, Müller-Starck und Ziehe 1991). Müller-

Starck (1985) berichtete, dass die Zahl unterschiedlicher Allele und Genotypen und der Heterozygotiegrad unter den „toleranten“ Buchen in stressbelasteten Umweltbedingungen im Vergleich mit den „sensitiven“ hoch ist. Auch im Buchenjungwuchs erwies sich Heterozygotie als vorteilhaft für die Überlebensfähigkeit (Ziehe und Hattemer 1998). Da im südwestlichen Sektor der Abteilung 3100c eine größere Heterozygotie unter den Eckern als in den anderen Bereichen vorhanden ist, liegt möglicherweise auch eine höhere adaptive Kapazität vor.

Hinsichtlich der Genbestandsdiversität wurden bis zu 1,64 effektive Allele pro Locus festgestellt. Die Werte der Diversität und Heterozygotie liegen höher als bei vielen Buchenuntersuchungen anderer Autoren (Turok 1995, Müller-Starck 1996, Wang 2001). Allerdings fand Doúnavi (2000) für die Teilkollektive *Zwiesel* und *Nichtzwiesel* in drei Buchenbeständen noch höhere Werte für die Genbestandsdiversität.

Die räumliche Verteilung der genetischen Parameter zeigt für beide untersuchten Jahrgänge ein ähnliches Muster. Die Ergebnisse erlauben eine Aufteilung der Abteilung in drei unterschiedliche Bereiche. Üblicherweise wird jedoch für diese genetischen Parameter der Mittelwert über das gesamte Material betrachtet (Müller-Starck 1996, Turok et al 1998, Cuguen et al. 1988, Müller-Starck et al. 1992, Müller-Starck 1993, Starke et al. 1995, Hattemer und Ziehe 1996, Ziehe et al. 1998, Starke et al. 1996, Konnert et al. 2000). Die hier vorliegenden Ergebnisse betonen die Notwendigkeit, räumlich differenziert vorzugehen um lokale Effekte und Besonderheiten zu erfassen

Die Befunde zum Grundmuster sind mit denen von Gregorius et al. (1986) vergleichbar, wo in der Samenproduktion die räumlichen genetischen Unterschiede in zwei aufeinander folgenden Jahren weitgehend unverändert blieben. Dieses kann als Hinweis auf eine adaptive Strategie der Buche dienen, welche neben der Viabilitätsselektion auch die Verbreitung von Gameten und Samen umfasst.

#### **4.2.1.2. Räumliche Verteilung von Trägern der Allelvarianten MNR-A<sub>1</sub>**

Die überraschend häufige Beobachtung des Fremdallels MNR-A<sub>1</sub> überwiegend am nordwestlichen Bestandesrand kann auf eine nicht gleichmäßig durchmischte Pollenwolke hinweisen. Ebenso kann aber auch die bezüglich eines aus Nordwest ankommenden Pollens bevorzugte Position im Randbereich eine Rolle spielen. Dafür spricht, dass im Bestandesinneren die Menge der Eckern mit diesem Allel abnimmt. Das wiederum kann

damit erklärt werden, dass dort die Konkurrenz mit dem Pollen der umgebenden Nachbarbäume größer ist als am Bestandesrand.

#### **4.2.1.3. Räumliche Verteilung von Trägern der Allelvariante LAP-A<sub>4</sub>**

Müller-Starck und Ziehe (1991) demonstrierten ein Beispiel für die Bedeutung von LAP-A<sub>4</sub>. Die Häufigkeit des aus LAP-A<sub>4</sub> und -A<sub>5</sub> zu LAP-A<sub>4</sub> zusammengefassten Allels hatte vom Eckernstadium zum zweijährigen Jungwuchs unter belasteten Umweltbedingungen drastisch zugenommen. Die Träger dieses Allels besitzen dort offenbar bessere Überlebenschancen als andere Sämlinge. Die räumliche Verteilung von LAP-A<sub>4</sub> ist hier innerhalb des Bestandes heterogen. Obwohl das Allel in den Eckern hauptsächlich im südwestlichen Bereich gefunden wurde, konnte seine maximale Häufigkeit für die untersuchten Jungwuchsflächen im südöstlichen Bereich und bei den Jungpflanzen nachgewiesen werden, die unter den Randfichten eines angrenzenden Bestandes wachsen (Tab. 3.11.). Das kann als eine Bestätigung der Variation in der Anpassungsfähigkeit des Jungwuchses gewertet werden. Abhängig von Mikrostandortbedingungen ist LAP-A<sub>4</sub> vermutlich für das Wachstum des Jungwuchses unter den Umweltbedingungen des südwestlichen Bereiches förderlich (Tab. 3.11).

Generell finden sich für die südöstlichen, südlichen und nördlichen Bereich niedrigere Werte der als wichtig für den Naturverjüngungserfolg erachteten Allelvarianten. Im südwestlichen Bereich und unter den Fichten sind hingegen die im Kap.1.3.2.1 genannten Allelvarianten, die eine förderliche Rolle für die Überlebensfähigkeit oder das Wachstum im Jungwuchs spielen könnten, sehr häufig. Sie können auf diese Weise geringe genetische Variation kompensieren helfen und zu einer stabilen Jungwuchsentwicklung führen.

#### **4.2.2. Bestätigung von Korrelationen bei Mikrosatelliten-Markern (Moran's Index und genetischer Abstand)**

Generell sind die Autokorrelationen innerhalb vieler Forstpopulationen schwach ausgeprägt. Für die europäische Buche wurde nur eine kleine Anzahl von signifikanten Autokorrelationen gefunden (Merzeau et al. 1994). Ähnliche Ergebnisse wurden für andere Arten wie *Picea mariana* (Knowles 1991), *Acer saccharum* (Perry und Knowles 1991), *Quercus petraea* und *Q. robur* (Bacilieri et al. 1994) festgestellt.

Signifikante Korrelationen sind nicht sehr häufig, aber es gibt einige Untersuchungen, in denen die Autokorrelationen für kleine Entfernungen überprüft wurden. Knowles et al. (1992) berichteten dies von Isoenzymen in einer Population von Tamarack (*Larix laricina*). Diese

Population hat die Besonderheit, dass sie nach einer Störung wieder von den überlebenden Altbäumen kolonisiert wurde und als Ergebnis dieser Störung eine räumliche Autokorrelation zeigte. In *Athersperma moschatum* (Shapcott 1995) wurde für Isoenzyme eine signifikante Autokorrelation nur bei Bäumen in einem Abstand von weniger als 10 Metern gefunden. In der vorliegenden Untersuchung wurde für zwei Mikrosatelliten-Marker (*mfc* 5 und *mfs* 11) bei Altbäumen mit einer Entfernung von unter 30 Metern eine signifikante genotypische Autokorrelation festgestellt. Als Erklärung könnte man vermuten, dass diese Situation durch geringen Genfluss oder hohe Selbstbefruchtungsraten hervorgerufen wird. Die Analyse der Elternschaft aber ergab besonders im nördlichen Bereich, wo größere genotypische Ähnlichkeit herrschte, keine Einschränkung des Genflusses (Tab. 3.10). Letztlich spielt die Wahrscheinlichkeit des gleichen Sameneltern wohl die primäre Rolle.

#### **4.2.3. Vergleich zwischen Isoenzymen und Mikrosatelliten-Markern**

Die beobachteten Isoenzyme zeigten weniger genetische Variation als die Mikrosatelliten-Marker. In der vorliegenden Arbeit wurde in der Abteilung 3100c für die Isoenzymmarker eine Genbestandsdiversität von 1,53 effektiven Allelen je Genlocus und eine mittlere Heterozygotie von 0,33 erreicht. Streiff et al. (1998) berichteten in Altbäumen von *Quercus* Arten über Anzahlen von 3 bis 5 Allelen je Enzymgenlocus und eine mittlere Heterozygotie zwischen 0,14 bis 0,37.

Für die vorliegende Arbeit lag bei Verwendung von zwei Mikrosatelliten-Markern (*mfc* 5 und *mfs* 11) die Genbestandsdiversität bei 4,43 effektiven Allelen pro Locus und die mittlere Heterozygotie bei 0,62. Die beiden Parameter wurden bei Berücksichtigung von drei Mikrosatelliten-Markern (*mfc* 5, *mfs* 11 und FS 3\_04) allerdings verringert; in diesem Fall war die Genbestandsdiversität 2,59 und die mittlere Heterozygotie 0,51. Mit einer allelischen Vielfalt von 23, 9 und 5 für die drei Mikrosatelliten-Marker erkennt man ein sehr unterschiedliches Bild. Die gefundenen Werte in der mittleren Heterozygotie sind für die Mikrosatelliten-Marker allerdings deutlich niedriger im Vergleich mit denen von Streiff et al. (1998), welche über 12 bis 19 gefundene Allele je Locus und eine beobachtete Heterozygotie von 0,70 bis 0,87 berichteten. Die zur Sicherheit vorgenommene Zusammenfassung möglicherweise verschiedener allelischer Varianten hat im hier vorliegenden Fall die Heterozygotie und genetische Diversität sicher verringert.

#### **4.2.4. Abstammungsrekonstruktion bei Eckern und Naturverjüngung**

Das im Rahmen dieser Untersuchung entwickelte Programm "ABSTAMMUNG" erlaubt eine schnelle und unkomplizierte Identifikation von potenziellen Samen- und Pollenspendern. (weitere Einzelheiten siehe Material und Methoden).

Innerhalb des untersuchten Bestandes sind lokale Bestandesstrukturen wie etwa die Wirkung der Nachbarschaft auf das Paarungssystem beobachtet worden. Im nördlichen Bereich wurde mit den Eckern von Kreisstichproben der Altbäume 19 und 60 der Einfluss der Bestandesstruktur und Nachbarschaftsverhältnisse quantifiziert. Für Baum 19 sind im Nordwesten keine weiteren Nachbarbäume vorhanden, südlich steht nur ein abgestorbener Baum (Abb. 2.1). Lediglich bei elf von 30 Eckern wurde der Baum 19 als Elter ausgeschlossen (Tab. 3.4). Zudem ist der Anteil Eckern, bei dem Selbstbefruchtung möglich ist, besonders hoch. Die Daten zeigen zudem, dass in der näheren Umgebung dieses Baumes vergleichsweise viel Jungwuchs von diesem selbst stammen kann.

Mit Hilfe des Programms konnte nachgewiesen werden, dass die Eckern der Kreisstichprobe 60R des Baums 60 nicht von ihm abstammen können, sondern eher die Altbäume 59, 61, 63 und 66 als Sameneltern in Frage kommen. Dieses ist ein weiteres Beispiel für den Einfluss der Bestandesstrukturen. In diesem Fall bewirkt die Überlappung der Baumkronen eine Förderung der genetischen Diversität für den Bereich des Baumes 60.

#### **4.2.5. Analyse der Einzelbaumnachkommenschaften**

Bei der Untersuchung der Eckern eines einzelnen Baumes im Bestand ist es von Vorteil, wenn die Eckern direkt in der Krone geerntet werden, damit der Samenelter zweifelsfrei feststeht und der zugehörige Pollenelter eindeutig bestimmt werden kann. Normalerweise werden die Eckern geerntet, ohne den Kronenbereich zu berücksichtigen. Dadurch ist ein differenzierter Nachweis über den Einfluss der Nachbarschaftsverhältnisse, der Bestandesstruktur, die Auswirkung der vorherrschenden Windrichtung für den Pollentransport und die Entfernung der potenziellen Polleneltern erschwert.

##### **4.2.5.1. Analyse mit Mikrosatelliten**

Für den Baum 9 wurde die Mehrheit der nächststehenden potenziellen Polleneltern in weniger als 50 Metern Abstand gefunden. Für keine seiner Eckern war es erforderlich, einen Pollenelter außerhalb des Bestandes anzunehmen. Die Selbstbefruchtungsrate wurde mit 8% als hoch eingeschätzt. Auch für den Baum 95 befanden sich die meisten nächststehenden potenziellen Polleneltern in einem Abstand von maximal 50 Metern. Der maximale Anteil der

Selbstbefruchtungsrate wurde hier aber nur auf 1% geschätzt. Die Menge der unbekanntem Polleneltern außerhalb des Bestandes machte hier den beträchtlichen Anteil von 16% aus. Der von diesen stammende Fremdpollen wirkte sich auf die genetische Variation der erzeugten Eckern förderlich aus. Der Einfluss der nordwestlichen Windrichtung konnte hier bestätigt werden. Er gibt aber keine plausible Erklärung für den Eintrag von Fremdpollen in die Nachkommenschaft des Einzelbaumes 95, es sei denn, dass während der entscheidenden Phase der Pollenverbreitung zumindest kurzzeitig die Windrichtung drastisch gewechselt hätte und dass gleichzeitig die weiblichen Blüten des Baumes 95 rezeptiv waren. Ein Beispiel für einen hohen Fremdpollenanteil wurde auch von Dow und Ashley (1998) beschrieben. In *Quercus macrocarpa* wurden zumindest 57% der gesammelten Eicheln von externen Polleneltern erzeugt. Für die Distanz der Polleneltern innerhalb des Bestandes wurde dort ein Mittelwert von 75 Metern angenommen (Dow und Ashley 1998).

#### **4.2.5.2. Einfluss der Bestandesstruktur auf den Pollenflug**

Innerhalb des Bestandes trat der Baum 88 für den Samenerler 95 bei mehreren Eckern als möglicher Pollenelter auf. Bezogen auf einzelne Zweige des Baumes 95 kann der Baum 88 den Pollen zur Bestäubung von mehreren dicht nebeneinander stehenden weiblichen Blüten beigetragen haben. Dieses wäre dadurch erklärbar, dass die einzelnen Pollenkörner in der Pollenwolke lokal benachbart blieben und auch in diesem Zustand durch den Wind transportiert wurden. Eine vorhandene Baumücke hat wahrscheinlich den Transport erleichtert. Eine derartige Aggregation von Pollen gleicher Abstammung kann im Erfolgsfall die Effektivität des pollenproduzierenden Baumes erhöhen.

#### **4.2.6. Analyse des Jungwuchses**

##### **4.2.6.1. Isoenzyme**

LAP-A<sub>4</sub> und insbesondere LAP-A<sub>4</sub>A<sub>4</sub> sind in der Südlücke in den Jungwuchspflanzen vergleichsweise gering vertreten. Zwei mögliche Erklärungen sind hier denkbar:

1. Während der Reproduktionsphase, die zur Entstehung des Jungwuchses in der Südlücke führte, waren Altbuchen, welche A<sub>4</sub> am Genort LAP-A tragen, nur gering beteiligt. Möglicherweise gab es vor der Aufnahme des Bestandes noch weitere Buchen in der Südlücke. Damit lag A<sub>4</sub> bereits in den Eckern mit verminderter Häufigkeit vor.
2. Da die Umweltbedingungen in der Südlücke aufgrund der Lichtverhältnisse gegenüber den anderen Bereichen der Abteilung 3100c stark verändert sind, waren die

Selektionsbedingungen für die Träger von LAP-A<sub>4</sub> möglicherweise nicht vorteilhaft. Die Ergebnisse der Meliorationsexperimente von Starke et al. (1996) mit vergleichsweise geringen Effekten an LAP-A<sub>4</sub> können diese Vorstellung unterstützen.

#### **4.2.6.2. Vaterschaftsanalyse mit Mikrosatelliten-Markern**

Die hohe räumliche Autokorrelation für geringe Distanzen der Altbäume im Bestand der Abteilung 3100c signalisiert, dass eine größere genetische Ähnlichkeit zwischen denjenigen Bäumen existiert, die in einem Abstand von 30 Metern oder weniger auseinander liegen. Etwas Ähnliches beschreiben González-Martinez et al. (2002) für die Verjüngung von *Pinus pinaster* Ait. Sie fanden eine positive Autokorrelation in Abständen unter 10 Metern. Die Autoren erklärten die Ergebnisse mit begrenztem Genfluss, da eine große Menge von Samen des zugehörigen Baumes in einem Abstand unter 15 Metern gefunden wurde.

Ganz allgemein zeigt die Analyse der Abstammungsrekonstruktion, dass der Anteil an Jungwuchs, welcher einen möglichen Samen- und Pollenelter jeweils in einem Abstand von höchstens 50 Metern hat, deutlich variiert. Der Anteil liegt im südwestlichen Bereich bei 15% und unter Fichten bei 80%. Diese Ergebnisse legen nahe, dass ein einfaches Modell zur Beschreibung des Genflusses nicht ausreicht. Das Modell der Isolation durch räumliche Distanz (Wright 1943, Wright 1946, Comps et al. 1990, Comps et al. 1991) könnte hier teilweise für die Beschreibung des Genflusses im Norden, Nordosten beziehungsweise unter Fichten geeignet sein. Im südwestlichen Bereich erscheint dieses Modell ungeeignet, da dort durch den Wind eingetragener Fremdpollen nicht auszuschließen ist. Darin könnte auch eine Erklärung dafür liegen, dass für die südwestliche Naturverjüngung die nächststehenden Altbuchen den niedrigsten Anteil der potenziellen Polleneltern stellen.

### **4.3. Abt. 1083**

#### **4.3.1. Isoenzymmarker**

Die strukturelle Zusammensetzung des Bestandes spielt eine wichtige Rolle für die genetische Variation und die Häufigkeiten bestimmter, als adaptiv vermuteter Allelvarianten. Eine hohe Genbestandsdiversität und eine hohe mittlere Heterozygotie wurden in denjenigen Jungwuchsflächen beobachtet, die nur von Altbuchen umgeben sind. In dem mit Fichten gemischten Buchenbestand wurde eine geringe genetische Variation sowie eine geringe Qualität und niedrige Wuchshöhe der Naturverjüngung festgestellt. Möglicherweise verringern die Fichten aber nicht nur die genetische Variabilität, sondern belasten auch die Bedingungen des Mikrostandorts für die Entwicklung des Buchenjungwuchses.

### **4.3.2. Vaterschaftsanalyse mit Mikrosatelliten-Markern**

Die Bestandeszusammensetzung (Anzahl der nächststehenden Altbuchen und Anteil der Mischbaumarten) hat einen großen Einfluss auf die genetischen Strukturen der Naturverjüngung. Auf der Fläche, auf der nur Altbuchen stocken, stellen vermutlich viele verschiedene der nächststehenden Altbäume einen hohen Anteil der potenziellen Samen- oder Polleneltern. Eine effiziente Fichtenabschirmung wie bei den Flächen B3 und B4 könnte einem hohen Selbstbefruchtungsanteil Vorschub leisten. Dennoch ist anhand der Beobachtungen erkennbar, dass auch hier keine totale Verhinderung des Pollenfluges und Samenfluges vorliegt (Tab. 3.16), was ein noch deutlicheres Absinken der genetischen Variation und damit der genetischen Anpassungsfähigkeit auf diesen Verjüngungsflächen verhindert.

## **4.4. Isolierter Baum im Bestand 62**

### **4.4.1. Analyse mit Isoenzymmarkern**

Obwohl dieser Baum isoliert steht, wird im Vergleich mit den Eckern des Bestandes 3100c das Ausmaß der genetischen Variation als ziemlich hoch bewertet (Tab. 3.15). Diese Variation ist nur durch eine hohe Anzahl unterschiedlicher Polleneltern zu erklären. Dieses ist nicht durch den überwiegenden Beitrag nur weniger, nahe stehender Altbäume als Polleneltern zu deuten. Es gab allerdings keine auffälligen Unterschiede in der genetischen Ausstattung der Eckern verschiedener Kronenteile bzw. Zweige.

### **4.4.2. Vaterschaftsanalyse durch Mikrosatelliten-Marker**

Der Pollenbeitrag kann auch von Bäumen in großem Abstand kommen. Für 48% der untersuchten Eckern wurde kein potenzieller Pollenelter unter den einbezogenen Buchen gefunden. Das legt nahe, dass die tatsächlichen Polleneltern möglicherweise weit entfernt sind. Ähnliche Ergebnisse wurden von Krabel und Ziehe (unveröffentlicht) auch mit Hilfe von Enzymgenloci erzielt. Sie stellten für eine andere Einzelbaumnachkommenschaft dieses Baumes fest, dass der Selbstbefruchtungsanteil kleiner als 15% ist. In der vorliegenden Arbeit wurde ein noch kleinerer maximaler Selbstbefruchtungsanteil von 10% gefunden, was beim Einsatz hochvariabler Mikrosatelliten-Marker auch zu erwarten ist.

#### **4.5. Praxisrelevanz der Ergebnisse**

Eine große genetische Variation in Eckern (pro Flächeneinheit) bildet die Grundlage dafür, dass unter variierenden Umweltbedingungen zumindest einige der sich entwickelnden Buchensämlinge aufgrund ihrer genetischen Ausstattung die natürliche Selektion unter Freilandbedingungen überleben und stabile Jungwuchsinselfen bilden können. Von dem Ausmaß genetischer Variation innerhalb der Jungwuchsinselfen hängt es wiederum ab, ob und wieviele der Jungpflanzen sich zu Trägern einer Waldbaumpopulation entwickeln, die den weiteren Stressbedingungen und Belastungen widerstehen und über natürliche Verjüngung dann wieder zur nächsten Generation beitragen können.

Das Ausmaß der genetischen Variation kann durch Indikatoren wie die Diversität des Genvorrats oder die mittlere Heterozygotie, jeweils bezogen auf einen Satz von Genorten, quantifiziert werden. Diese Indikatoren stehen in engem Zusammenhang mit der genetischen Anpassungsfähigkeit an variierende Umweltbedingungen. Die Befunde für die Eckern und Jungwuchsinselfen von Buchenrein- und Mischbeständen zeigen allerdings, dass die vorgefundene Diversität wie auch die Heterozygotie über die Bestandesfläche stark variieren und insbesondere von Bestandesstrukturen (Dichtstand, Mischung mit anderen Baumarten, Randbereiche etc.) abhängen.

Die Vaterschaftsanalyse erlaubt eine differenzierte Beurteilung des Genflusses, sowohl für die Versuchsflächen mit Fichtenabschirmung als auch für den isolierten Baum. Unterschiedlicher Genfluss fördert die genetische Variation in unterschiedlicher Weise. Damit ist für die einzelnen Teile eines Bestandes auch die Ausgangssituation in der genetischen Anpassungsfähigkeit möglicherweise nicht gleich was stellenweise mangelnden Verjüngungserfolg aufklären kann.

Für die Praxis wäre es von wesentlichem Vorteil, auf Grund dieses Ergebnisse

- Eingriffe in die Bestandesstrukturen (Durchforstung, einzelstammweise Nutzung) so zu steuern, dass die Verjüngungsfähigkeit eines Bestandes nicht beeinträchtigt, sondern eher gefördert wird,
- im Rahmen des Waldumbaus und bei Begründungen von Mischbeständen Bestandesstrukturen zu schaffen, welche später eine flächige Verjüngung ermöglichen,
- innerhalb der Bestände anhand der Strukturen und Besonderheiten solche Bereiche auszuweisen, in denen die Verjüngung problematisch erscheint und mit geeigneten

Maßnahmen (Verbesserung des Genflusses, Bodenmelioration, Beimischung von Saatgut) unterstützt werden sollte und

- innerhalb der Bestände Bereiche ausweisen zu können, in denen ein hohes Ausmaß an genetischer Variation in den Eckern zu erwarten ist, oder auch solche, in denen besser kein Saatgut gewonnen werden sollte.

Die aus diesem Vorhaben gewonnenen Erkenntnisse sollen dazu dienen, die hier skizzierten Vorteile in Zukunft auch nutzbar zu machen.

## ZUSAMMENFASSUNG

### **Räumliche Verteilungen der genetischen Ausstattung von Eckern und Jungwuchs der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Abhängigkeit von Bestandesstrukturen**

Naturverjüngung innerhalb von Beständen dürfte über Baumgenerationen hinweg die Erhaltung adaptiver Kapazitäten besonders effektiv gewährleisten; sie stellt im Vergleich zu künstlicher Verjüngung bzw. Bestandesbegründung eine wirkungsvolle und nachhaltige Alternative für den Fortbestand der Wälder dar. Hierbei ist aber nicht nur das Ausmaß der Verjüngung relevant, sondern auch deren genetische Ausstattung. Fehlende genetische Variation aufgrund genetischer Erosion oder Inzucht kann den Verjüngungserfolg erheblich einschränken. In der vorliegenden Arbeit werden genetische Strukturen der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Rein- und Mischbeständen insbesondere unter dem Aspekt der Eigenschaften der Verjüngung beschrieben.

Bezüglich des untersuchten Materials wurde ein Gradient in der räumlichen Isolation von Altbuchen verwendet. Dabei handelt es sich zunächst um einen kleinen und durch Fichtenbestände isolierten Buchenreinbestand (Abteilung 3100c, FoA Dassel) im Solling. In diesem Bestand sollte die räumliche Verteilung der genetischen Ausstattung von Altbäumen, Eckern und Jungwuchs charakterisiert und Besonderheiten in der Bestandesstruktur der Altbäume im Hinblick auf Eckern und Jungwuchs, interpretiert werden.

Ferner wurden in einem Mischbestand (Abteilung 1083, FoA Eschershausen) im Solling kleinräumige Beobachtungsflächen der Buche ausgewiesen, in welchen spezielle Mischungs- und Nachbarschaftsverhältnisse von Buche und Fichte vorliegen. Dort erfolgte eine Stichprobennahme in Naturverjüngungsinseln und die Beprobung der benachbarten Altbäume.

In der Abteilung 62 (FoA Seesen) im Westharz konnte die Nachkommenschaft einer durch Fichten weitgehend isolierten einzelnen Altbuche einbezogen werden. Hier wurden Eckern aus Zweigen des oberen Kronenbereiches des Baumes gewonnen. Die zweigweise getrennten Eckernstichproben des oberen Kronenbereiches konnten dann in ihrer genetischen Ausstattung und der bezüglich Verteilung möglicher Polleneltern verglichen werden.

Für die Beschreibung und Charakterisierung der genetischen Strukturen haben hier Parameter besondere Bedeutung, von denen zu erwarten ist, dass sie mit der genetischen

Anpassungsfähigkeit der Buchennaturverjüngung in Verbindung stehen. Genetische Diversität und Heterozygotie sowie relative Häufigkeiten bestimmter Allelvarianten erscheinen in diesem Zusammenhang als Indikatoren für einen Verjüngungserfolg aus verschiedenen Gründen geeignet. Von besonderem Interesse ist ferner die Häufigkeit der Enzymvariante A<sub>4</sub> (mit A<sub>5</sub> aus Gründen der Vergleichbarkeit mit anderen Untersuchungen zusammengefasst) am Genort LAP-A, die sich in früheren Untersuchungen unter Stressbedingungen während der Jungwuchsphase als vergleichsweise sehr viabel herausgestellt hat (Ziehe et al. 1999). Weitere Beachtung erfährt die Variante PGM-A<sub>2</sub>, die in Altbuchen zumindest im heterozygoten Zustand als zur Toleranz beitragend erschien (Müller-Starck 1993). Außerdem wurde das Auftreten von IDH-A<sub>2</sub>, das in früheren Untersuchungen einen Bezug zum Befall der Buche durch Pathogene aufwies (Gora et al. 1994), 6PGDH-A<sub>3</sub>, das offenbar für das Wachstum förderlich ist (Konnert und Spiecker 1996), sowie spezielle Varianten von MDH-B, welche sich in Meliorationsversuchen als vorteilhaft zeigten (Ziehe et al. 1999), in die Betrachtungen einbezogen.

Um bestimmte räumliche Muster im Auftreten genetischer Varianten und den Einfluss von Bestandesstrukturen sinnvoll zu diskutieren, erschien die Klärung von Elternchaftsverhältnissen notwendig. Diese sollten dann Rückschlüsse auf Ausmaß und Richtung von Genfluss durch Pollen- und Samenverbreitung erlauben. Dafür eignen sich aufgrund der hohen Variabilität Mikrosatelliten-Marker (SSRs) in besonderer Weise, da hier der Ausschluss von Elternschaften für Eckern- und Jungwuchsstichproben besonders effizient sein kann. Für den Einsatz verschiedener Mikrosatelliten-Marker war im Rahmen der vorliegenden Arbeit neben der Übernahme bzw. Anpassung vorhandener Methoden an *Fagus sylvatica* L. eine weitere erhebliche Entwicklungsarbeit erforderlich. Der Mikrosatelliten-Marker mfs 11 wurde in der vorliegenden Untersuchung erstmalig eingesetzt.

Wegen der Menge der nach dem Ausschlussprinzip zu bearbeitenden Daten erschien zudem der Einsatz speziell dafür geschriebener EDV-Programme sinnvoll. Die hier entwickelten Programme erlauben die gleichzeitige Einbeziehung von mehreren Enzym- und Mikrosatellitenloci sowie die räumliche Visualisierung der Ergebnisse und sind auch anderweitig einsetzbar.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

### **Abteilung 3100c im FoA Dassel, ehemals FoA Knobben (Solling)**

- Die genetische Diversität im Genvorrat der Eckern wie auch die mittlere Heterozygotie sind räumlich nicht homogen über die Bestandesfläche verteilt. Der südöstliche Bereich des Bestandes weist kleinräumig weitaus mehr genetische Variation auf als der westliche Teilbereich. Dieser Trend lässt sich über zwei Eckernjahrgänge hinweg als Grundmuster konsistent nachweisen. Der Effekt ist zudem nicht allein auf die genetische Ausstattung der Altbuchen zurückzuführen, sondern es zeigen sich auch in der flächigen Verteilung der genetischen Parameter deutliche Abweichungen von panmiktischen Reproduktionsverhältnissen. Die Grundmuster deuten bereits an, dass neben dem Dichtstand und den Nachbarschaftsverhältnissen der Altbäume auch die Richtung des Windes als Pollen- und Samenvektor eine wesentliche Rolle spielt und vermutlich deutlich zu den Diversitätsspitzen im südöstlichen Bereich beitragen hat.
- Ohne den räumlichen Bezug weisen die Jahrgänge 1992/93 und 1998/99 insgesamt keine wesentlichen Unterschiede in der genetischen Diversität der Eckernstichproben auf. Mit Berücksichtigung der räumlichen Verteilung zeigt aber der Eckernjahrgang 1998/99 mit der höheren Eckerndichte fast über die gesamte Bestandesfläche hinweg eine durchgehend höhere genetische Diversität, was auf eine gleichmäßigere Beteiligung der Altbäume an der Reproduktion hindeutet. Innerhalb des jeweiligen Jahrgangs muss das Ausmaß an Diversität aber nicht direkt mit der Eckerndichte zusammenhängen.
- Auch für die als adaptiv relevant betrachteten Allelvarianten an den verschiedenen Enzymgenloci gibt es räumliche Muster, welche konsistente Besonderheiten über die Jahrgänge hinweg zeigen. LAP-A<sub>4</sub> besitzt räumlich gerade in demjenigen Bestandesbereich beträchtliche Häufigkeiten, der in der genetischen Diversität eher benachteiligt ist. Der Viabilitätsvorteil von LAP-A<sub>4</sub> könnte unter diesen Bedingungen den Nachteil geringer genetischer Variation durchaus ausgleichen.
- Im nördlichen Bestandesbereich können höchstens bis zu 60% der Eckern eines Probekreises von der drei Meter entfernten Buche abstammen, welcher der Probekreis zugeordnet ist. Dieses spricht für die Wirksamkeit der Samenverbreitung und die lokale Förderung genetischer Diversität durch hohen Dichtstand.
- Für den Baum 9 wurden für 76% der von diesem Baum geernteten Eckern potenzielle Polleneltern festgestellt, die einen Abstand von weniger als 50 Meter zu diesem Samenelter

hatten. 16% der Eckern dieses Baumes besaßen dagegen potenzielle Polleneltern mit einem Mindestabstand zwischen 50 und 100 Metern. Es kamen hier aber auch mögliche Polleneltern im Bestand selbst. Diese Befunde sprechen für eine effiziente Befruchtung durch Pollen aus der näheren Nachbarschaft und bestätigen, dass Bestandesteile an den Rändern, die dem Wind zugewandt sind, eher benachbeteiligt sind.

- Für den Baum 95 war bei 71% der Eckern einer Einzelbaumabsaat die vermutliche Entfernung der potenziellen Polleneltern auf geringer als 50 Meter. Der zu Baum 95 in westlicher Richtung für den Pollenbeitrag günstig stehende Baum 88 kommt als potenzieller Pollenelter bereits für den relativ hohen Anteil von 15% der Eckern in Frage, welche dazu noch überwiegend aus einem bestimmten Kronenteil stammten. Dieser Befund wurde durch den Einfluss des während des Pollenflugs vorwiegend aus westlicher Richtung wehenden Windes erklärt. Das Ergebnis bestätigt, dass die Bestandesstruktur einen massiven Einfluss ausübt.

- Die Naturverjüngung im südwestlichen Bereich wurde auf den Beitrag der nächststehenden Buchen als Sameneltern zurückgeführt. Für die Mehrheit der Jungwuchspflanzen war die Entfernung zwischen dem möglichen Samenelter aus diesem Bereich und dem zugehörigen Pollenelter aber größer als 50 Meter. Im nördlichen Bestandesbereich könnten dagegen 68% der jungen Pflanzen von Samen- und Polleneltern aus unmittelbarer Nähe (in weniger als 50 Meter Entfernung) abstammen. Im südöstlichen Bereich stammten 75% der jungen Pflanzen wahrscheinlich von Samen- und Polleneltern desselben Bestandesbereichs ab. Für den Jungwuchs, der jenseits des begrenzenden Weges am Rand des benachbarten Fichtenbestandes gefunden wurde, konnten 80% der potenziellen Samen- und Polleneltern wiederum in weniger als 50 Meter Abstand von den jungen Pflanzen nachgewiesen werden. Diese Muster im Jungwuchs zeigen insgesamt etwas andere Charakteristika in den genetischen Strukturen und möglichen Elternchaftsverhältnissen als die Eckern. Selektion dürfte dafür gesorgt haben, dass sich aus der Menge der vorhandenen Eckern nur ein bestimmter, unter diesen besonderen Bedingungen viabler und konkurrenzfähiger Teil entwickeln konnte. Für die im südwestlichen Bereich vorkommende etwas ältere Jungwuchsinself ist zudem nicht auszuschließen, dass früher in der Lücke stehende und vor der Aufnahme ausgefallene Altbäume zur Verjüngung beigetragen haben.

## **Abteilung 1083 im FoA Eschershausen (im Solling)**

- Für Jungwuchsinselfen mit hohen Werten der genetischen Diversität an Enzymgenloci und insbesondere für die im reinen Buchenbereich lokalisierte Fläche *Div3* wurden mit Hilfe von Mikrosatelliten-Markern mögliche Elternchaftsverhältnisse erfasst. Hier kamen in der Regel zwar Altbuchen in der unmittelbaren Nachbarschaft als Sameneltern der Jungwuchspflanzen bereits in Frage. Dabei konzentrierte sich die mögliche Elternchaft aber nicht nur auf einige wenige Buchen, sondern für *Div3* konnten die sieben nächststehenden Buchen zu einem großen Anteil beteiligt sein. Die Beteiligung vieler unterschiedlicher Altbuchen in Verbindung mit effektivem Genfluss über Pollen hat vermutlich deutlich zu der vergleichsweise hohen genetischen Diversität im Verjüngungsmaterial beigetragen. Auch die genetische Anpassungsfähigkeit dürfte dadurch erheblich gefördert worden sein.
- In der Versuchsfläche B3 von acht Altbuchen um eine Jungwuchsinselfe mit deutlicher Abschirmung dieser Gruppe durch Fichten wurde aufgrund der Bestandesstrukturen vorab vermutet, dass lediglich die drei nächststehenden Altbuchen wesentlich zum Jungwuchs beitragen wurden. Die genetische Diversität im Jungwuchs erwies sich zudem als besonders gering. In der Naturverjüngung wurde allerdings das Allel LAP-A<sub>4</sub> besonders häufig gefunden; dieses Allel ist in der genetischen Ausstattung der am nächsten stehenden fünf Altbäume jedoch gar nicht vorhanden. Lediglich in den übrigen drei der acht Buchen tauchte diese Allelvariante auf. Mit Hilfe der Mikrosatelliten-Analyse konnte gezeigt werden, dass diese drei nicht unmittelbar angrenzenden Altbuchen ihre genetische Information als Samen- oder Polleneltern letztlich nur zu einem Anteil von höchstens 20% des Jungwuchses beigetragen haben. Somit war hier trotz der Abschirmung der Jungwuchsinselfe Genfluss zumindest durch Pollen aus Bereichen außerhalb dieser Gruppe sehr aktiv und es konnte sich ein möglicher Selektionsvorteil der in den engeren Bereich der Jungwuchsinselfe hineingewanderten Variante LAP-A<sub>4</sub> entwickeln. Dieser trotz Fichtenabschirmung in seinem Ausmaß bemerkenswerte Genfluss über Pollen hat ein noch drastischeres Absinken der genetischen Diversität in der Jungwuchsinselfe offensichtlich verhindert.
- Kleinräumige Bestandesstrukturen innerhalb von Mischbeständen erwiesen sich insgesamt hinsichtlich der Verjüngungsfähigkeit als nicht unproblematisch. Die genetische Diversität in Jungwuchsbereichen mit Fichtenabschirmung zeigte sich eher gering, obwohl trotz der Fichtenbereiche der Genfluss durch Pollentransport noch erstaunlich effizient ist. Fichten beeinflussen zudem die genetische Variabilität und Entwicklung des Buchenjungwuchses

durch Veränderungen des Mikrostandorts, was eine besondere Herausforderung an genetische Anpassungspotenziale darstellt und eher höhere Diversität erfordert.

### **Isolierte Altbuche der Abt. 62 im FoA Seesen (Westharz)**

- In den Eckern der isolierten Altbuche der Abt. 62 wurde nicht nur an den Enzymgenloci, sondern auch für die Mikrosatellitenloci eine ungewöhnlich hohe genetische Variation nachgewiesen.
- Für die Eckern dieses isolierten Baumes konnten in westlicher Richtung zu findende potenzielle Polleneltern zu einem Anteil von 30% als möglicherweise beteiligt ermittelt werden, obwohl diese Altbäume weiter entfernt sind als die östlich stehenden Produzenten von Buchenpollen. Dies dokumentiert den starken Einfluss des Westwinds auf den Pollenflug bei der Bestäubung dieses Einzelbaums.

In der vorliegenden Arbeit wurde dokumentiert, dass die genetische Ausstattung der Buchennaturverjüngung vielfachen Einflüssen unterliegt, welche auch mit den Bestandesstrukturen zusammenhängen. Zu den hier maßgeblichen Bestandesstrukturen zählen die Bestandesdichte, die Nachbarschaftsverhältnisse der einzelnen Bäume sowie die Mischungsstrukturen in Mischbeständen. Sie steuern in Verbindung mit standörtlichen (topografischen) Faktoren sowie dem Wind als Pollen- und Samenvektor die lokale Verteilung der genetischen Variation (genetische Diversität, mittlere Heterozygotie) und der adaptiv relevanten genetischen Varianten in der Naturverjüngung. Diese wiederum sind maßgeblich für die genetische Anpassungsfähigkeit und adaptiven Kapazitäten der Folgegeneration. Solche Zusammenhänge helfen, den differenziellen Erfolg in der Verjüngung zu erklären, Problembereiche zu finden, und nötigenfalls Maßnahmen zu entwickeln, um genetisches Anpassungspotenzial und adaptiven Kapazitäten zu erhalten oder sogar zu erhöhen und auch wirtschaftlich zu nutzen.

## LITERATURVERZEICHNIS

Bacilieri R., Labbe T. and Kremer A. (1994). Intraspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. *Heredity* 73:130-141.

Bergmann F., Gregorius H.-R. and Larsen J. B. (1990). Levels of genetic variation in European silver fir (*Abies alba*). Are they related to the species decline? *Genetica* 82:1-10.

Bergmann F. und Hattemer H. H. (1998). Isoenzymes in forest genetic research. In: Mandal A. K. und Gibson G. L. (eds.): *Forest Genetics and Tree Breeding*. New Delhi: CBS Publisher and Distributors. 227-238.

Brown A. H. D. (1978). Isoenzymes, Plant Population Genetic Structure and Genetic Conservation. *Theor. Appl. Genet.* 52:145-157.

Brown A. H. D. (1989). Genetic characterization of plant mating systems, In: Brown A. H. D., Clegg M. T., Kahler A. L. and Weir B. S. (eds.). *Plant Population Genetics, Breedings and Genetic Resources*. Sinauer. Sunderland. Mass. 145-162.

Carlson C. E., Cates R. G., Spencer S. C. (1991). Foliar terpenes of a putative hybrid swarm (*Larix occidentalis* × *Larix lyallii*) in western Montana. *Canadian Journal of Forest Research* 21:876-881.

Chakraborty R., Meagher T. R., and Smouse P. E. (1988). Parentage Analysis with genetic markers in natural populations. I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. *Genetics* 118:527-536.

Comps B., Thiébaud B., Paule L., Merzeau D., and Letouzey J. (1990). Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. *Heredity* 65:407-417.

Comps B., Thiébaud B., Sugar I., Trinajstić I. and Plazibat M. (1991). Genetic variation of the Croatian beech stands (*Fagus sylvatica* L.): spatial differentiation in connection with the environment. *Ann. Sci. For.* 48:15-28.

Crow J. F. and Kimura M. (1970). An introduction to population genetics theory. Harper and Row. New York. Evanston and London.

Csaikl U. M., Bastian H., Brettschneider R., Gaush S., Meir A., Schauerte M., Scholz F., Sperisen C., Vornam B., and Ziegenhagen B. (1998). Comparative analysis of different DNA extraction protocols: a fast, universal maxi-preparation of high quality plant DNA for genetic evaluation and phylogenetic studies. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 16:69-86.

Cuguen J., Merzeau D. and Thiébaud B. (1988). Genetic structure of the european beech stands (*Fagus sylvatica* L.): F-statistic and importance of mating system characteristics in their evolution. *Heredity* 60:91-100.

Degen B., Petit R., and Kremer A. (2001). SGS-Spatial Genetic Software: A Computer Program for Analysis of Spatial Genetic and Phenotypic Structures of Individuals and Populations. *The Journal of Heredity* 92:447-448.

Demesure, B., Sodzi N. and Petit R. (1995). A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Mol. Ecol.* 4:129-131.

Dietrich W. F., Miller J., Steen R., Merchant M. A., Damron-Boles D., Husain Z., Dredge R., Daly M. J., Ingalls K. A., O'Conner T. J., Evans C. A., DeAngelis M. M., Levinson D. M., Kruglyak L., Goodman N., Copeland N. G., Jenkins N. A., Hawkins T. L., Stein L., Page D. C., and Lander E. S. (1996). A comprehensive genetic map of the mouse genome. *Nature* 380:149-152.

Di Rienzo A., Peterson A. C., Garza J. C., Valdes A. M., Slaktin A. M. and Freimer N. B. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91:3166-3170.

Doúnavi, A.: Familienstrukturen in Buchenbeständen (*Fagus sylvatica*) [Family structures in beech stands (*Fagus sylvatica*)]. (2000) Forstwiss. Dissertation, Universität Göttingen. <http://webdoc.sub.gwdg.de/diss/2000/dounavi>.

Dow B. D. and Ashley M. V. (1996). Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of samplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5:615-627.

Dow B. D. and Ashley M. V. (1998). High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity* 89:62-70.

Edwards A., Civitello A., Hammond H. A. und Caskey C. T. (1991). DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49:749-756.

Edwards A., Hammond H. A., Jin L., Caskey C.T. and Chakraborty R. (1992). Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 12:241-253.

Ellegrand N. C. (1984). Multiple paternity within the fruits of the wild radish, *Raphanus sativus*. *The American Naturalist* 123:819-829.

Ellegren H. (1992). Polymerase chain reaction (PCR) analysis of microsatellites- a new approach to studies of genetics relationships in birds. *Auk*. 109:886-895.

Ellegren H. (2000). Heterogenous mutation processes in human microsatellite DNA sequences. *Nature Genetics* 24:400-402.

Estoup and Cornuet J. M. (1999). Microsatellite evolution: inferences from population data. In: Goldstein D. B. and Schlötterer C. (eds.). *Microsatellites Evolution and Applications*. Oxford University Press. New York. 49-65 Pages.

Feldman M., Bergman A., Pollock D. D. and Goldstein D. B. (1997). Microsatellite genetic distances with range constraints: analytic description and problems of estimations. *Genetics* 145:207-216.

Finkeldey, R. (1993). Die Bedeutung allelischer Profile für die Konservierung genetischer Ressourcen bei Waldbäumen. *Göttingen Research Notes in Forest Genetics* No. 14:1-176.

Finkeldey R. (1999). An introduction to tropical forest genetics. Georg-August-Universität Göttingen, Institute für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung. 241 pages.

Forrest G. I. (1994). Biochemical markers in tree improvement programmes. *Forestry abstracts* 55:123-153.

Fromm M. (1992). Genetische Analyse des Reproduktionssystems dreier nordrheinwestfälischer Buchenbestände. *Forstwiss. Diplomarbeit. Univ. Göttingen.*

Garza J. C., Slatkin M. and Freimer N. B. (1995). Microsatellite allele frequencies in humans and chimpanzees, with implications for constraints on allele size. *Mol. Biol. Evol.* 12:594-603.

Gill P., Sparkes R. and Kimpton C. (1997). Development of guide lines to designate alleles using an STR multiplex system. *Forensic. Sci. Int.* 89:185-197.

Gillet E.M. (1994). GSED - Genetic Structures from Electrophoresis Data. User's Manual. Version 1.0, Göttingen. 1-49 pages.

Ginot F., Bordelais I., Nguyen S. and Gyapay G. (1996). Correction of some genotyping errors in automated fluorescent microsatellite analysis by enzymatic removal of one base overhangs. *Nucleic. Acid. Res.* 24:540-541.

González-Martínez S. C., Gerber S., Cervera M. T., Martínez-Zapater J. M., L. Gil and Alía R. (2002). Seed gene flow and fine-scale structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.) using nuclear microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 104:1290-1297.

Gora V., Starke R., Ziehe M., König J., Müller-Starck G. and Lunderstädt J.L. (1994). Influence of genetic structures and silvicultural treatments in a beech stand (*Fagus sylvatica*) on the population dynamics of beech scale (*Cryptococcus fagisuga*). *Forest Genetics* 1:157-164.

Gregorius H.-R. (1978). The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Mathematical Biosciences* 41:253-271.

Gregorius H.-R. (1985). Erhaltung der Anpassungsfähigkeit von Baumpopulationen. In: *Verh. 4. Arbeitstagung Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft, Göttingen* 13-22.

Gregorius H.-R. (1991). Limitations of gene markers as applied to the characterization of plant mating systems. In: Fineschi S., Malvolti M. E., Cannata F. and Hattemer H.H. (eds.): Biochemical markers in the population genetics of forest trees. SpB academic Publishing by, The Hague, The Netherlands. 129-142.

Gregorius H.-R. (1994). Anpassungsfähigkeit von Waldökosystemen. Mittlg. der Bundesforschungsanst. f. Forst- und Holzwirtschaft Hamburg. Nr. 176:139-144.

Gregorius H.-R., Bergmann F., Müller-Starck G. und Hattemer H. H. (1979). Genetische Implikationen waldbaulicher und züchterischer Maßnahmen. Allg. Forst- u. J.-Ztg. 150:30-41.

Gregorius H.-R., Krauhausen J. and Müller-Starck G. (1986). Spatial and temporal genetic differentiation among the seed in a stand of *Fagus sylvatica* L. Heredity 57:255-262.

Hamrick J. L., Godt M. J. W. and Sherman-Broyles S.L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forest 6: 95-124.

Hancock J. M. (1995). The contribution of slippage-like processes to genome evolution. J. Mol. Evol. 41:1038-1047.

Hancock J. M. (1999). Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. In: Goldstein D. B. und Schlötterer (eds.). Microsatellites Evolution and Applications. 1-9 pages.

Hattemer H. H. (1988). Genressourcen und Genkonservierung. In: Verh. 5. Arbeitstagung Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft, Innsbruck 6.-8. Oktober 1987. FBVA-Berichte Nr. 28, Österr. Agrarverlag, Wien. 43-50.

Hattemer H. H. (1990). Notwendige Bestandteile von Projekten zur Genkonservierung. In: Stephan B. R., (Herausg). Erhaltung forstlicher Genressourcen. Mitt. d. Bundesforschungsanst. f. Forst- und Holzwirtschaft Nr. 164. Max Wiedebusch. Hamburg. 209-222.

Hattemer H. H., Gregorius H.-R., Ziehe M. und Müller-Starck G. (1982). Klonanzahl forstlicher Samenplantagen und genetische Vielfalt. Allgem. Forst-u. Jagdztg. 153:183-191.

Hattemer H. H., Bergmann F. und Ziehe M. (1993). Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft. Frankfurt am Main, J. D. Sauerländer's Verlag, 2nd ed. 492+X Seiten.

Hattemer H. H. and Ziehe M. (1996). An attempt to infer of a beech (*Fagus sylvatica* L.) stand in Rheinland-pfalz (Germany). *Silvae Genet.* 45:276-283.

Hedrick P. W. (1999). Perspective: Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53:313-318.

Henderson S. T. and Petes T. D. (1992). Instability of simple sequence DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 12:2749-2757.

Isagi Y., Kanazashi T., Suzuki W., Tanaka H., Abe T. (2000) .Microsatellite analysis of the regeneration process of *Magnolia obovata* Thunb. *Heredity* 84:143-151.

Jeffreys A. J., Tamaki K., Macleod A., Monckton D. G., Neil D. L. and Armour J. A. L. (1994). Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites. *Nature Genetics* 6:136-145.

Jones A. G. and Arderen W. R. (2003). Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology* 12:2511-2523.

Karhu A. (2001). Evolution and applications of pine microsatellites. Department of Biology. University of Oulu. <http://herkules oulu.fi/isbn9514259246/>.

Kim Z. S. (1980). Veränderung der genetischen Struktur von Buchenpopulationen durch Viabilitätsselektion im Keimlingsstadium. Göttingen Research Notes in Forest Genetics No. 3:1-88.

Kim Z. S. (1985). Viability selection at an allozyme locus during development in European beech (*Fagus sylvatica* L.) *Silvae Gen.* 34:181-186.

Kimura M. and Crow J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-738.

Kimura M. and Ohta T. (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 75:2868-2872.

Knowles P. 1991. Spatial genetic structure within two natural stands of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) B. S. P.). *Silvae Genetica* 40:13-19.

Knowles P., Perry D. J. and Foster H. A. (1992). Spatial genetic structure in two tamarack [*Larix laricina* (Du Roi) K. Koch] populations with differing establishment histories. *Evolution* 46:572-576.

Konnert M. und Spiecker H. (1996). Beeinflussen Nutzungen einzelner Bäume die genetische Struktur von Beständen? *AFZ/Der Wald* 51:1284-1291.

Konnert M., Ziehe M., Tröber U., Maurer W., Janßen A., Sander T., Hussendöfer E. und Hertel H. (2000). Genetische Variation der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Deutschland: Gemeinsame Auswertung genetischer Inventuren über verschiedene Bundesländer. [Genetic variation of beech (*Fagus sylvatica* L.) in Germany: Joint evaluation of genetic inventories from several federal states]. *Forst und Holz* 55:403-408.

Lagercrantz U., Ellegren H and Andersson L. (1993). The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucl. Acid. Res.* 21:1111-1115.

Larsen A. B. (1995). Genetic conservation strategies for beech (*Fagus sylvatica* L.) in Denmark. In: Madsen S. F. (ed.): *Genetics and Silviculture of Beech*. Proceedings from the 5th Beech Symposium of IUFRO. *Forskningsserien Nr. 11*. Danisch Forest and Landscape Research Institute, Hørsholm. 226-237.

Leonardi S. and Menozzi P. (1995). Genetic variability of *Fagus sylvatica* L. in Italy: The role of postglacial recolonization. *Heredity* 75:35-44.

Leonardi S. and Menozzi P. (1996). Spatial structure of genetic variability in natural stand of *Fagus sylvatica* L. (beech) in Italy. *Heredity* 77:359-368.

Levinson G. and Gutman G. A. (1987). Slipped-Strand Mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4:203-221.

Litt M. and Luty J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within a cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Gen.* 44:397-401.

Mendel G. (1866). Versuche über Pflanzenhybriden. *Verh. Naturforsch. Ver. In Brünn* 4. 3-47.

Menzeau D., Comps B., Thiébaud B., Cuguen J. and Letouzey J. (1994). Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). *Heredity* 72:269-277.

Müller H. H. (2001). PCR-Polymerase-Kettenreaktion. Heidelberg. Berlin. Spektrum, Akad. Verl. 134 Seiten.

Müller-Starck G. (1985). Genetic differences between "tolerant" and "sensitive" beeches (*Fagus sylvatica* L.) in an environmentally stressed adult forest stand. *Silvae Genetica* 34:241-247.

Müller-Starck G. (1993). Auswirkungen von Umweltbelastungen auf genetische Strukturen von Waldbeständen am Beispiel Buche (*Fagus sylvatica* L.). *Schriften aus der Forstl. Fakultät der Univ. Göttingen der Niedersächs. Forstl. Versuchsanstalt*, Bd.122: 163 Seiten.

Müller-Starck G. and Ziehe M. (1991). Genetic variation in populations of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L. and *Q. petraea* Liebl. In Germany. In: Müller-Starck G. und Ziehe (eds.) Genetic variation in European populations of Forest trees. Frankfurt am Main. J. D. Sauerländer's Verlag. 125-140.

Müller-Starck G., Baradat P. and Bergmann F. (1992). Genetic variation within European tree species. *New Forests* 6:23-47.

Müller-Starck G. and Starke R. (1993). Genetic control and inheritance of isoenzymes in beech (*Fagus sylvatica* L.). *J. Hered.* 84:291-296.

Müller-Starck G., v. Wuehlisch G. und Konnert M. (2001). Labormanual zur Durchführung von Isoenzymanalysen bei der Buche (*Fagus sylvatica* L.) Aus der Bund-Länder-

Arbeitsgruppe "Erhaltung forstlicher Genressourcen" Unterarbeitsgruppe "Biochemisch-genetische Analyse". 39 Seiten.

Müller-Starck R. (1996). Die Reproduktion der Buche (*Fagus sylvatica* L.) unter verschiedenen waldbaulichen Gegebenheiten. Forstwiss. Dissertation, Universität Göttingen. Göttingen. Forschungszentrum Waldökosysteme.

Murray J. C., Bennet S. R., Kwitek A. E., Small K. W., Schinzel A., Alward W. L., Werber J. L., Bell G. I. and Buetow K. H. (1992). Linkage of Reiger syndrome to the region of the epidermal growth factor gene on chromosome 4. *Nature Genetics* 2:46-49.

Nicholl D. S. T. (1995). Gentechnische Methoden. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford. 178+VIII Seiten.

Pastorelli R., Smulders M. J. M. , Van't Westende W. P. C., Vosman B., Giannini R., Vettori C. and Vendramin. G. G. (2003). Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 3:76-78.

Paule L., Gömory D. and Vyšný J. (1995). Genetic diversity and differentiation of beech populations in eastern Europe. In: Madsen, S.F. (ed.) Genetics and silviculture of Beech. Proceedings from the 5th Beech Symposium of IUFRO: Forsknigsserien Nr.11. Danish Forest and Landscape Research Institute, Hørsholm. 159-167

Perry D. J. and Knowles P. (1991) Spatial genetic structure within three sugar maple (*Acer saccharum* March) stands. *Heredity* 66:137-142.

Powell W., Machray G.C. and Provan J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Sci.* 7:215-222.

Primmer C. R., Saino N., Møller A. P. and Ellegren H. (1998). Unraveling the Processes of Microsatellite evolution through analysis of germ line mutation in Barn Swallows *Hirundo rustica* *Mol. Biol. Evol.* 15:1047-1054.

Rahman M. H., Dayanandan S. and Rajoda O. P. (2000). Microsatellite DNA markers in *Populus tremuloides*. *Genome* 43:293-297.

Ritchie Peter. Lecture 12: The mitochondrial genome. Institute of Molecular BioSciences. Massey University. [http://www.massey.ac.nz/~pritchie/downloads/Lecture\\_12.pdf](http://www.massey.ac.nz/~pritchie/downloads/Lecture_12.pdf).

Samadi S., Erard F., Estoup A. and Jarne P. (1998). The influence of mutation, selection and reproductive systems on microsatellite variability: a simulation approach. *Genet. Res.* 71:213-222.

Schlötterer C. and Tautz D. (1992). Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucl. Acid. Res.* 20:211-215.

Schug M. D., Mackay T. F. C. and Aquadro C. F. (1997). Low mutation rates of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*. *Nature Genetics* 15:99-102.

Shapcott A. (1995). The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). *Heredity* 74:28-38.

Smith G. P. (1976). Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. *Science* 191:528-535.

Müller-Starck R. (1996). Genetische Aspekte der Reproduktion der Buche (*Fagus sylvatica* L.) unter Berücksichtigung waldbaulicher Gegebenheiten. Ber. Forschungszentrum Waldökosysteme, Reihe A, Bd. 135. Göttingen.

Starke R. und Müller-Starck G. (1992). Genetische Untersuchungen über die Reproduktion in zwei Beständen der Buche (*Fagus sylvatica* L.). In: Biochemische Untersuchungen zur Genetik von Waldbaumpopulationen. Schriftenreihe. d. Landesanst. f. Forstwirtschaft Nordrhein -Westfalen. 57-67.

Starke R., Hattemer H. H., Ziehe M., Vornam B., Turok J., Herzog S., Maurer W. und Tabel U. (1995). Genetische Variation an Enzym-Genloci der Buche. *Allg. Forst-u. J.-Ztg.* 166:161-167.

Starke R., Ziehe M. and Müller-Starck G. (1996). Viability selection in juvenile populations of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics* 3:217-225.

Strand M., Prolla T. A., Liskay R. M. and Petes T. D. (1993). Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature* 365:274-276.

Streiff R., Labbe T., Bacilieri R., Steinkellner H., Glössl J. and Kremer A. (1998). Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular ecology* 7:317-328.

Sweigart A., Karoly K., Jones A. and Willis J. H. (1999). The distribution of individual inbreeding coefficients and pairwise relatedness in a population of *Mimulus guttatus*. *Heredity* 83:625-632.

Tanaka K., Tsumura Y. and Nakamura T. (1999). Development and polymorphism of microsatellite markers for *Fagus crenata* and the closely related species, *F. japonica*. *Theor. Appl. Genet.* 99:11-15.

Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucl. Acid. Res.* 17:6463-6471.

Taylor J. S., Durkin J. M. and Breden F. (1999) The death of a microsatellite: A phylogenetic perspective on microsatellite interruptions. *Mol. Biol. Evol.* 16:567-572.

Thompson J. D., Higgins D. G. and Gibson T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acid. Res.* 22: 4673-4680.

Thiébaud B., Lumaret R. and Vernet P. (1982). The bud enzymes of beech (*Fagus sylvatica* L.). Genetic distinction and analysis of polymorphism in several French populations. *Silvae Genet.* 31:51-60.

Troggio M., DiMasso E., Leonardi S., Ceroni M., Bucci G., Piovani P. and Menozzi P. (1996). Inheritance of RAPD and I-SSR Markers and population parameters estimation in european beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics* 3:173-181.

Turok J. (1995). Genetische Untersuchungen bei der Buche- Genetische Anpassungsprozesse und die Erhaltung von Genressourcen in Buchenwäldern (*Fagus sylvatica* L.). Hrsg.: Landesanstalt für Ökologie, Bodenordnung und Forsten/ Landesamt für Agrarordnung NRW (1996), LÖBF-Schriftenreihe, Band 8. 136 Seiten.

Turok J., Starke R., Ziehe M. und Hattemer H. H. (1998). Genetische Differenzierung rheinland-pfälzischer Buchenbestände an Enzym-Genloci. *Allgem. Forst- u. Jagdztg.* 169:126-135.

Vornam B. und Herzog S. (1996). CpDNA-Polymorphismus bei der Buche. *Allgem. Forst- u. Jagdztg.* 167:122-126.

Vornam B., Decarli N. and Gailing. (2003). Spatial distribution of genetic variation in a natural beech stand (*Fagus sylvatica* L.) based on microsatellite markers. Eingereicht.

Wang K. (2001). Gene flow and mating system in European beech (*Fagus sylvatica* L.). Forstwiss. Dissertation, Universität Göttingen. Göttingen. Cuvillier Verlag.

Weber J. L. and May P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44:388-396.

Weber J. L. and Wong C. (1993). Mutation of human short tandem repeats. *Hum. Mol. Genet.* 2:1123-1128.

Weissenbach J., Gyapay G., Dib C., Vignal A., Morissette J., Millasseau P., Vaysseix G. and Lathrop M. (1992). A second-generation linkage map of the human genome. *Nature* 359:794-801.

Wierdl M., Dominiska M. and Petes T. D. (1997). Microsatellite instability in yeast: dependence on the length of the microsatellite. *Genetics* 146:769-779.

Wright S. (1943). Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.

Wright S. (1946). Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics* 31:39-59.

Ziehe M. (1982): Sexuale asymmetric fertility selection and partial selffertilization. 1. Population genetic impacts on the zygotic genotypic structure. *Silva Fennica* 16:94-98.

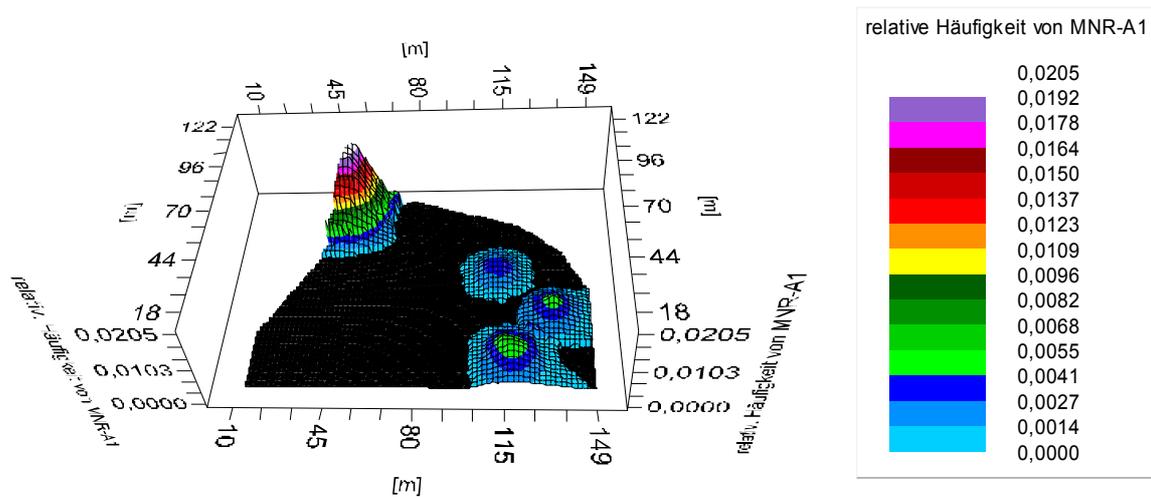
Ziehe M., Gregorius H.-R., Glock H., Hattemer H. H. and Herzog S. (1989). Gene resources and gene conservation in forest trees: General concepts. In: Scholz F., Gregorius H.-R. and Rudin D. (eds.) *Genetics Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations from Symposium of IUFRO*. Springer-Verlag Heidelberg, New York, Tokyo. 173-186.

Ziehe M. and Hattemer H. H. (1998). The significance of heterozygosity in tree breeding and gene conservation. *Forest Tree Improvement* 26:3-25.

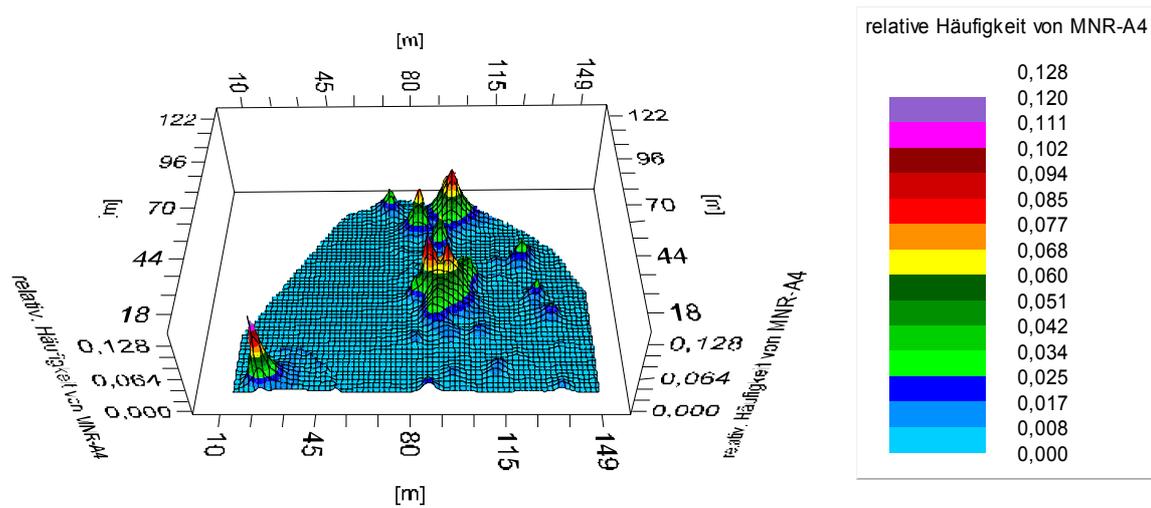
Ziehe M., Starke R., Hattemer H. H. und Turok J. (1998). Genotypische Strukturen in Buchen-Altbeständen und ihren Samen. *Allgem. Forst- u. Jagdztg.* 169:91-99.

Ziehe M., Starke R., Hattemer H. H., Müller-Starck R. and Müller-Starck G. (1999). Genetic structures as indicators for adaptation and adaptational potentials. In: Mátyás C. (ed.). *Forest genetics and sustainability*. Kluwer academic publishers. Dordrecht, Boston, London. 63:75-89.

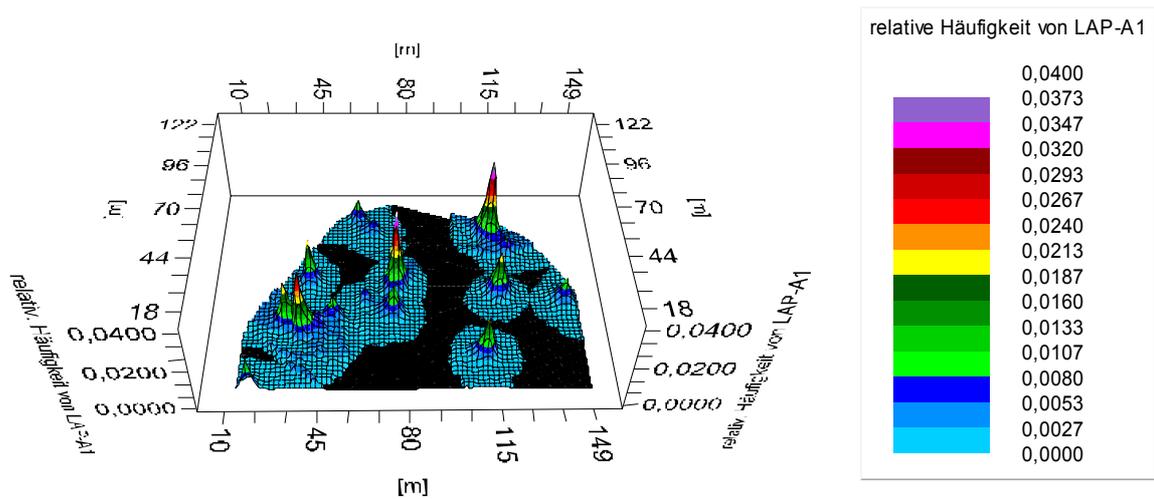
## ANHANG I. Fremdpolleneinflug in der Abteilung 3100c



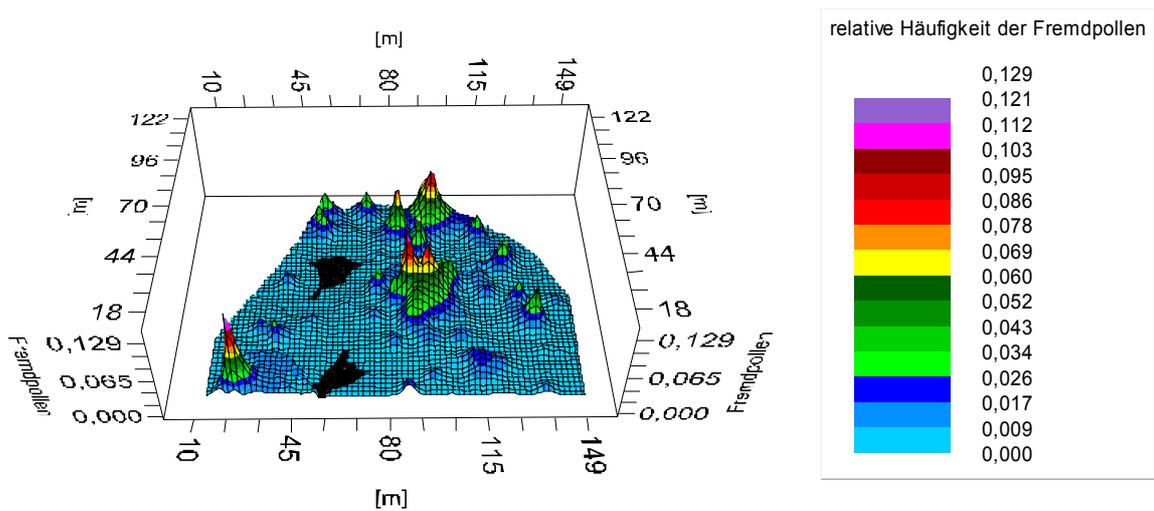
Interpolierte räumliche Verteilung der Variante MNR-A<sub>1</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern des Jahrgangs 1998/99



Interpolierte räumliche Verteilung der Variante MNR-A<sub>4</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern des Jahrgangs 1998/99

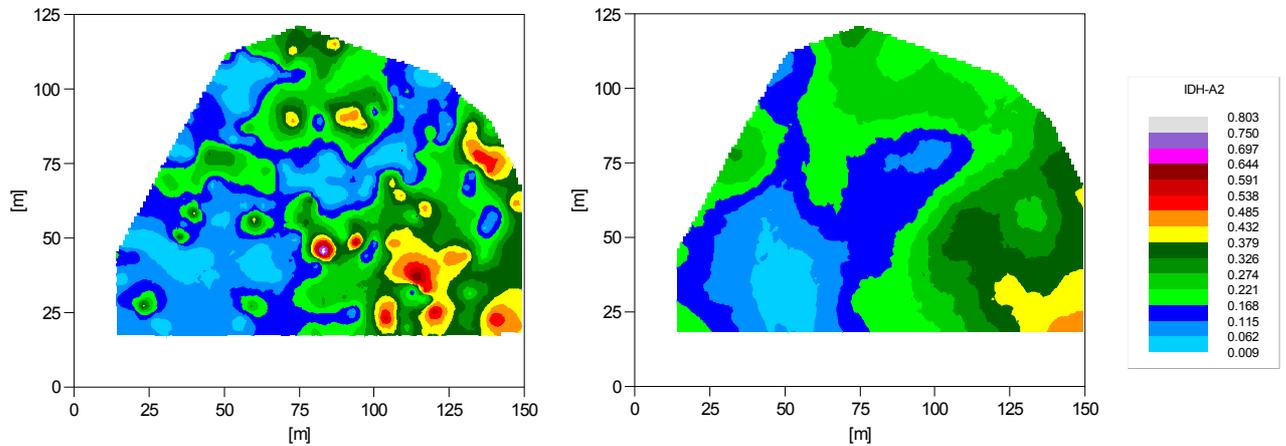


Interpolierte räumliche Verteilung der Variante LAP-A<sub>1</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern des Jahrgangs 1998/99

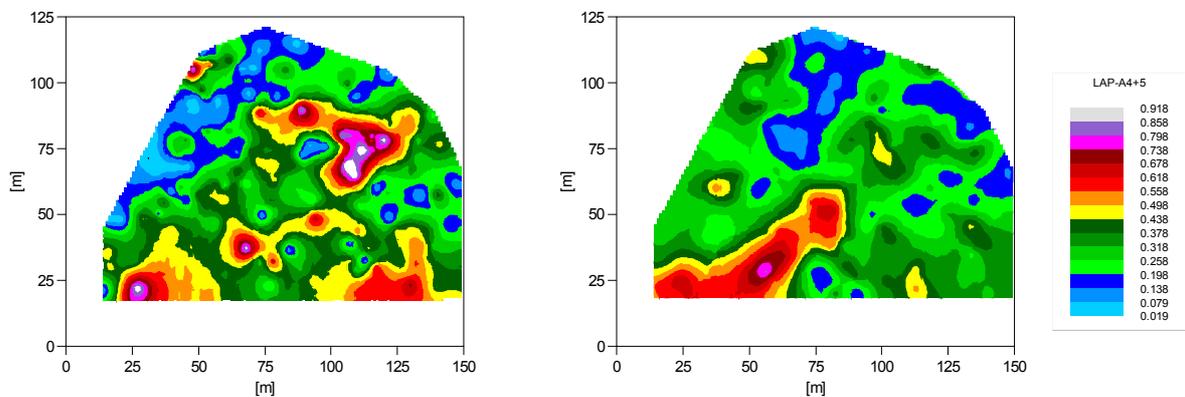


Interpolierte räumliche Verteilung der Varianten LAP-A<sub>1</sub>, MNR-A<sub>1</sub> und MNR-A<sub>4</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern des Jahrgangs 1998/99

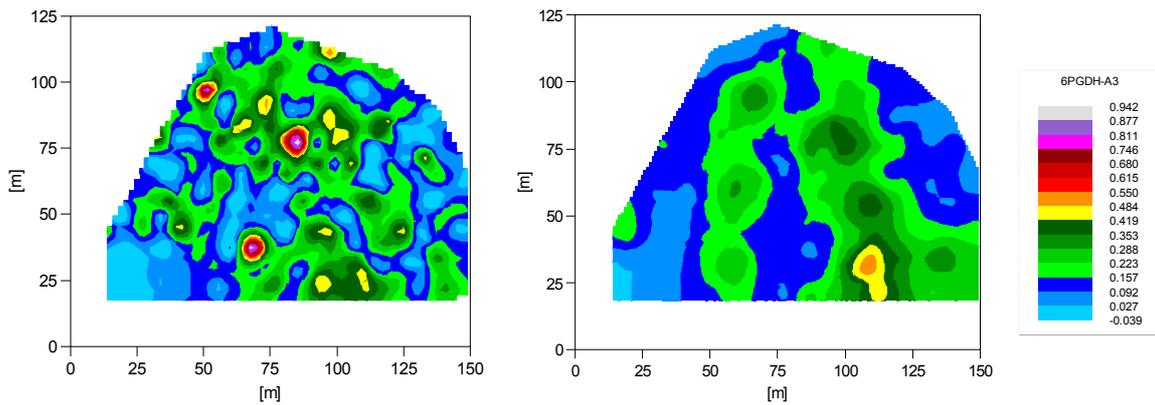
## ANHANG II. Räumliche Verteilung von Allelvarianten an Enzymgenloci in der Abt. 3100c



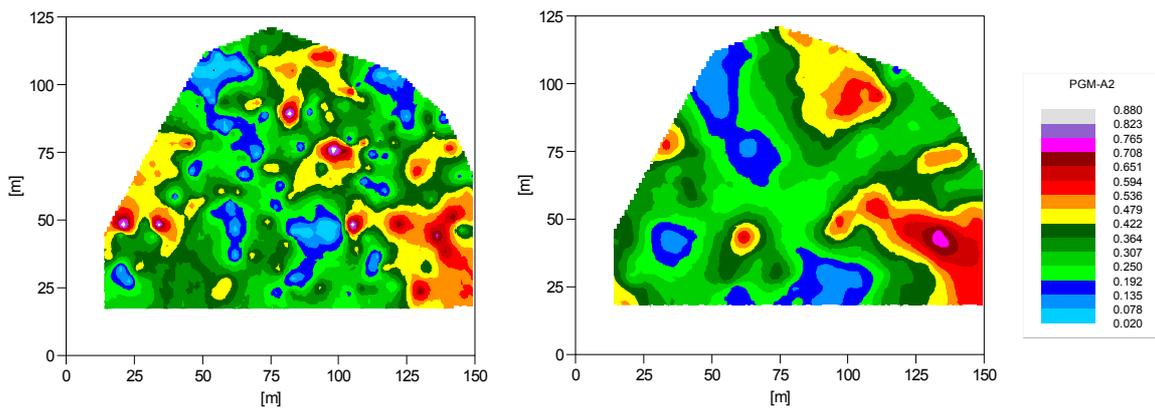
Interpolierte räumliche Verteilung der Variante IDH-A<sub>2</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern der Probekreise. Der linke Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der rechte auf den Jahrgang 1998/99.



Interpolierte räumliche Verteilung der Variante LAP-A<sub>4</sub> und A<sub>5</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern der Probekreise. Der linke Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der rechte auf den Jahrgang 1998/99.



Interpolierte räumliche Verteilung der Variante 6-PGDH-A<sub>3</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern der Probekreise. Der linke Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der rechte auf den Jahrgang 1998/99.



Interpolierte räumliche Verteilung der Variante PGM-A<sub>2</sub> in der Abteilung 3100c unter den Eckern der Probekreise. Der linke Abbildungsteil bezieht sich auf den Jahrgang 1992/93, der rechte auf den Jahrgang 1998/99.

## ANHANG III. Ergänzungen zur Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt. 3100c

Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt.3100c, iii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11, FS 3\_04 und FS 1\_15, iv) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11, FS 3\_04, FS 1\_15 und FS 1\_03

iii)

Stichprobe	Anzahl der untersuchten Jungpflanzen	(a) Anzahl (prozentualer Anteil)	(b) Anzahl (prozentualer Anteil)	(c) Anzahl (prozentualer Anteil)	(d) Anzahl (prozentualer Anteil)
1	13	1 (8%)	5 (38%)	4 (31%) [3* (23%*)]	3 (23%) [2 <sup>a</sup> (15% <sup>a</sup> )]
2	12	0 (0%)	8 (67%)	4 (33%) [1* (8%*)]	0 (0%)
3	35	22 (63%) [11* (31%*)]	13 (37%) [1 <sup>a</sup> (3% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
4	10	8 (80%) [1* (10%*)]	2 (20%) [1 <sup>a</sup> (10% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
5	20	13 (65%) [1* (5%*)]	7 (35%)	0 (0%)	0 (0%)

iv)

Stichprobe	Anzahl der untersuchten Jungpflanzen	(a) Anzahl (prozentualer Anteil)	(b) Anzahl (prozentualer Anteil)	(c) Anzahl (prozentualer Anteil)	(d) Anzahl (prozentualer Anteil)
1	13	1 (8%)	3 (23%) [1 <sup>a</sup> (8%)]	5 (38%) [5* (38%*)]	4 (31%) [2 <sup>a</sup> (15% <sup>a</sup> )]
2	12	0 (0%)	6 (50%)	6 (50%) [5* (42%*)]	0 (0%)
3	35	20 (57%) [10* (28%*)]	14 (40%) [2 <sup>a</sup> (6% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
4	10	6 (60%) [1* (10%*)]	4 (40%) [3 <sup>a</sup> (30% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)
5	20	12 (60%) [1* (5%*)]	8 (40%) [3 <sup>a</sup> (15% <sup>a</sup> )]	0 (0%)	0 (0%)

\*maximale Anzahl bzw. maximale Anteil aus Selbstbefruchtungsrate

<sup>a</sup> Pollenelter außerhalb des Bestandes

- a) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter < 50m und nächststehender (Samen-) Elter- zugehöriger Pollenelter < 50m
- b) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter < 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter im Bestand > 50m
- c) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter im Bestand > 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter < 50m
- d) Distanz Jungwuchs – nächststehender (Samen-) Elter im Bestand > 50m und nächststehender (Samen-) Elter-zugehöriger Pollenelter im Bestand >50m

1 = Jungwuchs Südlücke Südteil Nummer 1

2 = Jungwuchs Südlücke Südteil Nummer 2

3 = Jungwuchs Lücke Südteil

4 = Jungwuchs unter Fichten

5 = Jungwuchs Südostteil nahe B95

## ANHANG IV. Ergänzungen zur Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt. 1083

Elternschaftsanalyse für die Verjüngung der Abt.1083c, iii) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11, FS 3\_04 und FS 1\_15, iv) auf der Basis von *mfc* 5, *mfs* 11, FS 3\_04, FS 1\_15 und F S1\_03

iii)

Versuchsfläche	Anzahl der insgesamt untersuchten Jungpflanzen	Elternschaft innerhalb der Versuchsfläche		Elternschaft außerhalb der Versuchsfläche	
		Mögliche Samenelterbeteiligung	Mögliche Samen- und Pollenelterbeteiligung *)	Pollenelterbeteiligung	Samen- und Pollenelterbeteiligung
B3	20	10 (50%)	6 (30%) [3* (15%*)]	4 (20%)	10(50%)
B4	16	9 (56%)	1 (6%)	8 (50%)	7 (44%)
B5	10	3 (30%)	0 (0%)	3 (30%)	7 (70%)
<i>Div3</i>	23	18 (78%)	9 (39%) [1* (4%*)]	9 (39%)	5 (22%)

iv)

Versuchsfläche	Anzahl der insgesamt untersuchten Jungpflanzen	Elternschaft innerhalb der Versuchsfläche		Elternschaft außerhalb der Versuchsfläche	
		Mögliche Samenelterbeteiligung	Mögliche Samen- und Pollenelterbeteiligung *)	Pollenelterbeteiligung	Samen- und Pollenelterbeteiligung
B3	20	11 (55%)	6 (30%) [3* (15%*)]	5 (25%)	9 (45%)
B4	16	9 (56%)	1 (6%)	8 (50%)	7 (44%)
B5	10	3 (30%)	0 (0%)	3 (30%)	7 (70%)
<i>Div3</i>	23	14 (61%)	5 (22%)	11 (48%)	7 (30%)

\*) maximale Anzahl bzw. maximale Anteil aus Selbstbefruchtungsrate

# LEBENS LAUF

## Persönliche Daten

Name: **Natalia Andrea Decarli Muñoz**  
Geburtsdatum: **21 den November 1974**  
Geburtsort: **Concepción, Chile**  
E-Mail: **ndecarl@gwdg.de**  
**ndecarli7@hotmail.com**  
Staatsangehörigkeit: **Chilenin**

## Schulbildung

1982-1989 **Grundschule (Escuela E-653) in Villa San Pedro, Chile**  
1990-1993 **Mittelschule (Liceo San Pedro) in Concepción, Chile**

## Universitäre Ausbildung

1994-1999 **Studium der Forstwissenschaften an der Fakultät für Forstwissenschaften der Universität von Concepción, Concepción, Chile. Abschluß: Forstingenieur (Ingeniero Forestal)**  
Ab Januar 2001 **Doktorandin am Institut für Forsgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Georg-August-Universität Göttingen**

## Wissenschaftlichen Tätigkeiten

1998 **Arbeit im Dozentenprojekt: (N°97-166) Métodos de Muestreo Aplicados a Inventarios Forestales, bei der Vice-Rectoría Académica, Dirección de Docencia Universidad de Concepción, Concepción, Chile.**  
1998 **Arbeit im Dozentenprojekt: (N°97-167) Raleo en Plantaciones Forestales, bei der Vice-Rectoría Académica, Dirección de Docencia Universidad de Concepción, Concepción, Chile**





