

Heft 5/95

Schriftenreihe der Sächsischen Landesanstalt
für Forsten

Genetik und Waldbau der Weißtanne

Teil 2 Forschungsbericht



Freistaat  Sachsen

Staatsministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Forsten

Teil 2 Forschungsbericht

1.	Einleitung und Zielsetzung	1
1.1	Aufgabenstellung	1
1.2	Voraussetzungen und Ablauf des Vorhabens	3
2.	Teil A	4
2.1	Einführung und Problemstellung	4
2.2	Beschreibung des Tannentrückganges in Sachsen	5
2.3	Notwendigkeit genetischer Untersuchungen	6
2.4	Zielsetzung der Arbeit	7
2.5	Material und Methoden	9
2.6	Ergebnisse	19
2.7	Diskussion	34
2.8	Schlußfolgerungen und Empfehlungen	49
2.9	Zusammenfassung	52
2.10	Literaturverzeichnis	55
2.11	Anhang	60
3.	Teil B	65
3.1	Kurze Einführung und Zielsetzung	65
3.2	Untersuchungsmaterial	66
3.3	Methodik	67
3.4	Eigenschaften und Verwendungsmöglichkeiten von Isoenzym- Genmarkern	69
3.5	Untersuchungsergebnisse	70
3.6	Diskussion und Schlußfolgerungen	76
3.7	Literatur	78
4.	Teil C	79
4.1	Zielsetzung	79
4.2	Lösungsweg	80
4.3	Material	84
4.4	Methoden und Ergebnisse	84
4.5	Zusammenfassung	106
4.6	Bewertung der Ergebnisse	108
4.7	Ausblick	109
4.8	Literatur	110
4.9	Anhang	113
5.	Schluß	116
5.1	Zusammenfassung und Schlußfolgerungen	116
5.2	Bewertung der Ergebnisse und Ausblick	118

1. Einleitung und Zielsetzung

Die langfristige waldbauliche Planung im immssionsbelasteten Erzgebirge sieht den Aufbau ökologisch stabiler, naturnaher und gemischter Wälder aus standortgerechten Baumarten vor. Dabei kommt der Weißtanne eine besondere Rolle zu. An ihrer nördlichen Verbreitungsgrenze war sie bis zum 17. Jahrhundert eine ökologisch bedeutsame Mischbaumart in den natürlichen Bergmischwäldern des mittleren und höheren Erzgebirges. Heute gehört sie dort zu den vom Aussterben bedrohten Baumarten.

Ihre Erhaltung und Wiederausbreitung im Rahmen des Aufbaus naturnaher Wälder setzt grundlegende Kenntnisse über den aktuellen Bestandesumfang, den Vitalitätsgrad und vor allem auch über die genetische Konstitution der Tannenvorkommen voraus. Insbesondere Kenntnisse über das genetische System der Tanne im Erzgebirge lassen eine Beurteilung über erfolgreiche Erhaltungsmaßnahmen erst zu. Das genetische System der Arten umfaßt die Erzeugung, Bewahrung, Veränderung und Weitergabe von genetischer Information an die Folgegenerationen (DEGEN und SCHOLZ 1994), wodurch es maßgeblich auch an der Weitergabe von genetischer Variation beteiligt ist. Genetische Variation wiederum ist die Basis für das Überleben von Arten in den dynamischen Prozessen ihrer Umwelten. Die Erforschung der ökologisch-genetischen Grundlagen für Maßnahmen zur Erhaltung und Wiederausbreitung der Weißtanne im Erzgebirge ist Inhalt dieses Forschungsvorhabens. Damit werden die methodischen Ergebnisse des langjährig vom UBA geförderten Forschungsschwerpunktes „Genökologie“ auf ein besonders gefährdetes Waldökosystem angewendet. Zudem ist dies Vorhaben ein Gemeinschaftsprojekt der „ersten Stunde“ nach der Wiedervereinigung, mit dem ein Zusammenwachsen durch Kooperation gefördert werden sollte.

1.1 Aufgabenstellung

Aus dem oben genannten Ziel des Forschungsvorhabens leiten sich umfangreiche Forschungsaufgaben ab, deren Bewältigung durch einen Verbund von drei Forschungsinstitutionen sichergestellt werden sollten. Im folgenden sind die Aufgaben der drei Teilvorhaben vorgestellt:

Teilvorhaben A:

1. Erfassung und Kartierung der Restvorkommen von Weißtanne im Sächsischen Erzgebirge,
2. Genetische Charakterisierung der erfaßten Restvorkommen mittels Isoenzym-Genmarkern und
3. Untersuchung der genetischen Struktur unterschiedlich geschädigter Tannensubpopulationen mittels Isoenzym-Genmarkern.

Mit diesen Aufgaben sollten im Teilvorhaben A zunächst Kenntnisse über den Umfang, die räumliche Verteilung und den Vitalitätszustand der Weißtannenpopulationen im Untersuchungsgebiet gewonnen werden. Daten über Befruchtungsverhältnisse und den jeweiligen

2. Teil A

2.1 Einführung und Problemstellung

Die Weißtanne ist eine der wichtigsten Baumarten der natürlichen Vegetation der gesamten sächsischen Mittelgebirge. Heute gehört sie in Sachsen zu den akut vom Aussterben bedrohten Baumarten (Rote Liste ILN, 1991). Ihr kommt somit sowohl für den Artenschutz als auch für den Aufbau naturnaher Wälder eine große Bedeutung zu. Um die Nutz-, Schutz- und Erholungsfunktionen des Waldes im Sinne des Sächsischen Waldgesetzes zu gewährleisten, sind ökologisch stabile, naturnahe und gemischte Wälder aus standortgerechten Baumarten aufzubauen (SML, 1992). Diese Zielsetzung der sächsischen Forstverwaltung spiegelt sich unter anderem in den neu entwickelten Bestandeszieltypen wider. Sie bilden die Grundlage für die langfristige waldbauliche Planung. Ein wichtiger Grundsatz ist die Beteiligung der Baumarten der natürlichen Waldgesellschaften. Dabei nehmen die Buche, die Eiche und insbesondere die Weißtanne eine Schlüsselstellung ein. So ist die Weißtanne an den folgenden Bestandeszieltypen direkt beteiligt:

- Höhenkiefer-Typ (Höhenkiefer als Hauptbaumart mit Buche, Traubeneiche, Fichte und **Tanne**)
- Fichten-Bergmischwald-Typ (Fichte als Hauptbaumart mit Buche, Bergahorn, Esche und **Tanne**)
- Buchen-Nadelbäume-Typ (Buche als Hauptbaumart mit Fichte, Douglasie, **Tanne**, Esche und Bergahorn).

Nach vorsichtigen Schätzungen sollten diese Zieltypen einen Flächenanteil von insgesamt 120 000 ha einnehmen, wobei der Tannenanteil zwischen 10 % und 20 % liegen dürfte. Diese Größenordnung wiederum entspricht einer geschätzten reduzierten Tannenfläche von über 13 000 ha. Ausgehend von der jetzigen Situation ist damit die Dimension der Aufgabe klar umrissen. Um diesen Anteil zu erreichen, ist in erster Linie qualitativ wertvolles Vermehrungsgut in großem Umfang erforderlich.

Die Bedeutung der Tanne für den Bergmischwald charakterisierte LEIBER (1943, in MAYER 1979) wohl am besten: „Die Tanne nimmt forstökologisch, bodenbiologisch, waldbaulich, ertragsmäßig, schutztechnisch und landschaftlich eine derart überragende Sonderstellung ein, daß ihr Verlust durch keine andere Baumart aufgewogen werden kann. Dem erschreckenden, ja katastrophalen Rückgang der Tanne muß kompromißlos begegnet werden, wenn die heutige Generation von Forstleuten vor der Nachwelt bestehen soll“.

Da Kenntnisse über den Umfang, den Vitalitätszustand und genetische Konstitution der Tannenrestvorkommen in Sachsen nur lückenhaft bzw. nicht vorhanden sind, besteht akuter Handlungsbedarf. Das hier im Ergebnis vorgestellte Forschungsvorhaben stellt einen Beitrag zur Lösung dieser Problematik dar.

2.2 Beschreibung des Tannenrückganges in Sachsen

Die Weißtanne erreichte in ihrer Rückwanderung aus ihren Refugialgebieten nach der Eiszeit als letzte Baumart vor ca. 4000 Jahren den sächsischen Raum und damit auch gleichzeitig ihre nördliche natürliche Verbreitungsgrenze. Ihre Hauptverbreitung beschränkte sich auf die mittleren bzw. höheren Lagen des Erzgebirges.

Bereits im 12. Jahrhundert führten Erzfunde zur Gründung zahlreicher Siedlungen und dadurch vollzog sich eine intensive Rodungstätigkeit großer Waldgebiete. Der Holzbedarf stieg im Zusammenhang mit dem Bergbau enorm an. Diese erste große Siedlungs- und Rodungsperiode im Erzgebirge war Mitte des 15. Jahrhundert abgeschlossen.

Um der uneingeschränkten Nutzung des Waldes Einhalt zu gebieten, erließ Kurfürst Moritz Forstordnungen zum Schutze des Waldes. Kurfürst August verfügte im Jahre 1560 allgemeine Holzordnungen mit Anordnungen über die Wiederbesamung von Kahlflächen, Zeitpunkt des Holzeinschlages, Umfang der Harznutzung sowie erste Waldpflegevorschriften (KIENITZ, 1936).

Nach REINHOLD (1942) kann man davon ausgehen, daß im 16. Jahrhundert zwar der Wald sein ursprüngliches Erscheinungsbild verlor, eine Veränderung der Baumartenzusammensetzung bis auf wenige Ausnahmen jedoch nicht erfolgte. Angenommen wird eher eine Verschiebung der Baumartenverteilung in manchen Gebieten zu Gunsten von Fichte und Tanne durch selektive Entnahme der Buche.

Im 17. Jahrhundert war die Tanne im sächsischen Verbreitungsgebiet noch mit etwa einem Drittel an der Bestockung beteiligt (MEYER, 1956). Im Zuge des 30-jährigen Krieges kam es erneut zu großen Waldverwüstungen und Plünderungen. Die Jagd wurde vernachlässigt und das Wild konnte sich außerordentlich stark vermehren. Es ist anzunehmen, daß die enormen Wilddichten verheerende Folgen, besonders auch für die Verjüngung der Weißtanne, hatten. HEMPEL (1979) kommt zu der Schlußfolgerung, daß die Tanne Ende des 17. Jahrhundert in den Wäldern des Gebirgsvorlandes stark zurückgegangen war und sich ihr Auftreten mehr und mehr auf die montanen Buchenstufe beschränkte.

Im 18. Jahrhunderts wurde mit einer geregelten Forstwirtschaft begonnen. Der Hochwald wurde schlagweise genutzt, wobei eine Wiederanpflanzung vorerst ausblieb. Die Fichte wurde nach und nach zur Hauptbaumart im gesamten sächsischen Mittelgebirge. Die Verjüngungsbedingungen verschlechterten sich für die Tanne, sowohl hinsichtlich des fehlenden humiden Bestandesinnenklimas als auch durch die Zunahme saurer Rohhumusdecken.

Im Zuge der bürgerlichen Revolution 1848 wurde das Privileg der herrschaftlichen Jagd aufgehoben, es kam dadurch zu einer starken Dezimierung des Wildbestandes. HEMPEL (1979) vermutet, daß die heute noch lebenden Tannen aufgrund ihres Alters aus Verjüngungen dieser Zeit stammen. Durch die Bodenreinertragslehre gingen jedoch die Mischbestände weiter zurück und

- Können Aussagen über die schwerpunktmäßige Verteilung der Tannenrestvorkommen getroffen werden?
- Wie ist der gegenwärtige Vitalitätszustand der Tanne in Sachsen einzuschätzen?
- Welche Konsequenzen hat die derzeitige Situation auf die weitere Entwicklung der Tannenrestvorkommen?
- Ist die Versorgung mit Vermehrungsgut für den Waldumbau aus den Restvorkommen möglich?

2. Die genetische Charakterisierung der erfaßten Restvorkommen

Im Rahmen dieses Schwerpunktes werden folgende Fragenkomplexe behandelt:

- Wie groß ist die genetische Variation innerhalb und zwischen den Restvorkommen der Weißtanne in Sachsen?
- Können anhand genetischer Analysen Rückschlüsse auf die Bestäubungsverhältnisse und Beerntungswürdigkeit in Abhängigkeit von der Größe des Vorkommens gezogen werden?
- Lassen sich an Hand der ermittelten genetischen Strukturen vermutlich nicht autochthone Tannenvorkommen (aus künstlicher Verjüngung mit eingeführtem Material) identifizieren?
- Lassen sich Rückschlüsse auf den Rückwanderungsweg der einheimischen Tanne ziehen?
- Welche Empfehlungen können anhand des Vergleichs der genetischen Struktur der sächsischen Tanne mit der anderer Vorkommen für den Import von Saat- bzw. Pflanzgut gegeben werden?

3. Die Untersuchung der genetischen Struktur unterschiedlich geschädigter Tannensubpopulationen

Die nachfolgenden Punkte sind dabei zu klären:

- Bestehen Zusammenhänge zwischen der genetischen Struktur und dem Vitalitätszustand?
- Bewirken die gegenwärtigen Umwelteinflüsse in den sächsischen Tannenvorkommen eine gegen bestimmte Gene oder Genotypen gerichtete Selektion?
- Haben Homo- bzw. Heterozygotie im allgemeinen bzw. an bestimmten Genloci einen Einfluß auf den Schädigungsgrad der Weißtanne in Sachsen?
- Lassen sich Schlußfolgerungen auf Änderungen der genetischen Strukturen der Restpopulationen als Folge der starken Selektion durch Immissionsschäden ziehen?

2.5 Material und Methoden

2.5.1 Erfassung der Restvorkommen

Schwerpunktmäßig befaßt sich das Projekt mit den Tannenrestvorkommen des Erzgebirges und des Elbsandsteingebirges. Als Grundlage für die Erfassung der Restvorkommen der sächsischen Weißtanne dienten hauptsächlich 2 Quellen:

- a) Die Angaben über Vorkommen von Weißtanne in Ostsachsen von POLACEKOVA und ZEICK (1991). Diese Zusammenstellung basiert im wesentlichen auf der von HAUPT (unveröff.) im Jahre 1985 veranlaßten Erfassung der Tannenvorkommen in den ehemaligen Staatlichen Forstbetrieben Sachsens und Thüringens.
- b) Rundschreiben an alle in Frage kommenden Forstämter und deren aktuelle Meldungen über Vorkommen der Weißtanne.

Die Erhebungen in den einzelnen Vorkommen (auch Einzelbäume) wurden an Hand des „Aufnahmenformulars zur Generhaltung“ (s. Anhang I) vorgenommen. Neben Angaben zum Umfang der Vorkommen wurden Daten zum Gesundheitszustand, den standörtlichen Verhältnissen, der Naturverjüngung und den waldbaulichen Bedingungen der einzelnen Vorkommen aufgenommen. Alle erfaßten Vorkommen wurden einzeln beschrieben und ihre genaue Lage in Skizzen und Meßtischblättern (Maßstab 1:25 000) festgehalten. Exemplarisch wird das Vorkommen aus dem Forstrevier Karsdorf (Abt. 252) im Anhang I dargestellt. Der Bezeichnung der sächsischen Forstämter liegt die offizielle Einteilung zum Stichtag 1.1.1993 zu Grunde. Die Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Lage und die z. Z. der Aufnahmen gültigen Bezeichnungen der sächsischen Forstämter.

2.5.2 Methodik der Zustandserhebung

Die Bonitierung des Vitalitätszustandes der einzelnen Tannen erfolgte weitgehend auf Basis der Methode der Waldzustandserfassung nach Schadstufen, allerdings ohne Berücksichtigung der Nadelverfärbungen. Tabelle 1 enthält eine Zusammenstellung der Schadstufen. Die Kronenverlichtung (Nadelverlust) wird zu Schadstufen zusammengefaßt. Bäume mit einem Nadelverlust über 25 % werden allgemein als „deutlich geschädigt“ definiert.

Tab. 1: Schadstufen des relativen Nadelverlustes

Stufe	Nadelverlust	Bezeichnung
0	0 - 10 %	ohne Schadensmerkmal
1	11 - 25 %	schwach geschädigt (Warnstufe)
2	26 - 60 %	mittelstark geschädigt
3	61 - 99 %	stark geschädigt deutlich geschädigt
4	100 %	abgestorben

Im Winter 1992/1993 wurde der Zustand von Tannenrestvorkommen im Altersbereich über 60 Jahre erfaßt und insgesamt 636 Tannen bonitiert. Die Schadstufe 4 (abgestorben) wurde nicht erfaßt. Abgestorbene Tannen sind jedoch nahezu in allen Vorkommen zu finden.

2.5.3 Genetische Untersuchungen

2.5.3.1 Auswahl der analysierten Tannenpopulationen

Bei den genetischen Untersuchungen wurden 21 Tannenvorkommen berücksichtigt. Dabei handelt es sich um die größten zusammenhängenden Tannenrestvorkommen in Sachsen, die im Rahmen der Erfassung aufgenommen wurden.

Aus Abbildung 2 ist die geographische Lage der untersuchten Populationen ersichtlich. Diese Vorkommen gehören den Wuchsgebieten Erzgebirge bzw. Elbsandsteingebirge an (Tabelle 2). Die Ermittlung des Alters aus forsthistorischen Unterlagen war in den meisten Fällen nicht möglich, zumal dieses ohnehin nur ein Richtwert sein kann, denn die Mehrzahl der untersuchten Vorkommen ist - aller Wahrscheinlichkeit nach - aus Naturverjüngung entstanden. Der Wert des Nadelverlustes wurde aus dem arithmetischen Mittelwert der geschätzten Nadelverluste der Einzelbäume der jeweiligen Vorkommen errechnet.

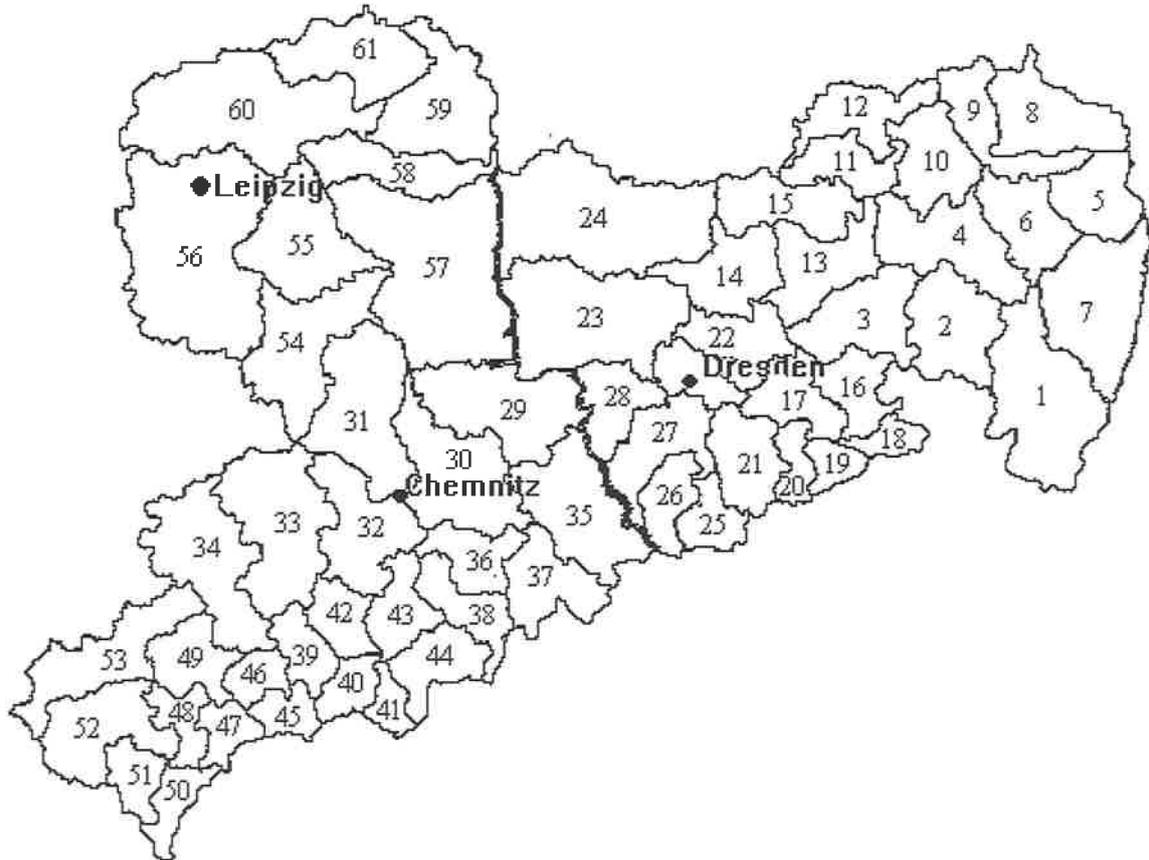
Insgesamt wurden 584 Tannen in die Auswertung einbezogen. Es handelt sich ausschließlich um Tannen, deren geschätztes Alter über 60 Jahren liegt (im folgenden als Alttannen bezeichnet). Die Anzahl der untersuchten Bäume pro Vorkommen richtete sich nach der Größe der Vorkommen selbst. Der Stichprobenumfang variiert zwischen 14 und 53 Tannen (Tabelle 2).

Von den kleineren Vorkommen wurden alle noch vorhandenen Tannen untersucht. Von den größeren Vorkommen wurden - bis auf die Fläche *Lohmen* - ca. 75 % und mehr des gesamten Vorkommens analysiert. Aus dem Vorkommen *Lohmen 19* wurden ca. 40 % der Tannen untersucht. Zum Zwecke der Erhöhung des Stichprobenumfangs wurden 3 kleinere Vorkommen des Forstreviers Auersberg (FoA Eibenstock) zur Population *Eibenstock 6* zusammengefaßt. Bis auf diese Ausnahme handelt es sich bei den restlichen Tannenpopulationen um mehr oder weniger zusammenhängende Weißtannenvorkommen, von denen man annehmen kann, daß sie aus demselben Genpool stammen.

2.5.3.2 Einteilung der Probebäume in Kollektive unterschiedlichen Schädigungsgrades

In Anlehnung an KONNERT (1992) wurde für die Ermittlung des Zusammenhanges zwischen den genetischen Strukturen und dem Schädigungsgrad der Tanne in Sachsen eine Gruppenbildung vorgenommen. Dabei wird angenommen, daß innerhalb eines Vorkommens jeder Baum

als Nachbar der anderen Bäume betrachtet werden kann, und daß alle Tannen eines Vorkommens aus demselben Genpool stammen. Die maximal zulässige Entfernung zwischen 2 Individuen eines Paares ist von der Samenverbreitung der betreffenden Baumart abhängig.



Forstdirektion Bautzen

1 FA Löbau	8 FA Bad Muskau	15 FA Straßgräbchen	22 FA Dresden
2 FA Bautzen	9 FA Weißwasser	16 FA Langburkersdorf	23 FA Moritzburg
3 FA Bischofswerda	10 FA Weißkollm	17 FA Lohmen	24 FA Weißig a. Raschütz
4 FA Neschwitz	11 FA Hoyerswerda	18 FA Bad Schandau	25 FA Altenberg
5 FA Rothenburg	12 FA Laubusch	19 FA Cunnersdorf	26 FA Bärenfels
6 FA Niesky	13 FA Elstra	20 FA Bielatal	27 FA Karsdorf
7 FA Görlitz	14 FA Laußnitz	21 FA Bad Gottleuba	28 FA Tharandt

Forstdirektion Chemnitz

29 FA Freiberg	37 FA Olbernhau	45 FA Eibenstock	53 FA Mehltheuer
30 FA Flöha	38 FA Marienberg	46 FA Schönheide	54 FA Colditz
31 FA Burgstätt	39 FA Lauter	47 FA Klingenthal	55 FA Naunhof
32 FA Stollberg	40 FA Pöhl	48 FA Tannenhau	56 FA Leipzig
33 FA Hohenstein/Ernstthal	41 FA Neudorf	49 FA Eich	57 FA Wernsdorf
34 FA Trünzig	42 FA Grünhain	50 FA Erlbach	58 FA Schmannewitz
35 FA Brand-Erbisdorf	43 FA Thum	51 FA Adorf	59 FA Taura
36 FA Heinzebank	44 FA Steinbach	52 FA Brotenfeld	60 FA Doberschütz
			61 FA Falkenberg

Abb. 1: Übersichtskarte der Forstämter Sachsens (Stichtag 1.1.1993)

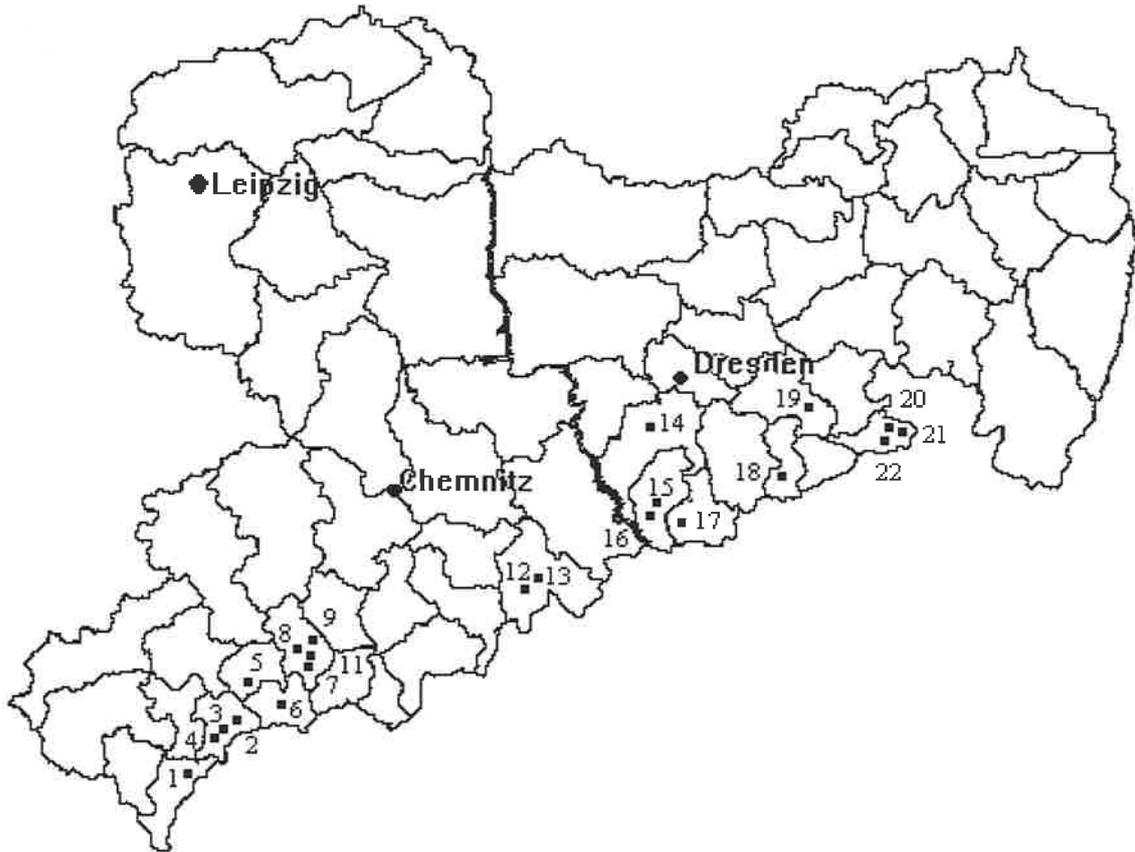


Abb. 2: Lage der untersuchten Tannenvorkommen

Tab. 2: Zusammenstellung der untersuchten Weißtannenvorkommen und Anzahl der Probestämme

Vorkommen Bezeichnung Nr.	Wuchsgebiet	Wuchs- bezirk	Forstrevier	Höhe über NN (m)	Nadel- verlust (%)	Probe- Bäume
<i>Erlbach</i> 1	Erzgebirge	451	Zwota	560	60	19
<i>Klingenthal</i> 2	Erzgebirge	451	Rautenkranz	720	36	39
<i>Klingenthal</i> 3	Erzgebirge	451	Brunndöbra	680	40	17
<i>Klingenthal</i> 4	Erzgebirge	451	Brunndöbra	720	30	14
<i>Schönheide</i> 5	Erzgebirge	451	Torfhaus	750	40	16
<i>Eibenstock</i> 6	Erzgebirge	451	Auersberg	760	45	20
<i>Lauter</i> 7	Erzgebirge	451	Antonsthal	590	45	24
<i>Lauter</i> 8	Erzgebirge	451	Conradswiese	660	67	16
<i>Lauter</i> 9	Erzgebirge	451	Conradswiese	660	56	30
<i>Lauter</i> 11	Erzgebirge	451	Bockau	700	49	14
<i>Olbernhau</i> 12	Erzgebirge	455	Olbernhau	650	53	14
<i>Olbernhau</i> 13	Erzgebirge	455	Olbernhau	650	50	33
<i>Karsdorf</i> 14	Erzgebirge	458	Karsdorf	350	69	53
<i>Bärenfels</i> 15	Erzgebirge	456	Wahlsmühle	550	66	49
<i>Bärenfels</i> 16	Erzgebirge	456	Bärenfels	600	62	33
<i>Altenberg</i> 17	Erzgebirge	456	Hirschsprung	600	70	25
<i>Bielatal</i> 18	Elbsandsteingeb.	462	Raum	400	80	14
<i>Lohmen</i> 19	Elbsandsteingeb.	461	Hohnstein	180	*	34
<i>Schandau</i> 20	Elbsandsteingeb.	461	Hinterhermsdorf	360	70	46
<i>Schandau</i> 21	Elbsandsteingeb.	461	Hinterhermsdorf	340	50	51
<i>Schandau</i> 22	Elbsandsteingeb.	461	Ostrau	260	60	23

* nicht bonitiert

Aus jedem Vorkommen wurden jeweils 30 % der Tannen mit dem höchsten bzw. mit dem niedrigsten Nadelverlust zu den Kollektiven „sensitiv“ bzw. „tolerant“ zusammengefaßt. Die Begriffe „tolerant“ bzw. „sensitiv“ beziehen sich lediglich auf niedrige bzw. hohe Nadelverluste. Das bedeutet, daß - je nach mittlerem Schädigungsgrad und Streuung der Nadelverlustprozent - Bäume der Kollektive „tolerant“ bzw. „sensitiv“ in verschiedenen Beständen unterschiedliche Nadelverlustprozent haben können.

Diese Kollektive wurden dann zu Gruppen zusammengefaßt, um den Stichprobenumfang zu erhöhen. Da die Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Schädigung und Genetik in Anschluß an die genetische Charakterisierung erfolgten, wurden die Ergebnisse dieser für die Gruppenbildung berücksichtigt. Aus Tabelle 3 ist die Zusammenstellung der Gruppen ersichtlich. Die Gruppen 1 bis 4 entsprechen den mit Hilfe der Clusteranalyse (s. Kap. 2.6.5) zusammengefaßten Populationen. Die Gruppe 3 setzt sich aus den Vorkommen des Elbsandsteingebirges zusammen. In den Gruppen 5 und 6 wurden alle Tannenpopulationen des West- bzw. Ost-erzgebirges zusammengefaßt.

Tab. 3: Gruppierung der Tannenvorkommen und Umfang der Gruppen für die Ermittlung des Zusammenhangs zwischen Schädigungsgrad und genetischen Strukturen.

Gruppe	Zusammengefaßte Vorkommen	Anzahl der Paare unterschiedlich geschädigter Tannen	Anzahl der Probebäume (insgesamt)
Gruppe 1	1; 2; 5; 6; 8	39	78
Gruppe 2	3; 7; 9; 14; 15; 16; 17	62	124
Gruppe 3	18; 19; 20; 21; 22	40	80
Gruppe 4	3; 11; 13	19	38
Gruppe 5	1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 11	65	130
Gruppe 6	12; 13; 14; 15; 16; 17	55	110

2.5.3.3 Untersuchungsmaterial

Da die vorliegende Arbeit die Charakterisierung der Weißtannenpopulationen zum Ziele hat und für die untersuchten Enzymsysteme die genetische Kontrolle bereits geklärt ist, wurden die Untersuchungen lediglich an Knospenmaterial durchgeführt. Die Tannenknochen wurden mittels Schrotflinte ab Winter 1991/1992 geworben und bis zur Analyse bei -75 °C eingelagert.

Zunächst wurde das grüne Meristemgewebe von 3-6 Knospen pro Baum in 70 bis 100 µl Extraktionspuffer (0,1 M Tris-HCl, 3 % löslicher Polyvinylpyrrolidon, 0,05 % β-Mercaptoethanol, pH 7,2) und einer Spatelspitze Polyclar AT homogenisiert. Die Auftrennung der im Homogenat gelösten Proteine erfolgte mit Hilfe der horizontalen Stärkegel-Elektrophorese.

2.5.3.5.2 Quantifizierung der genetischen Variation innerhalb der Tannenpopulationen

2.5.3.5.2.1 Genetische Vielfalt

Bei diesem Parameter der genetischen Variation werden lediglich die Anzahl der genetischen Varianten (Genotypen, Allele) in einer Population berücksichtigt. Als Quantifizierungsmaße wurden berechnet:

- die mittlere Anzahl der Allele pro Locus (=A/L)
- der Anteil polymorpher Genloci (P) und
- die maximale potentielle genotypische Vielfalt (G_p).

G_p wird folgendermaßen berechnet: $G_p = \prod_{i=1}^k [n_i(n_i + 1) / 2]$

wobei n_i die Anzahl Allele am Locus i und k die Anzahl polymorpher Genloci bezeichnet (HATTEMER et al., 1993).

2.5.3.5.2.2 Genetische Diversität

Im Unterschied zur genetischen Vielfalt wird bei der genetischen Diversität nicht nur die Anzahl der verschiedenen genetischen Typen berücksichtigt, sondern deren Häufigkeit wird ebenfalls einbezogen. Folgende Maße der genetischen Diversität wurden berechnet:

- die allelische Diversität (v_k)
- die Genpool-Diversität (v_{pool})
- die hypothetische gametische Multilocus-Diversität (v_{gam})
- die Populationsdifferenzierung (δ_T) und
- der Heterozygotiegrad.

Die **allelische Diversität** v_k ist definiert als $v_k = \left[\sum_{i=1}^m (p_i^k)^2 \right]^{-1}$

wobei p_i die Häufigkeit des i -ten Allels am Genlocus k darstellt.

Dieses Maß ist im Grunde die Anzahl effektiver Allele, d.h. die Anzahl derjenigen Allele, die an einem Genlocus mit wesentlich von Null verschiedenen Häufigkeiten auftreten (HATTEMER et al., 1993).

Die **Genpool-Diversität** (v_{pool}) wird berechnet als harmonischer Mittelwert der allelischen (Einzellocus-) Diversitäten und stellt die mittlere effektive Anzahl von Allelen dar. Sie bringt zum Ausdruck, wieviele Allele in der Population effektiv zum Tragen kommen (HATTEMER et al., 1993).

Die **hypothetische gametische Multilocus-Diversität** (v_{gam}) ist das Produkt der allelischen (=Einzellocus) Diversitäten und spezifiziert die maximal mögliche Anzahl genetisch unterschiedlicher Gameten, die von der Population gebildet werden können. Damit wird der Tatsache

Rechnung getragen, daß die Anpassungsfähigkeit einer Population von ihrer Potenz abhängt, verschiedenartige Gameten bilden zu können (MÜLLER-STARCK und GREGORIUS, 1986; LÖCHELT und FRANKE, 1993).

Die **Populationsdifferenzierung** (δ_T) als weiteres Maß für die genetische Variation innerhalb einer Population umgeht die Problematik der Populationsgröße bzw. der Anzahl der untersuchten Individuen, indem die Werte der genetischen Diversität normiert werden. Nach GREGORIUS (1987) wird δ_T ermittelt als

$$\delta_T = \frac{N}{N-1} (1 - \sum p_i^2) = \frac{N}{N-1} \left(1 - \frac{1}{v}\right)$$

So berechnet beträgt $\delta_T=0$ bei völliger Abwesenheit von Differenzierung (= Monomorphie) und δ_T ist gleich 1 bei absoluter genetischer Verschiedenheit.

Die **Genpool-Differenzierung** ($\delta_{T(Pool)}$) ergibt sich dann als arithmetischer Mittelwert der Differenzierung in den einzelnen Genloci.

$$(\delta_{T(Pool)}) = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L (\delta_{T(i)})$$

2.5.3.5.2.3 Heterozygotie und Fixierungsindex

Der **Heterozygotiegrad** quantifiziert die individuelle genetische Variation. Berechnet wurden die aktuelle Heterozygotie (H_a) und die erwartete Heterozygotie (H_e). Der Heterozygotiegrad der einzelnen Loci gibt den relativen Anteil der an diesem Locus heterozygoten Individuen an. Die erwartete Heterozygotie (H_e) ist die unter genetischem (=HARDY-WEINBERG-) Gleichgewicht erwartete Heterozygotie bei den ermittelten Allelhäufigkeiten. Das genetische Gleichgewicht besitzt Modellcharakter und beschreibt ein auf Zufallspaarung basierendes Reproduktionssystem. H_e wird wie folgt berechnet

$$H_e = 1 - \sum_i p_i^2$$

wobei p_i die Häufigkeit des i -ten Allels bedeutet.

Der mittlere Heterozygotiegrad einer Population errechnet sich jeweils aus dem arithmetischen Mittelwert der Einzellocus-Werte.

Mit Hilfe des **Fixierungsindex** (**F**) wurden die ermittelte aktuelle Heterozygotie (H_a) mit der erwarteten Heterozygotie verglichen. Der Fixierungsindex wird folgendermaßen berechnet:

$$F = 1 - \frac{H_a}{H_e}$$

So liegt bei **F > 0** ein **Heterozygotenmangel** und bei

F < 0 ein **Heterozygotenüberschuß** vor,

während bei **F = 0** beobachteter und erwarteter Heterozygotie übereinstimmen.

2.5.3.5.3 Erfassung der genetischen Differenzierung zwischen den Tannenpopulationen

2.5.3.5.3.1 Statistischer Vergleich der genetischen Strukturen

Der Grad der Differenzierung einer Population von anderen wird durch den Anteil der genetischen Varianten (z.B. Allele oder Genotypen), durch deren Besitz sich diese Population von den anderen unterscheidet, gekennzeichnet (HATTEMER et. al., 1993).

In Anlehnung an MÜLLER-STARCK (1989), KONNERT (1992) und LÖCHELT und FRANKE (1993) wurden die Allelverteilungen der untersuchten Populationen locusweise als *n-mal-k-Tafel* betrachtet und **mit Hilfe des G-Tests** auf Unabhängigkeit geprüft. Verglichen wird damit, ob die empirisch ermittelten Allelhäufigkeiten (Verteilungen) von zwei Populationen homogen sind, d.h. ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Allelverteilungen der zu vergleichenden Populationen bestehen. Dieser Test ermöglicht Differenzierungstendenzen zu erkennen (LÖCHELT und FRANKE, 1993). Eine Quantifizierung der Verschiedenheit wird damit jedoch nicht erzielt.

2.5.3.5.3.2 Genetischer Abstand

Während mit Hilfe des G-Test Differenzierungstendenzen erkennbar sind, erlaubt der genetische Abstand nach GREGORIUS (1974) die Quantifizierung der Unterschiede in den Häufigkeitsverteilungen der allelischen Strukturen. Berechnet wird der genetische (allelische) Abstand (d_{XY}) wie folgt:

$$d_{XY}^k = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n |x_i^k - y_i^k|$$

wobei x_i und y_i die relativen Häufigkeiten des i -ten genetischen Typs (Genotypen, Allele) am Locus k in den zu vergleichenden Populationen X bzw. Y sind.

Der Gesamtabstand (Genpool-Abstand), D_{XY} , ist das arithmetische Mittel der allelischen Abstände (d_{XY}).

$$D_{XY} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m d_{XY}^k$$

Aufgrund seiner mathematischen Herleitung ist der genetische Abstand symmetrisch ($D_{XY}=D_{YX}$). Weiterhin nimmt D_{XY} Werte zwischen 0 und 1 an. Der maximale Wert 1 liegt dann vor, wenn die (Sub-) Populationen keine gemeinsamen genetischen Typen (z. B. Allele) haben. Der genetische Abstand ist gleich 0 bei völliger Übereinstimmung der genetischen Strukturen, d.h. die in Betracht kommenden Kollektive (Populationen) haben nicht nur alle Allele gemeinsam, sondern deren Häufigkeiten sind auch gleich (HATTEMER et al., 1993).

2.5.3.5.3 Subpopulationsdifferenzierung (D_j) nach GREGORIUS und ROBERDS (1986)

Dabei werden die Allel- bzw. Genotyphäufigkeiten jedes Bestandes einzeln betrachtet, und die restlichen Vorkommen stellen sein Komplement dar. Die Differenzierung (D_j) an einem Genlocus definiert sich als der genetische Abstand zwischen dieser Population und ihrem Komplement. Die Allel- bzw. Genotyphäufigkeiten werden mit der Probebaumzahl gewichtet.

$$D_j = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{m_i} |p_i^{(j)} - \bar{p}_i^{(j)}|$$

Dabei sind $p_i^{(j)}$ die relative Häufigkeit des Allels p_i in der Population j und $\bar{p}_i^{(j)}$ die relative Häufigkeit des Allels p_i in ihrem Komplement.

Die mittlere Differenzierung (D) aller Populationen ist das gewichtete Mittel von D_j . D ist gleich der mittleren Anzahl von Allelen, durch die sich jede Herkunft von den restlichen unterscheidet. Durch dieses Verfahren kann auch festgestellt werden, welche Population am stärksten zur Differenzierung beiträgt (KONNERT, 1992).

2.5.3.5.4 Clusteranalyse

Die Clusteranalyse ist eine explorativ verfahrenende Methode, die eine Anzahl von Beobachtungsfällen nach bestimmten Kriterien in mehrere Gruppen untergliedert. Jeder Clusteralgorithmus versucht Gruppen (Cluster) zu finden, die möglichst weit voneinander entfernt sind, deren Mitglieder untereinander jedoch sehr nah beieinander liegen (URBAN et al., 1992). Dabei bilden die Tannenvorkommen die Beobachtungsfälle und der ermittelte genetische (allelische) Gesamtabstand (D_{XY}) nach GREGORIUS (1974) zwischen den einzelnen Vorkommen das Kriterium zur Gruppenbildung. Die Ausführung der Clusteranalyse erfolgte mit Hilfe des Programmpakets SYSTAT.

2.6 Ergebnisse

2.6.1 Gegenwärtiger Umfang und Verteilung der Tannenvorkommen

Gegenwärtig liegen Angaben zu Tannenvorkommen von 44 sächsischen Forstämtern vor. Es handelt sich oftmals um Einzelbäume in Fichtenreinbeständen, horstweises bzw. bestandesbildendes Auftreten sind selten.

Nach den bisherigen Untersuchungen beläuft sich der Bestand an Alttannen in Sachsen auf höchstens 2000 Exemplare. Diese sind schwerpunktmäßig im Elbsandsteingebirge in den Forstämtern Bad Schandau und Lohmen, im Osterzgebirge in den Forstämtern Bärenfels, Altenberg und Karsdorf und im Westerzgebirge in den Forstämtern Lauter und Klingenthal verteilt (Abb. 3).

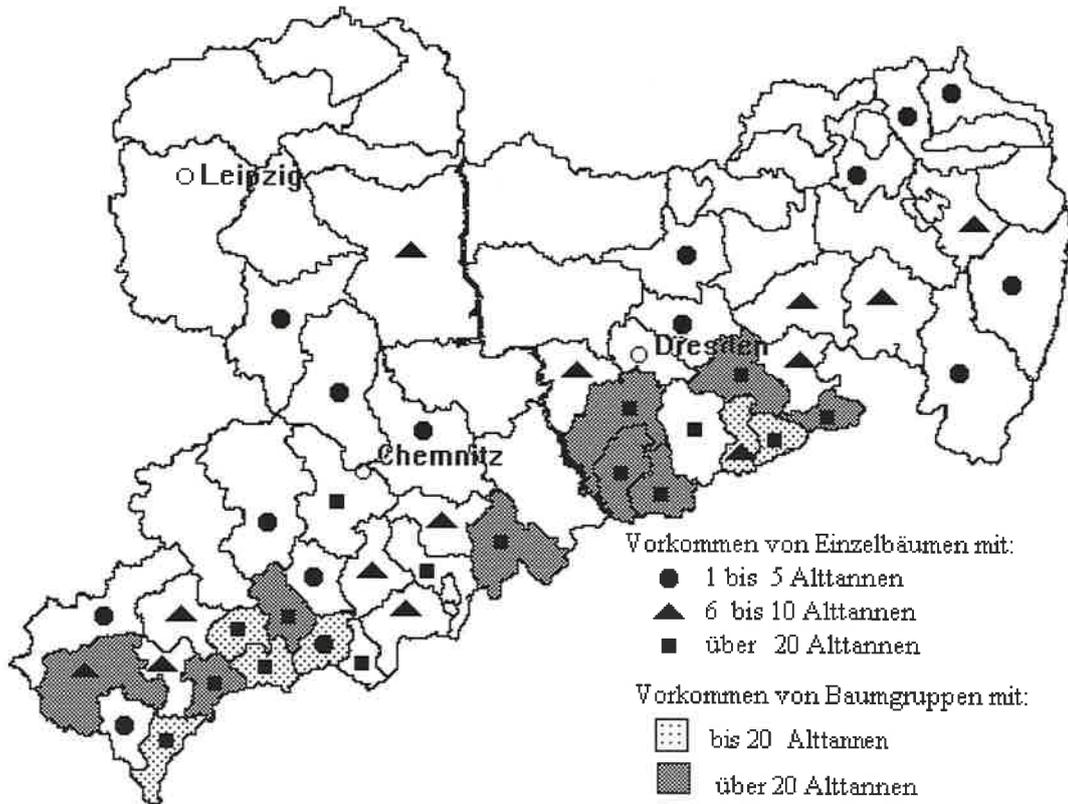


Abb. 3: Verteilung der Altannenvorkommen Sachsens

Die meisten der aufgenommenen Altannen stocken auf saurem Grundgestein in den mittleren und höheren Lagen des Erzgebirges und Vogtlands. Die Standorte sind hauptsächlich von mäßiger Nährkraft bei feuchtem Klima in überwiegend geschützten Lagen. Die Jahresniederschlagsmenge liegt mit Ausnahme des Forstamtes Lohmen bei 1000 mm. Im allgemeinen weisen die Standorte eine durchschnittliche Wasserversorgung auf. Ausnahmen bilden Vorkommen in Bach- oder Flußtälern (z. B. Forstamt Lohmen).

Die größten Restvorkommen in Sachsen befinden sich im Elbsandsteingebirge vorwiegend im Bereich des Nationalparks „Sächsische Schweiz“. Das Forstamt Bad Schandau ist das tannenreichste Forstamt Sachsens. Zum Zeitpunkt der Aufnahmen waren in diesem Forstamt über 400 Altannen vorhanden. Das sind mehr als ein Viertel aller Altannen Sachsens. Davon befinden sich jeweils über 150 Altannen in den Revieren Hinterhermsdorf und Ostrau. Im Revier Hinterhermsdorf sind die Vorkommen in den Teilflächen 109a³ und 112a¹ mit 70 bzw. 32 Altannen am größten. Im Revier Ostrau setzen sich die größten Vorkommen in den Abteilungen 634a^{14/a¹⁵} und 632a⁹ aus jeweils 38 und 32 Tannen zusammen.

Weniger oft kommt die Weißtanne im Forstamt Lohmen vor. Hier ist besonders das Vorkommen im Polenztal im Bereich des Forstreviers Hohnstein erwähnenswert. Dieses Vorkommen besteht aus ca. 100 Altbäumen entlang der Polenz.

Das Vorkommen des Flächennaturdenkmales „Wahlsmühle“ im Forstamt Bärenfels ist mit insgesamt 118 Altannen das zahlenmäßig größte Vorkommen Sachsens. Ein weiteres bedeutendes Vorkommen dieses Forstamtes liegt im Naturschutzgebiet „Hofehübel“ mit 32 Altannen.

Ein weiteres Vorkommen mit insgesamt 75 Tannen befindet sich im Forstamt Karsdorf (s. a. Anhang I). Allerdings beschränkt sich das Auftreten der restlichen Tannen dieses Forstamtes auf lediglich einige einzeln stehende Alttannen.

Aus dem Forstamt Altenberg ist das Vorkommen im Bereich des Naturschutzgebietes „Weichholdwald“ zu erwähnen. Dieses setzt sich aus über 20 Alttannen zusammen.

Das Auftreten der Weißtanne im Forstamt Olbernhau beschränkt sich auf die Vorkommen im NSG „Rungstock“ mit lediglich 16 Alttannen und das Vorkommen in den Abteilungen 60/61 des Reviers Olbernhau mit rund 60 jüngeren Tannen.

Weitere Relikte des herzynischen Bergmischwaldes mit Weißtannenvorkommen sind außerdem im Westerzgebirge und Vogtland zu finden. Im Forstamt Lauter liegen 4 größere zusammenhängende Vorkommen. Im Bereich des NSG „Conradswiese“ befindet sich eins davon mit insgesamt 31 Alttannen. Weitere Vorkommen mit 18 bzw. 24 Alttannen sind im Revier Conradswiese (Abteilungen 220b⁸/221b⁵) bzw. im Revier Bockau (Abteilung 308) anzutreffen. Ein typisches Bergmischwaldrelikt mit insgesamt 23 Alttannen ist im Revier Anthonsthal in den Abteilungen 118a¹/a³ lokalisiert.

Weitere Vorkommen mit jeweils mehr als 10 Alttannen sind in den Forstämtern Klingenthal (4), Eibenstock (2), Schönheide (1), Erlbach (2) und Brotenfeld (1) vorhanden.

2.6.2 Vitalitätszustand der Tannenrestvorkommen

Nach den Ergebnissen der Bonitierung nach Schadstufen weisen 94 % der Tannen deutliche Schäden auf (Abb. 4).

Nur 5 % der Weißtannen gelten als leicht geschädigt und knapp 1 % wurde in die Kategorie der nicht geschädigten eingestuft. Bei diesen nicht geschädigten Tannen handelt es sich überwiegend um verhältnismäßig junge Exemplare, die zwar älter als 60 Jahre, jedoch jünger als die Tannen der übrigen Vorkommen sind.

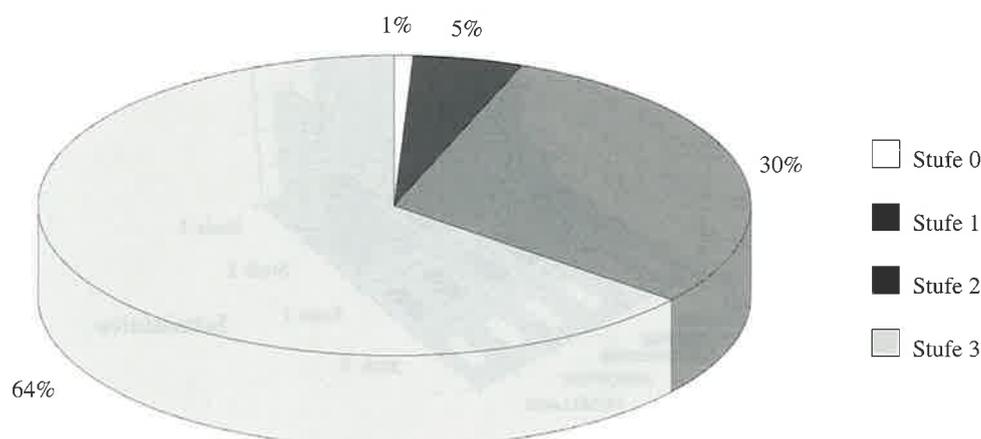


Abb. 4: Verteilung der Schadstufen der Weißtanne

In Abbildung 5 ist die Verteilung der Schadstufen nach Höhenlagen dargestellt. Es ist zu erkennen, daß die größten Schäden in den unteren Lagen zu verzeichnen sind. In den höheren Lagen ist der Anteil deutlich geschädigter Bäume (Stufe 2 und 3) mit 72 % am geringsten. Diese Vorkommen stocken auf vorwiegend günstigen Standorten in geschützten (Tal-) Lagen im Westerzgebirge.

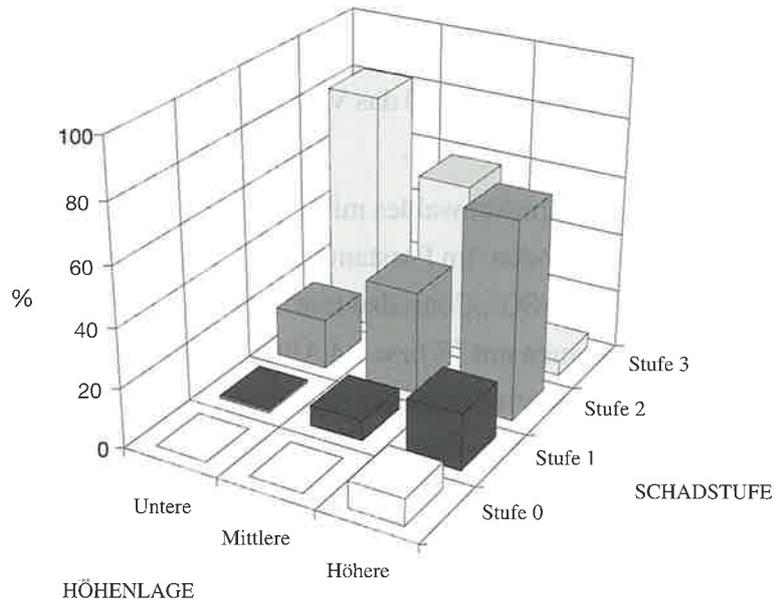


Abb. 5: Verteilung der Schadstufen der Weißtanne nach Höhenlagen

Betrachtet man die Schäden in den einzelnen Wuchsbezirken, so sind diese im Westerzgebirge am geringsten. Aus Abbildung 6 ist ersichtlich, daß bei 5 % der Weißtannen in diesem Wuchsbezirk kein Schadensmerkmal registriert wird (Schadstufe 0). Während der Anteil deutlich geschädigter Tannen im Westerzgebirge nur 72 % beträgt, variiert der Anteil dieser Schadstufen zwischen 96 % im mittleren Erzgebirge und 100 % im Elbsandsteingebirge und im Hügelland (Sächsisch-Thüringisches und Lausitzer Löß-Hügelland).

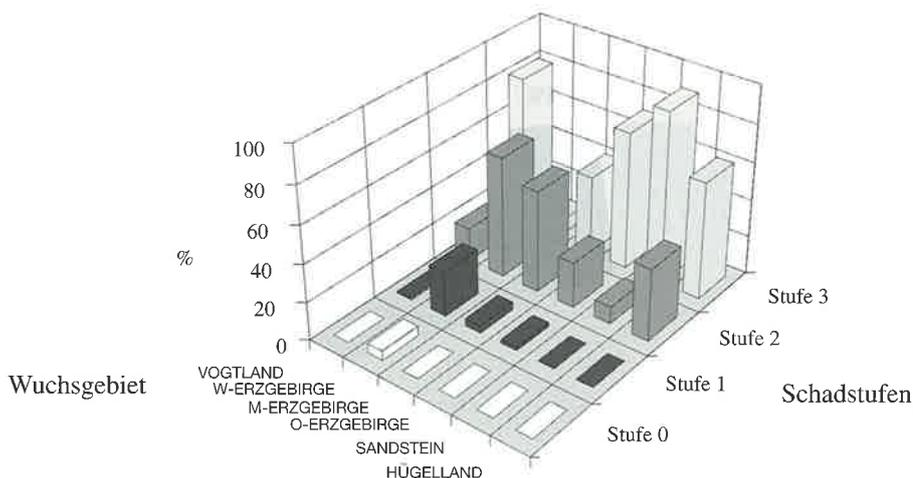


Abb. 6: Verteilung der Schadstufen der Weißtanne nach Wuchsgebieten bzw. bezirken

2.6.3 Genetische Variation innerhalb der Tannenpopulationen

2.6.3.1 Genetische Vielfalt und Diversität

In Tabelle 5 sind die Werte der genetischen Vielfalt und der Diversität zusammengefaßt. Daraus ist zu erkennen, daß im Durchschnitt 1,94 Allele pro Locus vorhanden sind. Von den 9 untersuchten Genorten erwies sich lediglich das Vorkommen *Olbernhau 13* für alle Genloci als polymorph. Bis auf diese Population zeigte der Genlocus Dia-A keine Variation. Ebenfalls waren die Genorte GOT-A, GOT-B und LAP-A bei einem Teil der untersuchten Populationen monomorph.

Dieser relativ hohe Anteil an Vorkommen mit Genorten ohne Variation schlägt sich unmittelbar auf die potentielle Genotypenvielfalt (G_p) nieder. In der Population *Olbernhau 13* können bis zu 78732 verschiedene genetische Typen mit den untersuchten Genorten gebildet werden, während bei den Populationen *Klingenthal 3*, *Klingenthal 4* und *Olbernhau 12* maximal 972 möglich sind. D.h., in der Population *Olbernhau 13* kann das 81fache an verschiedenen Genotypen gegenüber den letzteren Vorkommen gebildet werden.

Die Weißtannenvorkommen Sachsens sind als wenig divers in ihrem Genpool zu bezeichnen. Die Werte für die Genpool-Diversität (v_{Pool}) variieren zwischen 1,272 im Vorkommen *Klingenthal 3* und 1,612 im Vorkommen *Olbernhau 13*. Lediglich zwei Populationen (*Olbernhau 13* und *Lauter 11*) wiesen eine Genpooldiversität größer als 1,5 auf. Erst durch den multiplikativen Effekt der Multilocus-Diversität kommen die vorhandenen Unterschiede zum Ausdruck. Der Mittelwert dieser Variationsmaße beträgt 17,87. Besonders gering ist die genetische (allelische) Diversität mit $v_{gam} = 6,56$ im Bestand *Klingenthal 3*. Die Multilocusdiversität ($v_{gam} = 54,37$) ist im Bestand *Olbernhau 13* am höchsten. Tendenziell zeigen die Vorkommen des Elbsandsteingebirges eine höhere Multilocus-Diversität als die im Osterzgebirge. Am niedrigsten ist v_{gam} im West-erzgebirge.

Die Differenzierung (δ_T) innerhalb der Population zeigt ein ähnliches Bild wie das der Multilocusdiversität. Mit $\delta_T = 0,346$ erreicht sie den größten Wert im Vorkommen *Olbernhau 13* und sie beträgt nur 0,176 in der Population *Klingenthal 3*. D.h., im *Klingenthal 3* ist die Wahrscheinlichkeit, daß 2 zufällig gewählte Tannen in ihrem genetischen Typ gleich sind, doppelt so hoch wie im Vorkommen *Olbernhau 13*.

2.6.3.2 Heterozygotie und Fixierungsindex

Die Werte der mittleren aktuellen Heterozygotie variieren zwischen 9,1 % im Vorkommen *Lauter 8* und 24,6 % in den Vorkommen *Schandau 22* und *Bielatal 18* im Elbsandsteingebirge (Tabelle 6). Dem gegenüber stehen die Werte der erwarteten Heterozygotie mit 16,6 % im Vorkommen *Klingenthal 3* und 33,6 % für die Fläche *Olbernhau 13*.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Wuchsgebieten bei der Gesamtdifferenzierung sind unbedeutend. Die höchste Einzellocusdifferenzierung besitzt die Population *Lauter 11* am Genort GOT-C mit 28,2 %.

Über den gesamten Genpool differenzieren sich die Populationen *Klingenthal 3*, *Lauter 11* und *Olbernhau 13* am stärksten ($D_j = 9,1$ bis $9,9$) von den übrigen Beständen.

2.6.5 Clusteranalyse zur genetischen Klassifikation der Tannenvorkommen

Auf der Grundlage des genetischen Abstands nach GREGORIUS (1974) wurde die Clusteranalyse durchgeführt. Aus dem Dendrogramm (Abbildung 7) sind 2 große Gruppen zu erkennen. In der ersten Gruppe sind die Bestände des Elbsandsteingebirges und in der zweiten die Populationen aus dem Erzgebirge geclustert. Die Vorkommen des Erzgebirges bilden zunächst zwei Untergruppen. Eine davon enthält die bereits erwähnten Populationen *Klingenthal 3*, *Lauter 11* und *Olbernhau 13*, deren geschätztes Alter niedriger als das Alter der restlichen untersuchten Populationen ist. Diese Untergruppe ist geographisch uneinheitlich, so sind die Vorkommen *Klingenthal 3* und *Lauter 11* dem Westerzgebirge zuzuordnen, während sich die Fläche *Olbernhau 13* im mittleren Erzgebirge befindet.

Die zweite Untergruppe zerfällt ihrerseits in zwei Blöcke, innerhalb welcher sich die Tannenvorkommen allerdings nicht sehr stark differenzieren. Im ersten sind bis auf eine Ausnahme (*Olbernhau 12*) Vorkommen des Westerzgebirges geclustert und die zweite Gruppe besteht vorwiegend aus Populationen des Osterzgebirges. Ausnahmen sind die Vorkommen *Klingenthal 4*, *Lauter 9* und *Lauter 7*.

2.6.6 Genetische Unterschiede zwischen toleranten und sensitiven Subpopulationen

2.6.6.1 Genetische Vielfalt und Diversität innerhalb der toleranten und sensitiven Subpopulationen

Die beiden Subpopulationen - über alle Gruppen betrachtet - unterscheiden sich in ihrer mittleren Anzahl der Allele pro Locus kaum. Die mittlere Anzahl der Allele je Locus (A/L) beträgt für die toleranten Kollektive 2,046 und für die stärker geschädigten Tannen (sensitiv) 2,035. Ebenfalls unbedeutend sind die Unterschiede zwischen den Kollektiven der einzelnen Gruppen. Ein Trend ist auch nicht erkennbar.

In ihrer Genpool-Diversität (v_{pool}) unterscheiden sich die Kollektive ebenfalls kaum (Tabelle 10). Die mittlere Genpooldiversität über alle Gruppen beträgt 1,418.

Mit $v_{pool} = 1,424$ bei den toleranten und 1,411 bei den sensitiven ist die Differenz unbedeutend. Der Vergleich der hypothetischen gametischen Multilocusdiversität (v_{gam}) zeigt trotz des multiplikativen Effektes ihrer Berechnung kaum Unterschiede zwischen den unterschiedlich geschädigten Tannensubpopulationen des Untersuchungsgebietes.

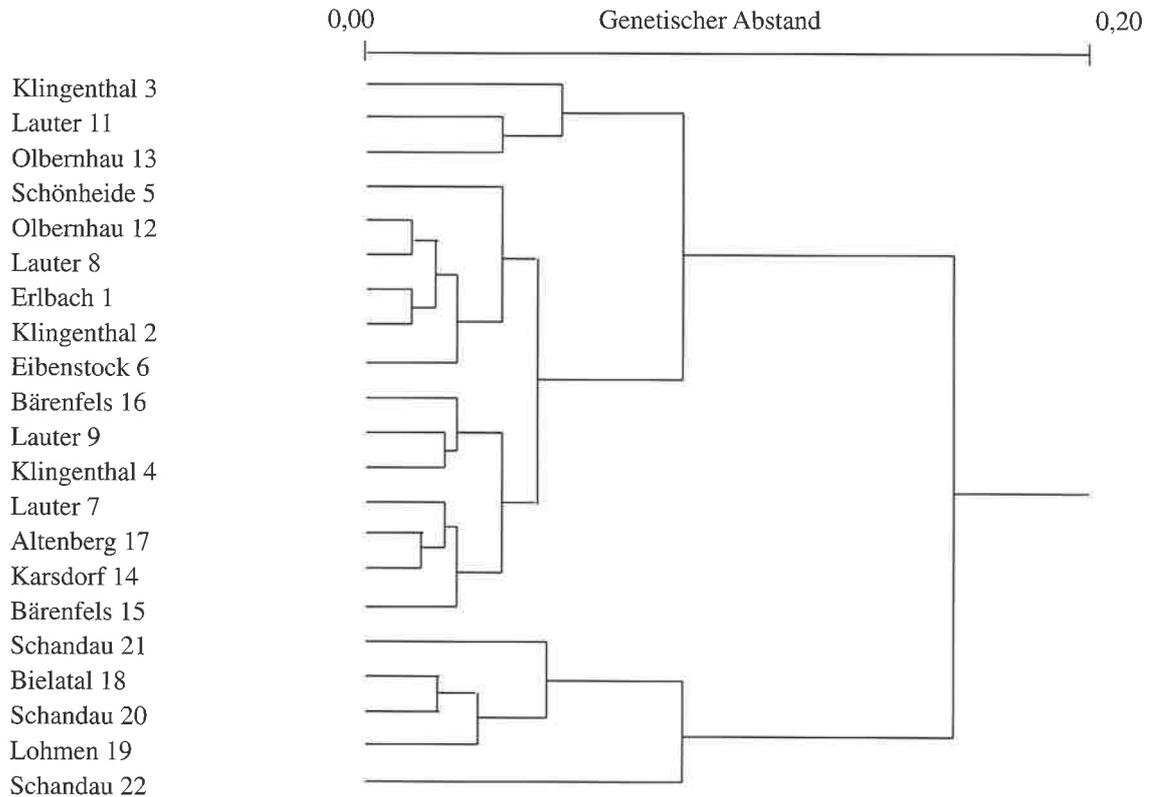


Abb. 7: Dendrogramm der 21 untersuchten Tannenvorkommen basierend auf den Genpool-Abständen in Tab. 6

Eine Ausnahme bildet die Gruppe 4. Hier zeigen die toleranten Subpopulationen eine verhältnismäßig höhere Multilocusdiversität ($v_{gam}=26,952$) als im sensitiven Kollektiv ($v_{gam}=18,131$).

Tab. 10: Genetische Diversität und Differenzierung der toleranten und sensitiven Subpopulationen

Gruppe	Genetische Diversität				Differenzierung	
	Genpool-Diversität		Hypothet. gamet. Multilocus-Diversität		δ_T	
	v_{Pool}		v_{gam}			
tolerant	sensitiv	tolerant	sensitiv	tolerant	sensitiv	
Gruppe 1	1,391	1,396	13,607	14,913	0,229	0,241
Gruppe 2	1,387	1,388	13,270	14,725	0,226	0,240
Gruppe 3	1,463	1,469	21,686	21,954	0,269	0,268
Gruppe 4	1,490	1,418	26,952	18,131	0,300	0,269
Gruppe 5	1,409	1,398	14,978	15,341	0,234	0,242
Gruppe 6	1,407	1,397	16,277	16,015	0,249	0,250

Unterschiede bezüglich der Populationsdifferenzierung (δ_T) sind ebenfalls nicht zu erkennen. Die mittlere δ_T beträgt für die Subpopulationen mit niedrigeren Nadelverlusten (tolerant) 0,251. Für die sensitiven beträgt sie 0,252.

2.6.6.2 Heterozygotie in den toleranten und sensitiven Tannensubpopulationen

Die Heterozygotiegrade in den einzelnen Loci variieren innerhalb der einzelnen Kollektive einer Gruppe zum Teil beträchtlich (Tabelle 11). Die Heterozygotiegrade der gebildeten Gruppen sind als Multilocus-Mittelwert in Tabelle 12 dargestellt. Daraus geht hervor, daß beide Variationsmaße kaum Unterschiede zwischen den toleranten und den sensitiven Subpopulationen zeigen. **Der aktuelle Heterozygotiegrad** der stärker geschädigten Tannen beträgt 19,7 % gegenüber 18,9 % bei den toleranten Kollektiven.

Tab. 11: Variationsbreite der aktuellen Heterozygotie in den unterschiedlich geschädigten Tannensubpopulationen (Beispiele).

Genort	Gruppe	Ha (%) in Subpopulation ...	
		tolerant	sensitiv
IDH-A	Gruppe 6	40,0	20,0
IDH-B	Gruppe 4	31,6	47,5
6-PGDH-A	Gruppe 4	47,4	26,3

Der erwartete Heterozygotiegrad beträgt jeweils 24,4 % bzw. 24,5 % für die stärker bzw. niedriger geschädigten Teilpopulationen. Ein einheitlicher Trend ist jedoch nicht zu erkennen. D.h., weder H_a noch H_e sind immer gleich gerichtet.

Lediglich am Genort 6-PGDH-A zeigen alle Gruppen einen gerichteten Unterschied, und zwar ist die aktuelle Heterozygotie der toleranten Kollektive an diesem Genort höher für alle Gruppen. Dieser Unterschied läßt sich allerdings statistisch nicht absichern.

Tab. 12: Aktuelle und erwartete Heterozygotie in den toleranten und sensitiven Kollektiven

Gruppe	Heterozygotie			
	aktuelle Heterozygotie H_a		erwartete Heterozygotie H_e	
	tolerant	sensitiv	tolerant	sensitiv
Gruppe 1	21,8	19,2	29,7	26,3
Gruppe 2	24,2	23,4	27,3	27,2
Gruppe 3	26,31	23,8	28,5	28,1
Gruppe 4	19,3	23,7	34,8	29,7
Gruppe 5	22,0	22,8	30,8	27,6
Gruppe 6	23,3	21,2	28,8	27,3

2.6.6.3 Vergleich der genetischen Strukturen der toleranten und sensitiven Subpopulationen

Der statistische Vergleich der genetischen Strukturen der unterschiedlich stark geschädigten Kollektive ergab folgendes (s. Tabelle 13):

- Bei der Gruppe 1 (vorwiegend aus Vorkommen des Westerzgebirges) bestehen lediglich am Genort AAP-A signifikante Unterschiede (Signifikanzniveau 5 %) zwischen den toleranten

- und den sensitiven Kollektiven. Weiterhin fehlt beim toleranten Kollektiv das Allel LAP-A2, welches bei den sensitiven mit einer Häufigkeit von 7,7 % vorkommt.
- b) In der Gruppe 2 (vorwiegend Osterzgebirge) unterscheiden sich die sensitiven von den toleranten Kollektiven lediglich am Genort IDH-A signifikant. Die restlichen 8 Genorte sind weitgehend homogen.
 - c) Die Verteilung der Allele bzw. der Genotypen in den Subpopulationen des Elbsandsteingebirges (Gruppe 3) sind für alle untersuchten Genorte homogen.
 - d) Zwischen den Kollektiven der Gruppe 4 (nicht autochthone Vorkommen) sind ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festzustellen.
 - e) In der Gruppe 5 (alle Vorkommen des Westerzgebirges) sind signifikante Unterschiede bei den Allelverteilungen der sensitiven und toleranten Kollektive lediglich an den Genorten LAP-A und AAP-A zu verzeichnen.

Auch der Vergleich der Genotypenverteilung beider Kollektive in den einzelnen Gruppen läßt kaum signifikante Unterschiede erkennen, so besteht lediglich im Westerzgebirge (Gruppe 5) ein signifikant höherer Anteil des Genotyps LAP-A1A2 im sensitiven Kollektiv (12 %) als im toleranten (3 %). Ebenfalls am Genort AAP-A unterschieden sich die Genotypen der beiden Kollektive dieser Gruppe signifikant. Für die restlichen Kollektive waren an keinem der untersuchten Genorte signifikante Unterschiede festzustellen.

Der statistische Vergleich über alle Genloci anhand der absoluten Allelhäufigkeiten ergibt weder für die einzelnen Gruppen noch über alle Gruppen signifikante Unterschiede zwischen den toleranten und sensitiven Kollektiven.

Bis auf den Genlocus GOT-B zeichnet sich keine gerichtete Selektion in den Allelhäufigkeiten der beiden Kollektive ab. Am Genort GOT-B zeigen die toleranten Kollektive aller Gruppen höhere Häufigkeiten des Allels GOT-B2. Die Prüfung auf Signifikanz ergibt auf Grund des Minorpolymorphismus dieses Genlocus keine aussagekräftigen Werte, da die absoluten Allelhäufigkeiten Werte zwischen 0 und 4 einnehmen und damit ziemlich gering sind.

Ein ähnlicher Trend zeichnet sich am Genort LAP-A ab. Hier zeigen bis auf eine Ausnahme die sensitiven Kollektive einen höheren Anteil am Allel LAP-A2.

Bezüglich der Genotypenverteilung bestehen ebenfalls für keinen Genort signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlich geschädigten Kollektiven. Unterschiede, die jedoch statistisch nicht gesichert werden können, bestehen für einige Genorte. So z. B. zeigen alle toleranten Subpopulationen einen höheren Anteil an dem Genotyp 6-PGDH-A1A2 und LAP-A1A1 sowie bis auf eine Ausnahme auch einen höheren Anteil an GOT-B1B2. Die sensitiven Kollektive ihrerseits haben einen höheren Anteil an GOT-B1B1 sowie 6-PGDH-A2A2 für alle Gruppen sowie bis auf eine Gruppe ebenfalls an LAP-A1A2.

2.6.6.4 Genetische Abstände zwischen toleranten und sensitiven Subpopulationen

Die berechneten genischen (allelischen) sowie die genotypischen Abstände nach GREGORIUS und ROBERDS (1986) zwischen den toleranten und sensitiven Teilkollektiven jeder Gruppe sind in Tabelle 13 wiedergegeben.

Sowohl die genischen als auch die genotypischen Abstände sind als ziemlich gering zu bezeichnen.

Mit 2,8 % ist der genische (allelische) Gesamtabstand zwischen den Subpopulationen des Elbsandsteingebirges am geringsten und mit 7,9 % bei den Populationen der Gruppe 4 am höchsten. Diese Werte sind etwa nur halb so hoch wie die ermittelten Abstände zwischen den einzelnen Vorkommen. Die Größenordnung der genotypischen Gesamtabstände ist erwartungsgemäß höher als der genische und erreicht den Wert von lediglich 14 % ebenfalls in Gruppe 4. Diese Gruppe zeigt für die meisten Genloci die größten Abstände zwischen den unterschiedlich geschädigten Teilpopulationen.

Tab. 13: Genischer Abstand (D1) und genotypischer Abstand (D2) zwischen den unterschiedlich geschädigten Subpopulationen sowie Ergebnisse der Tests auf Heterogenität der genischen und genotypischen Strukturen; Signifikanzniveau 0,05 (*); 0,01 (**)

Locus	Genetischer Abstand zwischen toleranten und sensitiven Subpopulationen						
		Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	Gruppe 6
IDH-A	D1	2,5	12,1*	2,5	13,1	6,9	9,1
	D2	10,3	20,9	17,5	15,8	12,2	20,0
IDH-B	D1	5,1	4,9	2,5	13,2	4,6	2,7
	D2	7,8	9,7	2,5	2,11	7,7	5,4
6-PGDH-A	D1	9,0	1,6	5,0	15,8	3,1	10,0
	D2	10,3	9,7	15,0	26,3	12,3	12,7
Dia-A	D1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	D2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
GOT-A	D1	0,0	0,8	0,0	2,6	0,8	0,9
	D2	0,0	1,6	0,0	5,3	1,5	1,8
GOT-B	D1	1,3	1,6	3,8	5,3	1,5	2,7
	D2	2,5	3,2	7,5	5,3	3,1	6,4
GOT-C	D1	9,0	5,7	3,7	13,1	8,5	5,5
	D2	10,3	11,3	10,0	26,4	10,8	12,7
LAP-A	D1	7,7	5,0	2,5	2,6	4,7*	6,4
	D2	15,4	9,7	2,5	15,7	9,2*	16,4
AAP-A	D1	14,1*	4,1	5,0	5,2	13,8**	0,0
	D2	15,4	4,9	10,0	10,6	16,8*	3,6
Gesamt- Abstand	D1	5,4	4,0	2,8	7,9	4,9	4,1
	D2	8,0	7,9	7,2	14,0	8,2	8,8

jährlichen Sterberaten hoch signifikant mit den Nadelverlusten korrelieren. Auf Dauerbeobachtungsflächen in Österreich ermittelte STEMBERG (1991) eine durchschnittliche Mortalitätsrate für die Tanne von 0,45 %, wobei Tannen mit Nadelverlust über 60 % (Schadstufe 3) eine Mortalitätsrate von 4,03 % aufwiesen. Sie betrug 0,34 % bei den Tannen mit Nadelverlusten zwischen 30 % bis 60 % und 0,05 % bei Nadelverlusten zwischen 15 % und 25 %. Die Ergebnisse von SCHMID-HAAS (1993) bestätigen im wesentlichen die österreichischen Sterberaten der Tanne.

Die Tatsache, daß allein 64 % der bonitierten Tannen als stark geschädigt gelten (Nadelverlust über 60 %), läßt ein weiteres Absterben der Weißtanne als unumgänglich erscheinen, was sich durch das Niederschlagsdefizit der letzten Jahre noch verschlimmern kann. Überträgt man die von STEMBERG (1991) ermittelte Mortalitätsrate für stark geschädigte Tannen von 4,03 % auf die noch vorhandenen 2000 Alttannen Sachsens, so würde sich für die nächsten Jahre eine Abnahme von jährlich rund 50 Alttannen im ganzen Untersuchungsgebiet allein bei den Tannen der Schadstufe 3 (Nadelverlust > 60 %) ergeben. Ein plausibler Grund für die Annahme, daß die Mortalitätsrate stärker geschädigter Tannen in Sachsen niedriger als die der österreichischen Dauerbeobachtungsflächen sein sollte, läßt sich nicht finden.

Es sei darauf hingewiesen, daß sowohl in der Literatur als auch durch Beobachtungen von Praktikern von einer gewissen Erholung der Weißtanne berichtet wird. So stellt die Bayerische Staatsforstverwaltung im Waldzustandsbericht 1993 fest, daß selbst stark durch Nadelverluste beeinträchtigte Tannen in der Lage sind, allmählich wieder eine gesunde Krone auszubilden. Während in Bayern seit 1985 ein kontinuierlicher Rückgang der deutlichen Schäden festgestellt wird (Bayerische Staatsforstverwaltung, 1993), war in Baden-Württemberg eine weitere Verschlechterung der Weißtanne zu verzeichnen. Hier erhöhte sich der Anteil der Schadstufe 2 auf Kosten der Schadstufe 0 (Waldschadensinventur Baden-Württemberg, 1993). Die Frage, inwiefern eine Erholung oder eine Verschlechterung des Vitalitätszustandes der Weißtanne unter den Immissionsbedingungen Sachsens eintritt, sollen regelmäßige Schadansprachen an den Restvorkommen klären.

Der äußerst geringe Anteil der Alttannen in den Wäldern Sachsens, sowie ihr kritischer Vitalitätszustand sind ein erster Hinweis dafür, daß die Populationsgröße bereits so stark zurückgegangen ist, daß die Anzahl der potentiellen Mutterbäume (Samenträger) bzw. effektiv am Reproduktionsprozeß beteiligten Tannen die Versorgung mit Saatgut nicht garantieren können, zumal bei langjährigen Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Blütenansatz und Schädigungsgrad festgestellt wurde, daß sich mit wachsender Schädigung die Häufigkeit der männlichen sowie der weiblichen reproduktiven Organe stark vermindert (CUFAR et al., 1993).

2.7.2 Genetische Unterschiede innerhalb und zwischen den Tannenvorkommen

Die Ergebnisse der genetischen Untersuchung ergaben eine deutliche geographische Differenzierung der Weißtanne in Sachsen. Bestände aus dem Elbsandsteingebirge zeichnen sich durch die signifikant höhere Häufigkeit des Allels AAP-A1 aus. Eine klinale Veränderung bei den Populationen des Erzgebirges ist nicht zu erkennen.

Die von KONNERT (1992) und KONNERT (1993) veröffentlichten Ergebnisse der genetischen Untersuchungen an der Tanne Südwestdeutschlands und Bayerns bieten eine sehr günstige Möglichkeit, die genetische Variation der Weißtanne in Sachsen zu vergleichen. Daher wird in der Diskussion wiederholt auf diese beiden Quellen Bezug genommen.

Die ermittelten Häufigkeiten des Allels LAP-A2 stehen in Übereinstimmung mit der von KONNERT (1993) festgestellten klinalen Abnahme dieses Allels in Bayern in Nord-Süd-Richtung. In Vorkommen des Frankenwaldes bzw. Fichtelgebirges fand sie Häufigkeiten von 3,1 % bis 6 %, während in Südost-Bayern Häufigkeiten zwischen 9 % und 18 % vorkamen. In den Populationen des Osterzgebirges und Elbsandsteingebirges liegen seine Häufigkeiten zwischen 6 % und 13 %. Hier zeichnet sich eine leichte klinale Abnahme dieses Allels in Ost-West-Richtung ab. KONNERT (1993) hingegen fand für Bayern eine klinale Veränderung, in West-Ost-Richtung.

Eine bemerkenswerte Ausnahme bildet das Vorkommen *Olbernhau 13*. Hier beträgt die Häufigkeit des Allels LAP-A2 25,8 %, und ist damit fast doppelt so hoch wie die nächst kleineren Häufigkeiten (*Lauter 7* 14,6 % bzw. *Schandau 22* 13 %).

Im Vorkommen *Olbernhau 13* wurde als einzige Tannenpopulation im Untersuchungsgebiet Variation am Genort Dia-A festgestellt. Unter Berücksichtigung, daß nach bisherigen Untersuchungen (BERGMANN und KOWNATZKI, 1988; KONNERT, 1992) dieser Genort nur im westlichen Mitteleuropa Variation zeigt, bleibt als einzige Erklärung, daß dieser Bestand zumindest zu einem nicht unbeträchtlichen Umfang aus Vermehrungsgut aus Südwestdeutschland stammt und damit als nicht autochthon einzustufen ist. KONNERT (1993) stellte bei einigen Beständen des Frankenwaldes Variation an dem erwähnten Genlocus fest, und führt dies ebenfalls auf eine mögliche künstliche Einbringung der Tannen z.B. zur Ergänzung der Naturverjüngung zurück. WOLF (1990) fand bei einigen Beständen des Frankenwaldes Terpenmuster, die eher westeuropäischen Herkünften zuzuordnen waren.

Von allen untersuchten Beständen war nur das Vorkommen *Olbernhau 13* an allen Genorten polymorph. Dabei ist zu berücksichtigen, daß der Locus Dia-A nur bei diesem Bestand Variation aufwies. Aber selbst ohne Berücksichtigung dieses Genortes war keine weitere Population an allen übrigen Genloci polymorph. Diese Tatsache macht sich besonders bemerkbar bei der maximalen **genotypischen Vielfalt** (G_p). Hier unterscheidet sich die Population *Olbernhau 13* sehr stark von dem Rest. Mit den in dieser Population vorkommenden Allelen können für die untersuchten Genorte 78732 verschiedene genetische Typen gebildet werden, während in 3 Popula-

sich keine eindeutige Beziehung dieser Maße zum Vitalitätszustand der Population, welche einen mittleren Schädigungsgrad aufweist, feststellen.

Trotz alledem bestehen gewaltige Unterschiede zwischen der Heterozygotie der sächsischen Tanne im Vergleich zu anderen Teilen ihres natürlichen Verbreitungsgebietes. Berücksichtigt man lediglich die 3 Genorte mit ausgeprägtem Majorpolymorphismus (IDH-A, IDH-B und 6-PGDH-A), so zeichnet sich ein deutlicher Trend ab. Die Populationen des sächsischen Mittelgebirges zeigen extrem hohe F-Werte (Abbildung 8). Die Unterschiede zwischen Ost- und West-erzgebirge sind dabei minimal. Die Populationen des Elbsandsteingebirges haben im Vergleich zum Erzgebirge niedrigere F-Werte. Diese Populationen befinden sich in Forstrevieren, die seit mindestens einer Generation bedeutend größere Tannenpopulationen als die erzgebirgischen aufwiesen. Dies steht in Übereinstimmung mit der Feststellung von BERGMANN (1992), wonach die Bestandesdichte und der Mischungsanteil eine entscheidende Rolle bei der Heterozygotie spielen. Wenn auch unter Vorbehalt könnten die hohen F-Werte der untersuchten Tannenpopulationen zumindest zum Teil auf Inzucht zurückgeführt werden. In welcher Größenordnung das sein könnte, ist allerdings schwer zu ermitteln, da nicht alle Genloci positive F-Werte zeigen.

Berücksichtigt man, daß das Ausmaß der Heterozygotie eine Determinante für die Überlebensfähigkeit einer Population und damit auch für die Stabilität des entsprechenden Waldökosystems darstellt, so ist die relativ niedrige Heterozygotie der Weißtanne im Untersuchungsgebiet ein weiterer indirekter Hinweis auf ihre verminderte Anpassungsfähigkeit an sich verändernde Umweltbedingungen. Durch die relativ niedrige Heterozygotie und die bereits erwähnte starke Reduzierung der Populationsgröße erhöht sich außerdem die Gefahr des Allelverlustes durch Drift.

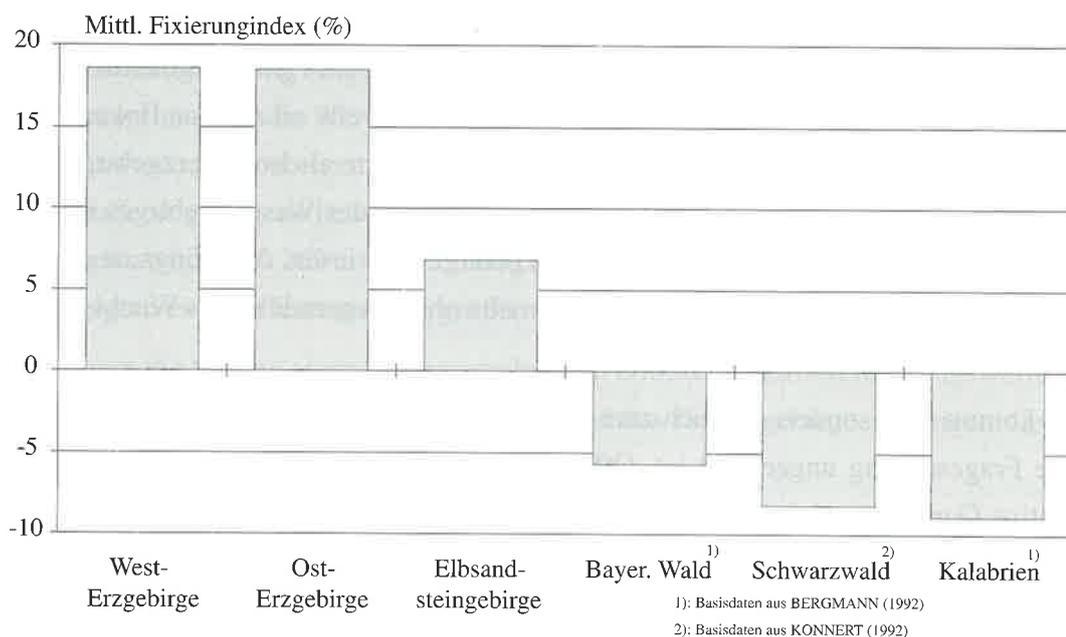


Abb. 8: Vergleich des mittleren Fixierungsindex in Tannenpopulationen aus Sachsen, dem Bayerischen Wald, dem Schwarzwald und Calabrien/Italien für 3 Genorte (IDH-A, IDH-B und 6-PGDH-A)

2.7.3 Genetische Unterschiede zwischen den toleranten und sensitiven Tannensubpopulationen

Für eine objektive Interpretation der erzielten Ergebnisse bezüglich des Zusammenhanges zwischen der genetischen Konstitution der unterschiedlich geschädigten Tannensubpopulationen Sachsens ist zu berücksichtigen, daß Freilandbestände den Einflüssen verschiedenster Umweltfaktoren sowie einer unterschiedlichen Bewirtschaftung ausgesetzt sind. Diese Faktoren erschweren das Aufdecken von eventuellen Beziehungen der genetischen Struktur zum Phänotyp - hier Schädigungsgrad bzw. Nadelverlust - (KONNERT, 1992). Zu diesen allgemeinen Aussagen kommen bei der Tanne in Sachsen noch zwei Besonderheiten hinzu, die bei der Auswertung der Ergebnisse unbedingt berücksichtigt werden müssen:

- a) Die Tanne in Sachsen befindet sich an ihrer nördlichen Verbreitungsgrenze und ist damit einer besonders starken natürlichen Selektion aufgrund der nicht mehr optimalen Lage ausgesetzt.
- b) Im Untersuchungsgebiet sind seit über einem Jahrhundert starke Immissionsschäden zu verzeichnen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Schädigung und genetischer Struktur lassen unter Berücksichtigung der oben erwähnten Faktoren kaum einen Zweifel daran, daß die Tanne in Sachsen bereits so eingengt ist, daß die Individuen, die noch vorhanden sind, eine weitgehend homogene genetische Struktur aufweisen. Das gilt unabhängig davon, ob es sich um Tannen handelt, die stark geschädigt sind oder um solche, die innerhalb der einzelnen Vorkommen verhältnismäßig geringe Schäden zeigen. Statistisch gesicherte Unterschiede lassen sich selbst beim Genort 6-PGDH-A mit ausgeprägtem Majorpolymorphismus und relativ großem Stichprobenumfang nicht nachweisen.

Die Dimension der Homogenität unterschiedlich geschädigter Tannensubpopulationen Sachsens wird erst beim Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen von KONNERT (1992) für die gleiche Fragestellung in Südwestdeutschland deutlich. Bei ähnlicher Auswertungsmethodik fand KONNERT (1992) in Südwestdeutschland statistisch gesicherte Unterschiede in allen Gruppen an mindestens einem Genort, in den meisten Fällen jedoch an 3 und mehr Loci.

Die Genorte IDH-A und AAP-A zeigen in mehr als einem Drittel der Fälle hoch signifikante Unterschiede. Interessant ist der Fakt, daß diese Genorte im sächsischen Untersuchungsgebiet ebenfalls die einzigen sind, die in zumindest einer Gruppe genetische und genotypische signifikante Unterschiede aufweisen.

KONNERT (1992) ermittelt für Südwestdeutschland sowohl bezüglich der allelischen als auch der genotypischen Verteilung für nahezu alle Gruppen hochsignifikante Unterschiede am Genlocus GOT-C. Signifikante Unterschiede an diesem Genort bei ähnlichen Fragestellungen fanden ebenfalls BERGMANN und SCHOLZ (1989) bei Fichte sowie GEBUREK et al. (1987) bei Kiefer. In den sächsischen Restvorkommen läßt sich jedoch für diesen Genlocus kein signifikanter

häufigkeiten für Dia-A1 von über 10 % vorwiegend in Tannenpopulationen am Westabfall des Schwarzwaldes. Dieses Allel fehlt in Tannenpopulationen Süd- und Mittelitaliens. KONNERT (1992) schließt daher auf einen Genfluß-Effekt aus einem anderem Refugium und vermutet dieses in den Pyrenäen. LONGAUER (1993) findet ebenfalls mehrere Allele in Tannenpopulationen Südosteuropas, welche sowohl in Mitteleuropa als auch in Süd- und Südwesteuropa fehlen. Er geht ebenfalls von den drei Refugien von BERTSCH (1935) aus, und vermutet aufgrund seiner Isoenzymuntersuchungen eine Kontaktzone zwischen dem südeuropäischen Einwanderungsweg und dem südosteuropäischen Migrationsweg im Bereich der Slowakei und Südpolens.

Die Hypothese der Existenz von mindestens 3 Refugien wird also sowohl mit Hilfe von Pollenanalysen (BERTSCH, 1935; FIRBAS, 1952) als auch mit Hilfe biochemischer Methoden (WOLF, 1992; KONNERT, 1992; LONGAUER, 1993; u.a.) unterstützt. Diese mit zwei völlig verschiedenen Verfahren ermittelten Ergebnisse dürften deutlich machen, daß die Tanne in mindestens drei Refugien die Eiszeit überdauert hat.

Führt man eine Clusteranalyse mit den Werten aus den eigenen Untersuchungen mit denen von KONNERT (1992) für den Schwarzwald und KONNERT (1993) für Bayern durch, so ergibt sich das in Abbildung 9 dargestellte Dendrogramm. Die Clusteranalyse erfolgte lediglich für Genorte, die in allen drei Teilarealen untersucht wurden. Eine deutliche Trennung in 2 große Gruppen zeichnet sich ab.

In der ersten Gruppe sind vorwiegend die Vorkommen aus dem Schwarzwald zusammengefaßt. Die bereits mehrmals erwähnten Vorkommen *Klingenthal 3*, *Lauter 11* und *Olbernhau 13* erscheinen interessanterweise ebenfalls in der Gruppe Schwarzwald. Diese Tatsache bestätigt die Annahme, wonach diese verhältnismäßig jungen Vorkommen zumindest zum Teil aus südwestdeutschem Vermehrungsgut stammen. Bestandeshistorische Studien wären sehr hilfreich zur eindeutigen Klärung dieser Frage.

Zu der „Schwarzwaldgruppe“ werden ebenfalls die Vorkommen Südbayerns, sowohl bayerische Alpen als auch Vorkommen aus dem Herkunftsgebiet 82706 „Südbayerische Moräne und Molasse“, eingliedert. Dies widerspricht der Forderung von KONNERT (1993) nach Zusammenlegung des südlichen Teils des Herkunftsgebiets 82708 mit einem Teil der Herkunftsgebiete 82706 und 82709 aufgrund der sehr ähnlichen genetischen Strukturen. Dieser Fakt läßt vermuten, daß sowohl die Tanne der bayerischen Alpen als auch des Schwarzwaldes stark von einem gemeinsamen Refugium - offensichtlich aus Süditalien - beeinflußt sind. Dieser Genfluß-Effekt ist allerdings bei den Tannenbeständen des Bayerischen (und sicherlich auch des Böhmisches) Waldes nicht mehr in gleichem Maße erkennbar.

Die Tannenpopulationen des Bayerischen Waldes werden aufgrund ihres genetischen Abstands sowohl zu den Vorkommen des Schwarzwaldes als auch zu den Populationen Südbayerns einer

zweiten Gruppe zugeordnet. Zu dieser letzten Gruppe werden ebenfalls die Tannenvorkommen Sachsens geclustert. Diese Tannenpopulationen haben offensichtlich den „Ostalpenweg“ als gemeinsamen eiszeitlichen Migrationsweg nach Mitteleuropa. Dabei zeichnen sich interessante Trends ab. So zeigen die von KONNERT (1993) untersuchten Bestände des Bayerischen Waldes einen geringeren genetischen Abstand zu den Vorkommen des Elbsandsteingebirges sowie zu einigen Beständen des Osterzgebirges (Vorkommen des Forstamtes Bärenfels). Daraus ist zu schließen, daß sowohl die Vorkommen aus dem Bayerischen Wald als auch aus dem Elbsandsteingebirge einen gemeinsamen Ursprung haben, aber offensichtlich auf verschiedenen Wegen eingewandert sind.

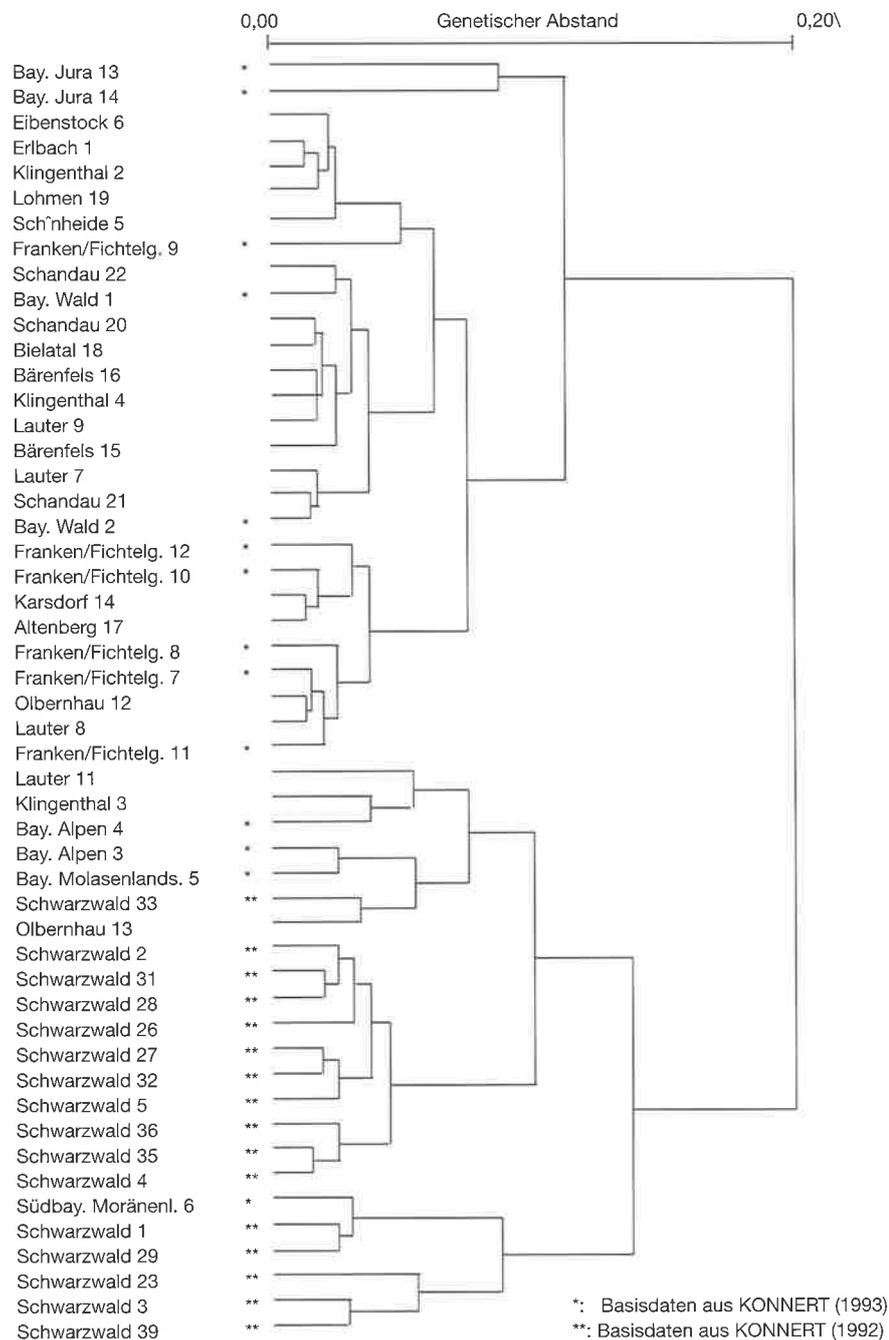


Abb. 9: Dendrogramm von den 21 Tannenpopulationen aus Sachsen sowie 14 aus Bayern und 16 aus dem Schwarzwald

LONGAUER (1993) vermutet im Bereich der Slowakei und Südpolens eine Kontaktzone des Rückwanderungsweges aus Mittelitalien mit einem Tannenvorstoß aus einem Südosteuropäischen Refugium. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen die Vermutung nahe, daß die Tanne in die sächsischen Mittelgebirge offensichtlich auf 2 verschiedenen Wegen möglicherweise aus der oben erwähnten Kontaktzone einwanderte. Zum einen gelangte sie über den Böhmisches-Bayerischen Wald ins Westerzgebirge mit einem höheren Einfluß aus dem südeuropäischen Refugium und zum anderen über die Sudetenzüge in das Elbsandsteingebirge mit einem höheren Genfluß aus dem südosteuropäischen Refugium (Abbildung 10).

Möglicherweise trafen sich diese beiden Wege im Bereich des Westerzgebirges. Diese Annahme würde die leicht höhere Diversität der Tanne im Erzgebirge im Vergleich zum Fichtelgebirge und Frankenwald erklären. Ferner wäre ebenfalls denkbar, daß im Westerzgebirge eine gewisse genetische Auffrischung erfolgte, so daß es zu einer Art Heterosiseffekt bzw. Introgression kam. Das wäre auch eine Erklärung für die höhere Vitalität der Tanne im Westerzgebirge trotz höherer Immissionsschäden als im Elbsandsteingebirge seit über einem Jahrhundert.

Diese Hypothese wird ebenfalls dadurch getragen, daß die klinale Variation des Allels IDH-B2, genauso wie die Abnahme der Diversität für die Tanne in Bayern in Süd-Nord-Richtung sich im Erzgebirge nicht fortsetzen. Wäre dieser Einwanderungsweg als einziger zu betrachten, so müßte sich diese Tendenz ausgeprägter fortsetzen, da sich die Tanne in Sachsen am äußersten Rand ihres Verbreitungsgebietes befindet. Weiterhin weisen die Vorkommen des Elbsandsteingebirges bei allen Parametern eine zwar nicht signifikant jedoch tendenziell erkennbare höhere genetische Variation auf, die dann in westlicher Richtung abnimmt.

KONNERT (pers. Mitt.) findet bei Untersuchungen an Tannenpopulationen Osteuropas Allele an den Genorten GOT-B, 6-PGDH-B und MDH-C, deren Verbreitung für südosteuropäische Tannenpopulationen charakteristisch sein sollen, und demzufolge geeignet wären, eine deutliche Trennung zwischen den verschiedenen Wanderungswegen der Weißtanne aus ihren eiszeitlichen Refugien nachzuvollziehen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwar an dem Genort GOT-B ebenfalls ein solches Allel beobachtet jedoch nicht ausgewertet, da weder Saatgut zur Prüfung der genetischen Kontrolle zur Verfügung stand, noch waren in der Literatur zum Zeitpunkt der Untersuchungen Angaben zu diesen Allelen vorhanden. Der Genlocus 6-PGDH-B wurde zwar nicht ausgewertet, eine Variation, wie KONNERT (pers. Mitt.) sie für charakteristisch hält, wurde jedoch bei einigen Vorkommen des Elbsandsteingebirges beobachtet.

Die Untersuchung weiterer Enzymsysteme (z.B. Peroxidase, MDH, SKDH, GDH, PGM u. a.) sowie der Vergleich der genetischen Strukturen von Tannenpopulationen aus dem südöstlichen Verbreitungsgebiet können in diesem Zusammenhang sehr wertvolle Hinweise zur Klärung der aufgestellten Hypothese liefern.

Als Ursache für die Unterschiede in den genetischen Strukturen der Tannenvorkommen des Elbsandsteingebirges zu denen des Erzgebirges kommen in weitaus geringerem Maße standörtliche Gegebenheiten in Frage. Die Tannen im Erzgebirge stocken auf vulkanischem Gestein (vorwiegend Granit und Gneis), während sie sich im Elbsandsteingebirge größtenteils auf sedimentärem Sandstein befinden. Da zwei der untersuchten Vorkommen des Hinterhermsdorfer Reviers auf Granit stocken, wird eine Differenzierung allein auf der Grundlage des Standortes für eher unwahrscheinlich gehalten. Ein weiterer standörtlicher Unterschied besteht in der Höhenlage. So liegen die untersuchten Vorkommen des Elbsandsteingebirges in den unteren Lagen, während sich die Populationen des Erzgebirges in den mittleren und höheren Lagen befinden.

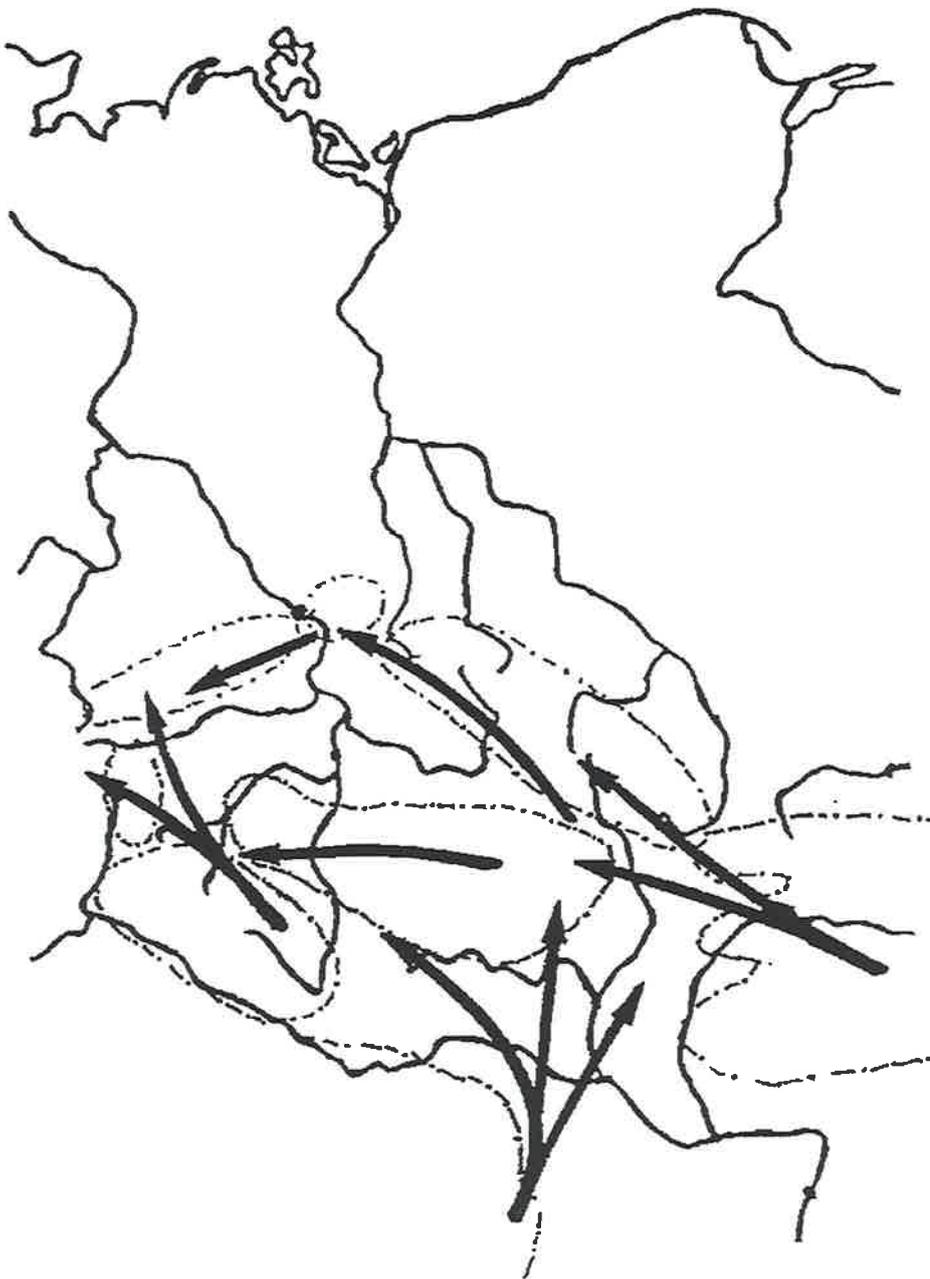


Abb. 10: Die postglaziale Rückwanderung der Weißtanne in das sächsische Mittelgebirge

Ausgehend von den unterschiedlichen genetischen Strukturen der Tannenvorkommen des Elbsandstein- und des Erzgebirges ist die Ausscheidung eines extra Herkunftsgebietes für das Elbsandsteingebirge berechtigt. Da die Unterschiede der genetischen Strukturen zum Erzgebirge ziemlich gering sind, ist eine Austauschbarkeit von Vermehrungsgut möglich. Angesichts der geringen Variabilität zwischen den Vorkommen aus dem Erzgebirge und dem Elbsandsteingebirge erscheint die Ausbildung zwei völlig verschiedenen Standortsrassen sehr unwahrscheinlich.

Die von BERGMANN et al. (1990) und KONNERT (1992) erwähnte starke Differenzierung der Tanne in den einzelnen Wuchsgebieten trifft für die Tanne im Untersuchungsgebiet nicht zu. Die Tatsache, daß die ermittelten Werte der genetischen Diversität trotz des starken Rückganges noch vergleichbar mit denen aus dem Frankenwald bzw. aus dem Fichtelgebirge sind, ist zu relativieren. Das ist offensichtlich als eine Art Überlebenstrategie der Weißtanne zu verstehen. Die genetische Diversität berücksichtigt lediglich die Allelhäufigkeiten. Kommt ein Allel mit einer Häufigkeit von z.B. 10 % vor, so sind bei einer Vorkommensgröße von durchschnittlich 20 Bäumen für die größeren Vorkommen im Erzgebirge lediglich 2 Bäume (!) Träger dieses Allels, und damit dessen potentielle Vererber an die Nachkommen. Stirbt ein Baum als alleiniger Träger dieses Allels, so geht dieses unwiederbringlich verloren und mit ihm alle Kombinationen, die unter Umständen für eine Anpassung erforderlich wären.

Durch den sehr stark zurückgegangenen Populationsumfang besteht praktisch mit dem Verlust jedes einzelnen Baumes die Gefahr von Allelverlusten und der damit verbundenen Eineingung des genetischen Potentials.

Das Fehlen des Allels LAP-A2 bei den meisten Populationen des Westerzgebirges kann durchaus als Folge des äußerst niedrigen Populationsumfangs erklärt werden. Nach KRUSCHE und GEBUREK (1990, 1991) läßt sich die Verlustwahrscheinlichkeit für (seltene) Allele, $PAL(N_{approx})$, folgendermaßen schätzen:

$$PAL(N_{approx}) = 1 - (1 - (1 - q)^N)^M$$

wobei $PAL(N_{approx})$ die geschätzte Wahrscheinlichkeit des Verlustes eines (seltenen) Allels mit Häufigkeit q bei einer Stichprobengröße (bzw. Populationsgröße) gleich N und M die Summe der Anzahl seltener Allele (an allen Genloci) darstellen.

Nimmt man eine Häufigkeit für das Allel LAP-A2 im Westerzgebirge von durchschnittlich 3 % an, wie sie auch KONNERT (1993) für das Fichtelgebirge bzw. den Frankenwald ermittelte, so beträgt die Wahrscheinlichkeit, daß dieses Allel bei der gegenwärtigen Populationsgröße (von durchschnittlich 20 Alttannen) bereits verloren gegangen ist, 54 %. Dasselbe gilt für die restlichen Genorte mit ausgeprägtem Minorpolymorphismus. So beträgt die Wahrscheinlichkeit, daß Allele, die mit 1 % Häufigkeit möglicherweise vorkamen (z.B. GOT-B2), jetzt bereits durch die drastische Reduktion der Populationsgröße nicht mehr vorhanden sind, 81 %. Bei Betrachtung der beiden oben erwähnten Allele ($M = 2$) beträgt die Wahrscheinlichkeit, daß eines der beiden bereits verlorengegangen ist, 96 %.

2.8 Schlußfolgerungen und Empfehlungen

Die Situation der Weißtanne in Sachsen ist als sehr kritisch zu bewerten. Die ermittelte genetische Variation liefert einen indirekten Hinweis auf die geringe Anpassungsfähigkeit der Weißtanne in Sachsen.

Die Erhaltung der sächsischen Weißtanne als Population ist nur durch ein Zusammenführen der jetzigen isolierten Vorkommen möglich, um die gegenwärtigen Hindernisse des Genaustausches und Genflusses zu überwinden.

Angesichts der genetischen Einengung, Anzahl, Größe und des Vitalitätszustands der Restvorkommen ist die Gewinnung von Saatgut aus den einheimischen Vorkommen nur mit Einschränkungen zu empfehlen. Die Reproduktionsvorgänge der autochthonen Tannenvorkommen sind möglicherweise bereits irreversibel gestört. Der Hohlkornanteil im Saatgut der Restvorkommen ist extrem hoch. Für Nachkommen aus den noch vorhandenen Tannenpopulationen lassen sich Inzuchterscheinungen nicht ausschließen. Dafür spricht der hohe Anteil von Albi-no-Keimlingen bei der Tannenaussaat 1993 in der LAF Graupa. Die Ausbreitung von genetisch verarmten Material ist weder aus genetischer noch aus ökologisch-waldbaulicher und ökonomischer Sicht vertretbar.

Für die Realisierung der Waldumbauvorhaben Sachsens ist eine langfristige, geplante, gerichtete und kontrollierte Wiedereinbürgerung der Weißtanne mit nicht autochthonem Vermehrungsgut erforderlich.

Empfehlungen für die Forstpraxis

- Die Ausscheidung von lediglich 2 Herkunftsgebieten für die Weißtanne in Sachsen wird vorgeschlagen:
 - a) Herkunftsgebiet Elbsandsteingebirge
 - b) Herkunftsgebiet Erzgebirge.

Eine Gliederung des Erzgebirges nach Höhenlagen bzw. nach Wuchsbezirken ist aus genetischer Sicht unbegründet.

- Aufgrund der spezifischen postglazialen Rückwanderung der Weißtanne ist
 - a) für das (West-)Erzgebirge vorrangig Material aus dem Böhmischem-Bayerischen Wald und
 - b) für das Elbsandsteingebirge vorwiegend Vermehrungsgut aus den Sudeten und Beskiden zu empfehlen.
- Für das gesamte sächsische Mittelgebirge ist die Verwendung von Material aus den Genzentren der Böhmischem-Mährischen Höhen, der Slowakei und Südpolen als möglichem Ursprung der einheimischen Weißtanne von Bedeutung.

turen mit toxischen Bodenlösungen) zu nutzen. An Ramets aus den Samenplantagen sollten Versuche zur Blühinduktion vorgenommen werden.

- Bei Einbeziehung der Ergebnisse von Nadelanalysen können u. U. Zusammenhänge zwischen der genetischen Variation und dem Ernährungszustand der Weißtanne im sächsischen Mittelgebirge festgestellt werden.
- Die Entwicklung der Naturverjüngung unter Zaunschutz sollte an Hand von Beobachtungspartellen verfolgt werden. Von besonderem Interesse wären Vergleiche von Naturverjüngungen in Abhängigkeit von der Vorkommensgröße.

2.9 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war eine umfassende Charakterisierung der aktuellen Situation der Weißtanne in Sachsen, die eine Antwort auf die Frage nach der Zukunft dieser Baumart im sächsischen Mittelgebirge erlaubt. Es wurden drei Schwerpunkte behandelt:

- a) die Erfassung und Kartierung der Tannenrestvorkommen sowie ihres Vitalitätszustandes
- b) die genetische Charakterisierung der erfaßten Restpopulationen der Weißtanne im Erzgebirge und Elbsandsteingebirge und
- c) Untersuchung von Zusammenhängen zwischen Schädigungsgrad und genetischer Struktur.

Die Erhebung des Vitalitätszustandes wurde in Anlehnung an die Waldzustanderfassung (WZE) durchgeführt. Mit Hilfe von Isoenzymanalysen wurde die genetische Struktur von den 21 größten Tannenrestpopulationen an 9 Genorten untersucht. Für die Ermittlung des Zusammenhanges zwischen dem Schädigungsgrad und den genetischen Strukturen der untersuchten Populationen wurden aus jedem Vorkommen jeweils 30 % der Tannen mit den höchsten bzw. mit dem niedrigsten Nadelverlust zu den Kollektiven „sensitiv“ bzw. „tolerant“ zusammengefaßt.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Zu a)

1. In 44 Sächsischen Forstämtern existieren Altannenvorkommen. Es handelt sich oftmals um Einzelbäume in Fichtenbeständen, horstweises bzw. bestandesbildendes Auftreten ist eher selten.
2. Der Bestand an Altannen beläuft sich in Sachsen auf ca. 2000 Exemplare, was etwa 0,0006 % der Holzbodenfläche Sachsens entspricht. Im Vergleich zu den 1955 vorhandenen Vorkommen bedeutet dies eine Reduktion um 96 %.
3. Das Forstamt Bad Schandau ist mit über 400 Altannen das tannenreichste Forstamt. Das Vorkommen des Flächennaturdenkmals im Forstamt Bärenfels ist mit insgesamt 118 Altannen das zahlenmäßig größte Altannenvorkommen Sachsens.

4. Der Vitalitätszustand der Weißtanne im Untersuchungsgebiet ist alarmierend. 94 % der Alt-tannen weisen deutliche Schäden auf. 64 % wurden als stark geschädigt (Nadelverlust über 60 %) eingestuft.
5. Der Anteil deutlich geschädigter Tannen ist in den oberen Lagen des Westerzgebirges am geringsten (72 %), und im Elbsandsteingebirge sowie im Hügelland am höchsten (> 90 %).
6. Ein weiteres Absterben der Weißtanne in Sachsen ist angesichts des hohen Anteils stark geschädigter Tannen zu erwarten.

zu b)

7. Die Restpopulationen der Weißtanne in Sachsen zeichnen sich durch eine niedrige genetische Vielfalt, Diversität und Differenzierung innerhalb der Populationen aus.
8. Der Heterozyotiegrad ist als äußerst niedrig zu bezeichnen, und erreicht nur etwa die Hälfte der für andere Tannenareale bekannten Werte.
9. Aufgrund der relativ niedrigen genetischen Variation sowie der starken Reduzierung der Populationsgröße besteht eine hohe Gefahr von Genverlusten durch Drift. Dadurch läßt sich das Fehlen des Allels LAP-A2 bei den meisten Populationen des Westerzgebirges erklären.
10. Die Parameter der genetischen Variation sind mit denen des Frankenwaldes und Fichtelgebirges vergleichbar.
11. Es besteht eine deutliche geographische Differenzierung der Weißtanne im Untersuchungsgebiet. Die Vorkommen des Elbsandsteingebirges unterscheiden sich in ihren genetischen Strukturen von den Populationen des Erzgebirges signifikant. Eine weitere kleinräumige Differenzierung der Restvorkommen ist nicht zu verzeichnen.
12. Folgende Vorkommen unterscheiden sich von den übrigen Vorkommen in nahezu allen Variationsparametern:
 - Forstamt Klingenthal, Rev. Klingenthal, Abt. 464 (*Klingenthal 3*)
 - Forstamt Lauter, Rev. Bockau Abt. 307 (*Lauter 11*) und
 - Forstamt Olbernhau, Rev. Olbernhau, Abt. 60/61 (*Olbernhau 13*).

Im Vorkommen *Olbernhau 13* wurde das Allel Dia-A1 festgestellt, welches für westeuropäische Tannenpopulationen charakteristisch ist. Offensichtlich sind diese drei Tannenvorkommen mit Vermehrungsgut aus Südwestdeutschland begründet bzw. ergänzt worden.

13. Die Ergebnisse der Clusteranalyse (bei Verwendung der erhobenen sowie bereits veröffentlichten Daten für Südwestdeutschland und Bayern) zeigen, daß die Populationen des Elbsandstein- und des Osterzgebirges aufgrund ihrer genetischen Abstände eine Gruppe mit den Populationen des Bayerischen Waldes bilden. Die Vorkommen des Westerzgebirges bilden mit denen des Frankenwaldes und des Fichtelgebirges eine weitere Gruppe. Der genetische Abstand dieser beiden Gruppen zueinander ist relativ gering. Die Ursachen hierfür liegen in der postglazialen

Rückwanderung der Weißtanne in das Untersuchungsgebiet.

Die Vermutung liegt nahe, daß die Tanne in die sächsischen Mittelgebirge auf 2 verschiedenen Wegen einwanderte. Zum einen gelangte sie über den Böhmischo-Bayerischen Wald in das Westerzgebirge (mit einem hohem Genfluß-Effekt aus dem südeuropäischen Refugium) und zum anderen über die Sudetenzüge in das Elbsandsteingebirge (mit einem hohen Genfluß-Effekt aus einem Refugium in Südosteuropa).

zu c)

14. Die genetischen Strukturen der unterschiedlich geschädigten Teilpopulationen der Weißtanne in Sachsen sind weitgehend homogen. Die Unterschiede bei allen Variationsparametern sind vernachlässigbar klein. Ein Vorteil bestimmter Genotypen wurde nicht festgestellt.
15. Es bestehen keine Unterschiede im Heterozygotiegrad der toleranten und sensitiven Kollektive. Tendenziell zeichnen sich jedoch die toleranten Kollektive durch höhere Heterozygotiewerte am Genort 6-PGDH-A aus.
16. Die genetischen Abstände sind tendenziell um so größer, je stärker die durchschnittliche Schädigung der Gruppe insgesamt ist. Die größten Unterschiede zwischen toleranten und sensitiven Kollektiven bestehen in der Gruppe der als nicht autochthon ausgeschiedenen Vorkommen.
16. Die Tannenrestvorkommen in Sachsen sind offensichtlich das Ergebnis einer starken, gerichteten Selektion durch Immissionen seit über einem Jahrhundert. Die noch vorhandenen Altannen sind in ihrer genetischen Struktur so weit eingengt, daß eine Differenzierung zwischen toleranten und sensitiven nicht mehr besteht. Sensitive Tannen im engeren Sinne sind somit nicht mehr vorhanden.

2.10 Literaturverzeichnis

- BAYERISCHE STAATSFORSTVERWALTUNG 1993: Waldzustandsbericht 1993. Bayer. Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft. 51 S.
- BEHM, A. und RECHENMACHER, A. 1985: Erhaltungssamenplantagen bei Tanne aus immissionsgeschädigten Herkünften. *Der Forst- und Holzwirt*, 40: 247-249
- BERGMANN, F. 1991: Causes And Consequences Of Species-Specific Genetic Variation Patterns In European Forest Tree Species: Examples With Norway Spruce And Silver Fir. In: MÜLLER-STARCK, G. und ZIEHE, M. (Eds.) 1991: *Genetic Variation In European Populations Of Forest Trees*, Sauerländer's Verlag, Frankfurt/M., 192-204
- BERGMANN, F. 1991: Isozyme Gene Markers. In: MÜLLER-STARCK, G. und ZIEHE, M. (Eds.) 1991: *Genetic Variation In European Populations Of Forest Trees*, Sauerländer's Verlag, Frankfurt/M., 67-78
- BERGMANN, F. 1992: Die genetische Struktur in Weißtannen-Populationen Mittel- und Südeuropas. 6. IUFRO Tannensymposium. Zagreb, 25-34
- BERGMANN, F., GREGORIUS, H.-R. und LARSEN, J. B.: Levels Of Genetic Variation In European Silver Fir (*Abies alba*). *Genetica*, 82: 1-10
- BERGMANN, F. und KOWNATZKI, D. 1988: The Genetic Variation Pattern Of Silver fir (*Abies alba*) In Europe Monitored From Enzyme Gene Loci. 5. IUFRO-Tannensymposium. Zvolen, 21-26
- BERGMANN, F., LARSEN, J. B. und GREGORIUS, H. R. 1990: Genetische Variation in verschiedenen Arealen der Weißtanne (*Abies alba* Mill.). In: H. H. HATTEMER (Ed.) 1990: *Erhaltung forstlicher Genressourcen*. Schriften aus der Forstl. Fakultät der Univ. Göttingen und der Niedersächsischen Forstl. Versuchsanstalt, Bd. 98, 130-140
- BERGMANN, F. and SCHOLZ, F. 1987: The impact of air pollution on the genetic Structure of Norway spruce. *Silv. Gen.* 36: 80-83
- BERGMANN, F. and SCHOLZ, F. 1989: Selection Effects Of Air Pollution In Norway Spruce (*Picea abies*) Populations. In: SCHOLZ, F., GREGORIUS, H.-R. und RUDIN, D. (Eds.): *Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York, 143-160
- BERTSCH, K. 1935: *Geschichte des Deutschen Waldes*. Gustav Fischer Verlag. Jena, 124 S
- BLANKMEISTER, J. 1962: Analyse der Entwicklung eines Buchen-Fichten-Tannen-Mischbestandes der Oberförsterei Bärenfels. *Archiv. f. Forstwesen*, 11: 797-807
- BRAUN, H. 1992: Forstgenetik heute. *Der Wald Berlin* 42: 208-210
- BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN 1993: *Waldzustandsbericht der Bundesregierung*. 94 S
- CUFAR, K., ROBIC, D. TORELLI, N. und KERMAVNAR, A. 1993: Blütenbildung unterschiedlich geschädigter Weißtannen in Slowenien. *Forst und Holz*, 49: 34-36
- DITTRICH, K. 1992: Der sächsische Wald. *Der Wald Berlin* 42: 221-223
- FERET, P. P. und BERGMANN, F. 1976: Gel Elektrophoresis Of Proteins and Enzymes. In: MIKSCHE, J. P. (Ed.): *Modern methods in forest genetics*. Springer Verlag Berlin-Heidelberg, 49-77
- FIRBAS, F. 1952: *Die Waldgeschichte Mitteleuropas*, I + II. Band; Fischer-Verlag, Jena.

- FORSTLICHE VERSUCHS- UND FORSCHUNGSANSTALT BADEN WÜRTTEMBERG 1993:
Waldschadensinventur 1993 in Baden-Württemberg. Abt. Waldschutz
- GEBUREK, T. 1992: Wie groß sollten Populationen sein, um bedrohte Tier- und Pflanzenarten zu erhalten?
Allg. Forst- und J.-Ztg., 163: 129-133
- GEBUREK, T., SCHOLZ, F., KNABE, W. and VORNWEG A. 1987: Studies by isoenzyme gene loci on
tolerance and sensitivity in an air polluted *Pinus sylvestris* field trial. *Silv. Gen.* 36: 49-53
- GEBUREK, T., STEPHAN, B. R. und SCHOLZ, F. 1989: Zur Erhaltung genetischer Variation in
Waldbaumpopulationen. *Forstwiss. Cbl.* 108: 204-211
- GREGORIUS, H. R. 1974: Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. Genetischer Abstand zwischen
Populationen. *Silv. Gen.* 23: 22-27
- GREGORIUS, H. R. 1985: Selection In Plant Populations Of Effectively Infinite Size VI. Overlapping
Generations. *Theor. Pop. Biol.* 31: 75-90
- GREGORIUS, H. R., HATTEMER, H. H., BERGMANN, F. und MÜLLER-STARCK, G. 1985:
Umweltbelastung und Anpassungsfähigkeit von Baumpopulationen. *Silv. Gen.* 34: 230-241
- GREGORIUS, H. R. und ROBERDS, J. H. 1986: Measurement Of Genetical Differentiation Among
Subpopulations. *Theor. Appl. Genetics* 71: 826-834
- GREGORIUS, H. R., ZIEHE, M. und ROSS, M. D. 1987: Selection Caused By Self-Fertilization I. Four
Measures Of Self-Fertilization And Their Effects On Fitness. *Theor. Pop. Biol.* 31: 91-115
- GREGUSS, L. 1988: Das Züchtungsprogramm zur Erhöhung der Widerstandsfähigkeit der Tanne durch
Hybridisation und seine Realisierung. 5. IUFRO-Tannensymposium. Zvolen, 168-177
- GROSSER, K.-H. 1955: Fichte und Tanne im Waldbild der Lausitz. Die Pflanzenwelt Brandenburgs. Garten-
Verlag Berlin-Kleinmachnow, 55-64
- HARTIG, M. 1986: Zur Bedeutung der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in den sächsisch- thüringischen
Mittelgebirgen. *Naturschutzarbeit in Sachsen* 28: 33-42
- HARTIG, M. 1991: Probleme der Baumartenwahl in sächsischen Immissionsgebieten. Beiträge zur
Gehölkunde, Verlag Gartenbild Hausmann, 41-46
- HATTEMER, H. H. (Hrsg) 1990: Erhaltung forstlicher Genressourcen. Schriften aus der Forstl. Fakultät der
Univ. Göttingen und der Niedersächsischen Forstl. Versuchsanstalt, Bd. 98. 180 S.
- HATTEMER, H. H., BERGMANN, F. und ZIEHE, M. 1993: Einführung in die Genetik für Studierende der
Forstwissenschaft. J.D. Sauerländers Verlag. Frankfurt a/M. 492 S.
- HATTEMER, H. H. und MÜLLER-STARCK, G. 1989: Das Waldsterben als Anpassungsprozeß. *Allg. Forst- u.
J-Ztg.* 160: 222-230
- HAUPT, R. 1988: Zum Vorkommen und Gesundheitszustand der Tanne in Thüringen. 5. IUFRO-
Tannensymposium. Zvolen, 331-342
- HEMPEL, W. 1979: Die Verbreitung der wildwachsenden Gehölze in Sachsen. *Gleditschia* 7: 43-72
- HEMPEL, W. 1983: Ursprüngliche und potentielle natürliche Vegetation in Sachsen - eine Analyse der
Entwicklung von Landschaft und Waldvegetation, Diss. Tharandt, 291 S.
- HOCEVAR, M. 1983: Vegetative Vermehrung der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) mit Stecklingen. *Forstwiss.
Cbl.* 102: 55-62

- JENSEN, H. 1950: Die heutige Lage der Samenplantagenfrage. Forstwiss. Cbl. 69: 433-441
- KIENITZ, E. 1936: Wandlungen des Holzartenbildes im Sächsischen Staatswald seit dem 16. Jahrhundert, mit Ausblicken auf die Pollenanalyse. Thar. Forstl. Jb. 87: 285-326, 413-523, 641-690, 747-853
- KIM, Z. S. 1980: Veränderung der genetischen Struktur von Buchenpopulationen durch Viabilitätsselektion im Keimlingsstadium. Diss. Göttingen. 88 S.
- KINDL, H. 1987: Biochemie der Pflanzen. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest. 379 S.
- KOHLERMANN, L. 1950: Untersuchung über die Windverbreitung der Früchte und Samen mitteleuropäischer Waldbäume. Forstwiss. Cbl. 69: 606-625
- KONNERT, M. 1992: Genetische Untersuchungen in geschädigten Weißtannenbeständen (*Abies alba* Mill.) Südwestdeutschlands. Mitt. d. Forstl. Ver. u. Forschungsanstalt Baden-Württemberg. Freiburg. Heft 167, 119 S.
- KONNERT, M. 1993: Untersuchungen über die genetische Variation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Bayern. Allg. Forst- u. J-Ztg., 164: 162-169
- KORPEL, S., PAULE, L. und LAFFERS, A. 1982: Genetics And Breeding Of The Silver Fir (*Abies alba* Mill.). Annales Forestales Anali za Sumarstvo, Zagreb 9: 151-184
- KÖSTLER, J. 1950: Waldbau. Paul Parey in Berlin und Hamburg, 418 S.
- KRAL, F. 1980a: Untersuchungen zur physiologischen Charakterisierung von Tannenprovenienzen. In: 3. Tannensymposium. Wien, 139-157
- KRAL, F. 1980b: Waldgeschichtliche Grundlagen für eine Ausscheidung von Ökotypen bei *Abies alba* Mill. In: 3. Tannensymposium. Wien, 158-168
- KRAMER, W. 1992: Die Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Ost- und Südosteuropa. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, Jena und New York, 405 S.
- KRUSCHE, D. und GEBUREK, T. 1990: Überlegungen zur Erhaltung forstlicher Genressourcen unter besonderer Berücksichtigung der Stichprobengröße. Mitt. der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Hamburg, Heft 164, 67-81
- KRUSCHE, D. und GEBUREK, T. 1991: Conservation Of Forest Gene Resources As Related To Sample Size. Forest Ecology And Management, Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, 145-150
- LANGNER, H. 1963: Einwanderung und Ausbreitung der Weißtanne in Süddeutschland. Forstwiss. Cbl. 83: 33-52
- LARSEN, J. B. 1986a: Das Tannensterben: Eine neue Hypothese zur Klärung des Hintergrundes dieser rätselhaften Komplexkrankheit der Weißtanne (*Abies alba* Mill.). Forstwiss. Cbl. 105: 382-395
- LARSEN, J. B. 1986b: Die geographische Variation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) - Wachstumsentwicklung und Frostresistenz. Forstwiss. Cbl. 105: 396-406
- LARSEN, J. B. und FRIEDRICH, J. 1988: Wachstumsreaktionen verschiedener Provenienzen der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) nach winterlicher SO₂-Begasung. Eur. Jor. For. Path. 18 : 190-199
- LARSEN, J. B., QUIAN, X. M., SCHOLZ, F. und WAGNER, I 1988: Ecophysiological Reactions Of Different Provenances Of European Silver Fir (*Abies.alba* Mill.) To SO₂-Exposure During Winter. Eur. J. For. Path. 18: 44-50

2.11 Anhang

Anhang I: Aufnahmeformular für Generhaltungsobjekte sowie Lageskizzen und Kartenauszüge (Vorkommen Karsdorf)

Aufnahmeformular für Generhaltungsobjekte	
Erfassungsdatum: <i>2./4.3.1993</i>	Name: <i>Llamas, Winkler</i>
Baumart: <i>Weißtanne</i>	
1 Objekt: <i>Bestand</i>	Zuchtnummer:
Lage	
Bundesland: <i>Sachsen</i>	Meßtischblatt-Nr.: <i>5047</i>
Forstamt: <i>Karsdorf 27</i>	Quadrant: <i>Ld/IX</i>
Revier: <i>Karsdorf</i>	geogr. Länge: <i>13°38'30"</i>
Abteilung: <i>252 b⁵, 253 b⁵</i>	geogr. Breite: <i>50°55'45"</i>
2 Status:	
Herkunftsgebiet:	
Forstgesch.Aspekte:	
Hinweise zum Auffinden: <i>vom Schulungsobjekt Malterweg bis Goldgrubenflusnelweg, weiter Kiesgrube, Eingang Kiesgr. links Wasserweg (Laufen), Fi-Altholz!</i>	
Eigentümer (Anschrift): <i>Freistaat</i>	
.....	
Standort	
Wuchsbezirk: <i>458 Untere NO Abdachung d. Erzgebirges</i>	Rauchschadzone:
Höhe über NN: <i>350 m</i>	5 Schadstufe:
Nied.(mm/a): <i>720-800 (mm/Veg.)</i>	6 Gefährdungsgrad:
Temp.(°C/a): <i>7,5 (°C/Veg.)</i>	7 Gefährdungsart:
Bodenart: <i>St. gr. Lehm</i>	Immissionstyp:
Bodenform: <i>O_g Gu 5 Oelsengrunder Gneis Bravnerde</i>	
Relief: <i>schwach geneigt</i>	
Standortsgruppe: <i>UF-M2</i>	
Exposition: <i>W-Randlage z. Talsperre, windanfällig</i>	
	<i>Nr. 1-76</i>

Angaben zum Bestand bzw. zu Einzelbäumen

Alter: ca. 110
 Flächengröße (ha): ca. 6,5
 Stammzahl: 75
 Mischungsform: Gruppen im FI-Altholz
 Mischungsanteile: <1/10
 Hauptbaumart: Gfi
 weitere Baumarten: TEi, Sei, Ki, Wie, Ees, Holu
 Bemerkungen: Kronen der Wta z.T. stark eingeeengt, stellenweise NV, im Südteil (am Feld) (Nr. 12, 28, 27, 29, 13, 14, 15, 31) sehr licht, diese stellenw. extr. Freistellung, Unterstand (siehe oben) wird momentan zu Gunsten des geplanten VA (Rbu) gefällt, ebenfalls alle Holu., Baum-Nr. 1-9 Ernte 1992, von allen Bäumen (außer 42) wurden Knospenproben geschossen, südl. Bestandesmantel (Feldgrenze) gefährlich offen

Autochthonie: unbekannt
 Zulassungskategorie:
 Vitalität: siehe Vitalitätsansprache
 Jahr d. letzten Frucht.: 1992
 Erhaltungsdringlichkeit: 1
 Vegetationsform:
 Begründungsform:

Maßnahme	Maßnahmeart	Termin	Menge/Realisierung	Znr.	Bemerkung
02	A, B, D		FA Karsdorf, Nr. 1-9		Saatgutprobe für Labor
VA Rbu		1993			Zaunschut
			Ref. Karsdorf ca. 9kg Zapfen		durch FA beerntet
			1,6kg Saatgut		

Erhaltungsgrund:

Dokumentation: 4.2.93

Anhang II: Allelhäufigkeiten an den 9 untersuchten Genloci der 21 Tannenpopulationen

Population Nr.	IDH-A1	IDH-A2	IDH-A3	IDH-B2	IDH-B3	6-PGDH-A1	6-PGDH-A2	GOT-A1	GOT-A2
Erlbach 1	0,132	0,789	0,079	0,184	0,816	0,553	0,447	0,000	1,000
Klingenthal 2	0,231	0,744	0,026	0,192	0,808	0,551	0,449	0,000	1,000
Klingenthal 3	0,059	0,853	0,088	0,353	0,647	0,353	0,647	0,000	1,000
Klingenthal 4	0,071	0,643	0,286	0,286	0,714	0,464	0,536	0,000	1,000
Schönheide 5	0,219	0,625	0,156	0,094	0,906	0,469	0,531	0,000	1,000
Eibenstock 6	0,100	0,800	0,100	0,250	0,750	0,650	0,350	0,000	1,000
Lauter 7	0,125	0,708	0,167	0,250	0,750	0,412	0,588	0,021	0,979
Lauter 8	0,125	0,688	0,188	0,094	0,906	0,594	0,406	0,000	1,000
Lauter 9	0,200	0,533	0,267	0,167	0,833	0,433	0,567	0,017	0,983
Lauter 11	0,143	0,571	0,286	0,429	0,571	0,429	0,571	0,000	1,000
Olbernhau 12	0,107	0,679	0,214	0,107	0,893	0,536	0,464	0,000	1,000
Olbernhau 13	0,182	0,636	0,182	0,318	0,682	0,409	0,591	0,045	0,955
Karsdorf 14	0,094	0,717	0,189	0,151	0,849	0,481	0,519	0,000	1,000
Bärenfels 15	0,194	0,735	0,071	0,133	0,867	0,398	0,602	0,000	1,000
Bärenfels 16	0,182	0,561	0,258	0,167	0,833	0,515	0,485	0,000	1,000
Altenberg 17	0,100	0,760	0,140	0,180	0,820	0,460	0,540	0,000	1,000
Bielatal 18	0,179	0,607	0,214	0,214	0,786	0,607	0,393	0,000	1,000
Lohmen 19	0,147	0,706	0,147	0,221	0,779	0,618	0,382	0,000	1,000
Schandau 20	0,207	0,598	0,196	0,228	0,772	0,522	0,478	0,000	1,000
Schandau 21	0,176	0,696	0,127	0,255	0,745	0,441	0,559	0,000	1,000
Schandau 22	0,043	0,652	0,304	0,217	0,783	0,543	0,457	0,022	0,978

Population Nr.	GOT-B1	GOT-B2	GOT-C1	GOT-C2	GOT-C3	LAP-A1	LAP-A2	AAP-A1	AAP-A2	DIA-A1	DIA-A2
Erlbach 1	0,974	0,026	0,079	0,789	0,132	1,000	0,000	0,237	0,763	0,000	1,000
Klingenthal 2	1,000	0,000	0,141	0,744	0,115	0,949	0,051	0,218	0,782	0,000	1,000
Klingenthal 3	1,000	0,000	0,029	0,853	0,118	1,000	0,000	0,029	0,971	0,000	1,000
Klingenthal 4	1,000	0,000	0,107	0,786	0,107	1,000	0,000	0,179	0,821	0,000	1,000
Schönheide 5	0,938	0,063	0,219	0,625	0,156	0,938	0,063	0,156	0,844	0,000	1,000
Eibenstock 6	0,975	0,025	0,175	0,750	0,075	0,925	0,075	0,175	0,825	0,000	1,000
Lauter 7	1,000	0,000	0,104	0,750	0,146	0,854	0,146	0,250	0,750	0,000	1,000
Lauter 8	0,969	0,031	0,063	0,813	0,125	0,969	0,031	0,219	0,781	0,000	1,000
Lauter 9	0,967	0,033	0,133	0,817	0,050	1,000	0,000	0,250	0,750	0,000	1,000
Lauter 11	0,964	0,036	0,143	0,500	0,357	1,000	0,000	0,179	0,821	0,000	1,000
Olbernhau 12	1,000	0,000	0,036	0,821	0,143	1,000	0,000	0,179	0,821	0,000	1,000
Olbernhau 13	0,939	0,061	0,136	0,606	0,258	0,742	0,258	0,212	0,788	0,060	0,940
Karsdorf 14	1,000	0,000	0,123	0,802	0,075	0,915	0,085	0,217	0,783	0,000	1,000
Bärenfels 15	0,990	0,010	0,092	0,816	0,092	0,888	0,112	0,184	0,816	0,000	1,000
Bärenfels 16	1,000	0,000	0,167	0,758	0,076	0,924	0,076	0,197	0,803	0,000	1,000
Altenberg 17	1,000	0,000	0,080	0,760	0,160	0,940	0,060	0,180	0,820	0,000	1,000
Bielatal 18	0,964	0,036	0,036	0,929	0,036	0,893	0,107	0,429	0,571	0,000	1,000
Lohmen 19	1,000	0,000	0,118	0,779	0,103	0,926	0,074	0,356	0,647	0,000	1,000
Schandau 20	0,978	0,022	0,087	0,837	0,076	0,935	0,065	0,402	0,598	0,000	1,000
Schandau 21	0,980	0,020	0,078	0,853	0,069	0,902	0,098	0,441	0,559	0,000	1,000
Schandau 22	1,000	0,000	0,109	0,717	0,174	0,870	0,130	0,370	0,630	0,000	1,000

3 Teil B

3.1 Kurze Einführung und Zielsetzung

Zur Wiederherstellung des ursprünglichen ökologisch stabilen Bergmischwaldes im Erzgebirge und anderen mitteleuropäischen Mittelgebirgen sollte neben Buche und Fichte vor allem auch die Weißtanne berücksichtigt werden, die eine wertvolle Komponente in diesen Waldökosystemen nach der letzten Eiszeit darstellte (HARTIG, 1986). Allerdings ist es hierzu erforderlich, ihre Anpassungsfähigkeit an die gegebenen bzw. zukünftigen Umweltbedingungen zu verbessern, um einen weiteren Rückgang dieser Baumart zu vermeiden. Da die Anpassungsfähigkeit einer Art letztendlich auf ihrer genetischen Struktur und damit ihrer genetischen Variation basiert (BERGMANN et al., 1990), sollte auch bei der Weißtanne die genetische Struktur der autochthonen Reliktbestände im Erzgebirge untersucht und mit der Struktur der noch vitalen Bestände in den angrenzenden Mittelgebirgen Südwestpolens und der Nordwest-Tschechei verglichen werden. Aufgrund neuerer Studien soll nämlich die Weißtanne der ostdeutschen Mittelgebirge (Erzgebirge) mit der südwestpolnischen und tschechischen Weißtanne zu ein- und demselben eiszeitlichen Refugialgebiet gehören, d.h. die nach-eiszeitliche Wiederbesiedlung dieser Gebirge erfolgte von denselben Tannenrefugien aus (KRAL, 1980).

Erkenntnisse aus solchen genetischen Vergleichsuntersuchungen haben auch große Bedeutung für die Verwendung von nicht-autochthonem Vermehrungsgut bei der Wiederaufforstung des Erzgebirges, falls die Saatgutmengen der wenigen dort stockenden Reliktbestände nicht ausreichen (LEONHARDT, 1993). Vermehrungsgut (Saatgut, Pflanzgut) von Weißtannenpopulationen, die zu anderen Refugialgebieten gehören, läßt unter Umständen die Angepaßtheit an die gegenwärtigen Umweltbedingungen und die Anpassungsfähigkeit an zukünftige Bedingungen in dieser Klimazone vermissen, was zu erneutem Tannensterben führen kann.

In unserer Untersuchung sollten daher Reliktbestände des Erzgebirges und des Thüringer Waldes nicht nur mit Populationen aus Südwestpolen und der Tschechei, sondern auch mit Populationen aus dem Fichtelgebirge (Nordbayern), aus dem Schwarzwald und der slovakischen Niederen Tatra verglichen werden. Diese Vergleiche stützten sich dabei auf die genetische Struktur (Allelhäufigkeiten) an zahlreichen Isoenzym-Genloci sowie auf die daraus berechneten Parameter der genetischen Vielfalt und Diversität. Mit Hilfe des genetischen Abstandsmaßes ließ sich die genetische Ähnlichkeit von Populationen einschätzen, die dann zur Konstruktion eines Dendrogramms Verwendung finden sollte.

Neben diesen Populationsvergleichen war auch geplant, die genetische Struktur von Altbäumen mit der ihrer Naturverjüngung zu vergleichen, um an einigen ausgewählten Standorten einzelne Komponenten des Paarungssystems der Weißtanne näher zu untersuchen. Durch den Vergleich zweier Generationen besteht die Möglichkeit, das Ausmaß an Selbst- und Fremdbe-

MNR-Zonen nachzuweisen, die von zwei separaten Genloci (MNR-A, MNR-B) kodiert werden, wie genetische Analysen gezeigt haben. Der Genlocus MNR-B entspricht dabei dem früheren DIA-A, da die allelische Variation identisch ist. Am Genlocus MNR-A konnte in bestimmten Populationen (Süditalien) ebenfalls Variation beobachtet werden.

Malat-Dehydrogenasen (MDH)

Im Gegensatz zur MDH von Fichte und Kiefer erschien dieses Enzym-System aus Tannextrakten nach Anfärbung der Zymogramme mit der üblichen Tetrazoliummethode als ein Komplex, der aus 3-5 Isoenzymzonen, die sich teilweise überlappen, zusammengesetzt sein könnte. Auch durch Variation der Trennpuffersysteme und pH-Werte war es nicht möglich, eine bessere Auflösung der einzelnen Isoenzymzonen zu erreichen. Somit konnte dieses Enzymsystem bislang nicht als Genmarker verwendet werden.

Da das System der Malat-Dehydrogenasen in Pflanzen jedoch aus (zu Pyruvat) decarboxylierenden und (zu Oxalacetat) nicht-decarboxylierenden Isoenzymen besteht, war die Möglichkeit gegeben, nur eine dieser Isoenzymgruppen durch spezifische Färbung im Zymogramm sichtbar zu machen. Mit Hilfe einer auf Oxalacetat ansprechenden Farbreaktion (THORMANN und STEPHAN, 1993) gelang es nun, die nicht-decarboxylierenden MDH-Isoenzyme der Tanne im Zymogramm nachzuweisen. Insgesamt zeigten sich hierbei nur noch drei Zonen, von denen eine als Interlocus-Hybridband identifiziert werden konnte. Die genetische Analyse ergab weiterhin, daß die beiden anderen Isoenzymzonen von jeweils einem Genlocus kodiert werden, so daß nunmehr zwei MDH-Loci (MDH-A, MDH-C) bei der Weißtanne als Markerloci verfügbar sind. An beiden Genloci konnte in dem hier untersuchten Material allelische Variation festgestellt werden (Tabelle 18).

Phosphoglucomutasen (PGM)

Dieses Enzymsystem besteht bei Fichte und Kiefer aus zwei Isoenzymzonen, die jeweils von einem Genlocus kodiert werden. Bei der Tanne war bislang nur eine PGM-Zone beschrieben worden, die zudem kaum Variation gezeigt hatte. Nach längerer Einwirkung der üblichen Tetrazolium-Färbemischung auf die Stärkegele konnte nun eine zweite PGM-Zone, die aus einem Doppelband besteht, nachgewiesen werden. Nachdem diese Zone in verschiedenen Herkünften, vor allem aus Südosteuropa, Variation zeigte, die einfach zu interpretieren war, kann postuliert werden, daß sie von einem zweiten Genlocus (PGM-B) kodiert wird. Somit besitzt auch die Weißtanne zwei Genloci (A und B), welche das PGM-System kontrollieren (Tabelle 17).

3.4 Eigenschaften und Verwendungsmöglichkeiten von Isoenzym-Genmarkern

Zuverlässige Werte der genetischen Variation und zum Ausmaß an Homozygotie oder Heterozygotie sind nur zu erhalten, wenn die Allelbesetzung an einzelnen Genloci nachweisbar ist. Da bei Waldbäumen physiologische und morphologische Merkmale keine qualitative Variation zeigen und somit eine Identifizierung der kontrollierenden Genloci nicht erlauben, ist man hier wie bei vielen anderen Tier- und Pflanzenarten auch dazu übergegangen, biochemische Merkmale, und zwar elektrophoretisch erzeugte Isoenzymmuster, zu verwenden. Diese Isoenzymmuster sind zumeist unabhängig von der Umwelt, in welcher sich die Individuen befinden, und werden von nur einem oder wenigen Genloci kontrolliert (BERGMANN et al., 1989). Nach Identifizierung der kontrollierenden Genloci und Feststellung der Beziehung zwischen Phänotyp und Genotyp mit Hilfe geeigneter genetischer Analysen können solche Isoenzymmuster als Genmarker verwendet und für Populationsstudien eingesetzt werden.

Welche Aussagekraft haben nun Daten über genetische Diversität oder Differenzierung von Waldbaumarten, wenn sie anhand von Enzym-Genloci (Isoenzymmuster kontrollierende Genloci) gewonnen wurden? Hierzu muß primär klargestellt werden, daß Enzyme oder Strukturproteine kodierende Strukturgenloci keine besondere Rarität darstellen, sondern einen großen Teil des funktionellen (kodierenden) Genoms der Organismen repräsentieren, welches über seine Produkte (Enzyme und Proteine) den gesamten Stoffwechsel und den Aufbau aller Strukturen steuert. Allerdings sind die elektrophoretisch nachweisbaren Isoenzym-Genysteme nur eine kleine und nicht-repräsentative Stichprobe des jeweiligen Genoms, da viele Systeme anderer Proteine (Struktur- und Speicherproteine) und wasserunlöslicher bzw. membrangebundener Enzyme nicht berücksichtigt sind. Dennoch können diese Enzym-Genloci als Marker für viele andere variable Strukturgenloci dienen, wenn sie sehr zahlreich über verschiedene Chromosomen verteilt und mit Gruppen anderer, möglichst adaptiver Genloci gekoppelt sind. Darüber hinaus werden an diesen Markergenloci die Konsequenzen solcher Paarungssysteme beobachtbar sein, die das gesamte Genom einer Population betreffen, wie z.B. alle Inzuchtsysteme (Verwandtenpaarung).

Die Nützlichkeit der Isoenzym-Genmarker bei Untersuchungen von Paarungssystemen, taxonomischen und phylogenetischen Beziehungen sowie Züchtungsprogrammen hängt auch von ihrer Klassifizierung als selektionsneutrale oder „quasi-neutrale“ molekulare Merkmale ab. Da diese Eigenschaft keineswegs in allen Fällen überprüft wurde, sollen hierzu noch einige allgemeine Aspekte diskutiert werden. In verschiedenen Studien an Tier- und Pflanzenarten konnte überzeugend demonstriert werden, daß natürliche Selektion auch direkt an den untersuchten Enzym-Genloci angreift, während in vielen anderen Studien derartige Zusammenhänge nicht beobachtet wurden. Wir meinen, daß eine generell zutreffende Lösung dieses Problems nicht gefunden werden kann, sondern daß die Eigenschaft „neutral oder adaptiv“

für die Variation an Enzym-Genloci stets im Zusammenhang mit den jeweiligen Umweltbedingungen der betreffenden Population gesehen werden muß. Es gibt mehrere Beispiele, die zeigen, daß Isoenzym polymorphismen, die unter optimalen Umweltbedingungen neutral sind, adaptiv werden können, wenn die Population unter extremen Umweltbedingungen (Stressbedingungen) leben muß. Eine ausführlichere Beschreibung dieser Zusammenhänge und weiterführende Literatur findet sich bei BERGMANN (1991).

3.5 Untersuchungsergebnisse

3.5.1 Genetische Variation der Enzymsysteme

Nach Untersuchung von 11 Weißtannenpopulationen und mehreren Eltern/Nachkommen-Vergleichen zeigte es sich, daß acht der 19 Genloci generell monomorph sind, d.h. jeweils nur ein Allel und damit nur einen homozygoten Genotyp bei allen Tannen aufweisen (Tabelle 17). Die anderen 11 Genloci sind polymorph, d.h. es konnten in mindestens einer Population zwei oder mehr Allele festgestellt werden (Tabelle 18). Allerdings erwies sich der Genlocus PGM-B nur bei den Eltern/Nachkommen-Vergleichen im Polenztal als variabel, weshalb er auch nicht in der Tabelle 18 aufgeführt ist. Die polymorphen Enzym-Genloci lassen sich nochmals in drei Typen unterscheiden: Genloci mit Minorpolymorphismus, hierzu gehören 6PGDH-B und PGM-B; Genloci mit Majorpolymorphismus (IDH-A, 6PGDH-A und MDH-C), und Genloci, welche in der einen Population einen Major-, in der anderen Population aber einen Minorpolymorphismus aufweisen (GOT-B, GOT-C, IDH-B, MDH-A, AP-A und MNR-B) (Tabelle 18). Der relativ hohe Anteil an polymorphen Genloci (ca. 60%) und auch das Ausmaß an Variation an diesen Genloci (Majorpolymorphismen) ist nicht von vornherein zu erwarten gewesen, da wir mit wenigen Ausnahmen (AP-A, MNR-B) Enzymsysteme des Primärstoffwechsels untersucht haben, deren genetische Variation (Alloenzym polymorphismus) im allgemeinen als gering eingeschätzt wird. Es zeigte sich aber bei der Weißtanne - ähnlich wie bei vielen anderen Koniferen - auch hier eine relativ große Variation.

3.5.2 Genetische Vielfalt und Diversität

Aus den Anzahlen der monomorphen und polymorphen Genloci, sowie den dort festgestellten Allelen wurden verschiedene Parameter der genetischen Vielfalt, aus den Häufigkeitsverteilungen der Allele Parameter der genetischen Diversität berechnet. Eine Beschreibung dieser Parameter und ihrer Formeln finden sich im Teilvorhaben A (Kap. 2.5.3.5.2), die spezifischen Eigenschaften der Diversitätsparameter und ihre mathematische Ableitung sind an anderer Stelle schon ausführlich dargestellt worden (GREGORIUS, 1978), weshalb hier nicht weiter darauf eingegangen wird. Die Werte der betreffenden Parameter sind in der Tabelle 19 aufgeführt; sie sind größtenteils wesentlich kleiner als die entsprechenden Werte der Tabelle 5 im Teilvorhaben A, was aus der Einbeziehung auch der monomorphen Genloci resultiert.

Bei Betrachtung der genetischen Vielfalt fällt auf, daß die meisten Populationen sehr ähnliche Werte aufweisen, nur Frydlant (Tschechei) zeigt bei allen Parametern die kleinsten Werte, was allerdings mit der relativ geringsten Stichprobengröße (15 Bäume, siehe Tabelle 16) erklärt werden kann. Vergleicht man jedoch diese Daten mit denen anderer Koniferenarten (z.B. Fichte), so erkennt man, daß die Weißtannenpopulationen aus dem mittel- und osteuropäischen Raum eine verhältnismäßig geringe genetische Vielfalt aufweisen. Für die Fichtenpopulation am Brockenhang/Harz konnten beispielsweise viel höhere Werte errechnet werden ($P = 0,67$; $A/L = 2,17$), wobei sehr ähnliche Anzahlen und Typen von Enzym-Genloci untersucht worden waren. Man kann daraus schließen, daß die Weißtanne auf ihrer Wanderung in diese Areale oder aufgrund später erfolgter starker Einengungen (Bottleneckeffekt) Gene verloren und damit genetische Vielfalt eingebüßt hat.

Im Gegensatz zur genetischen Vielfalt variieren die Werte der genetischen Diversität teilweise beträchtlich zwischen den Populationen (Tabelle 19). Die Genpool-Diversität (v_{Pool}) schwankt zwischen 1,24 und 1,61, die hypothetische gametische Diversität (v_{gam}) zwischen 9,96 und 172,54; in beiden Fällen besitzt Vessertal die geringsten und Ottenhöfen die höchsten Werte. Die Daten der Diversität spiegeln nicht nur die Anzahl polymorpher Genloci wider, sondern vor allem die Allelhäufigkeitsverteilungen an den einzelnen Genloci. Viele Genloci mit Minorpolymorphismus (hohe genetische Vielfalt) können durch wenige Genloci mit Majorpolymorphismus bei der genetischen Diversität übertroffen werden, was zur Folge hat, daß z.B. die Ta-Herkünfte Weißenstadt, Ottenhöfen und Nagold mit nicht sonderlich herausragenden Werten der genetischen Vielfalt die weitaus größten Werte der genetischen Diversität besitzen (Tabelle 19). Allerdings wird hierdurch nicht präjudiziert, daß Vermehrungsgut aus diesen Herkünften für die Wiederaufforstung von Erzgebirge und Thüringer Wald am besten geeignet ist, da für diese Fragestellung vor allem die genetische Ähnlichkeit bzw. Verschiedenheit zwischen Populationen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Genetische Ähnlichkeit an zahlreichen Enzym-Genloci läßt vermuten, daß auch die Anpassungspotentiale der betreffenden Populationen in einem gewissen Rahmen übereinstimmen.

Tab. 18: Zusammenstellung der Allelhäufigkeiten an 10 Enzymgenloci in 12 Weißbannpopulationen

	AP-A		GOT-B		GOT-C			IDH-A			IDH-B		6-PGDH-A			6-PGDH-B			MDH-A			MDH-C			MNR-B		
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	C3	A1	A2	A3	B1	B2	A1	A2	A3	B1	B2	B3	A2	A3	C1	C2	C3	B1	B3		
BÄR	98,1	1,9	98,2	1,8	5,4	92,9	1,8	12,5	60,0	27,5	12,7	87,3	8,9	64,3	26,8	100		98,0	2,0	25,0	14,6	60,4	1,8	98,2			
LAU	92,6	7,4	98,1	1,9	7,4	90,7	1,9	7,4	72,2	20,4	11,1	88,9	13,0	53,7	33,3	100		94,4	5,6	25,9	13,0	61,1		100			
BAD	94,7	5,3	97,4	2,6	15,8	78,9	5,3	18,4	60,0	21,6	18,4	81,6	7,9	63,2	28,9	100		100		23,7	13,2	63,2		100			
VES	94,4	5,6	91,9	8,1		83,3	16,7	5,1	84,6	10,3	12,8	87,2	2,6	76,3	21,1	97,4	2,6	96,3	3,7	11,1	14,8	74,1		100			
KLA	93,2	6,8	100		20,5	79,5		21,8	57,7	20,5	18,2	81,8	12,7	66,8	20,5	97,7	2,3	97,7	2,3	11,4	25,0	63,6		100			
FRY	96,7	3,3	80,0	20,0	16,7	83,3			83,3	16,7	13,3	86,7	3,3	60,0	36,7	100		100		13,3	10,0	76,7		100			
MIE	92,1	7,9	94,7	5,3	2,6	89,5	7,9	26,3	42,1	31,6	28,9	71,1	10,5	47,4	42,1	97,4	2,6	100		18,4	18,4	63,2		100			
LAD	94,1	5,9	97,1	2,9	5,9	88,2	5,9	5,9	61,8	32,4	5,9	94,1	2,9	52,9	44,1	100		100		17,6	23,5	58,8		100			
WEI	88,9	11,1	84,0	16,0	23,5	72,5	3,9	20,0	56,0	24,0	25,5	74,5	8,3	47,9	43,8	100		92,6	7,4	18,5	22,2	59,3		100			
OTT	70,4	29,6	80,4	19,6	1,9	84,9	13,2	24,5	58,5	17,0	41,5	58,5	6,0	54,0	40,0	100		83,3	16,7	44,4	11,1	44,4		21,6	78,4		
NAG	65,0	35,0	75,0	25,0	10,0	65,0	25,0	20,0	70,0	10,0	25,0	75,0		55,0	45,0	100		90,0	10,0	35,0	10,0	55,0		10,0	90,0		
LIP	91,7	8,3	100		4,4	84,4	11,1	29,2	54,2	16,7	27,1	72,9	6,7	55,6	37,8	8,9	86,7	4,4	97,8	2,2	24,4	13,3	62,2		100		

Tab. 19: Werte der genetischen Vielfalt (M = Anzahl der Allele an allen untersuchten Genloci, P = Anteil polymorpher Genloci, A/L = mittlere Anzahl Allele pro Locus, A/L' = mittlere Anzahl Allele pro polymorphen Locus) und der genetischen Diversität (v_{Pool} = Genpool-Diversität, v_{gam} = hypothetische gametische Diversität)

Population	Genetische Vielfalt				Genetische Diversität	
	M	P	A/L	A/L'	v_{Pool}	v_{gam}
Bärenfels	31	0,47	1,63	2,3	1,27	19,17
Lauter	30	0,42	1,58	2,2	1,28	18,65
Bad Schandau	29	0,37	1,53	2,1	1,33	29,02
Vessertal	30	0,47	1,58	2,2	1,24	9,96
Klasterec	29	0,42	1,53	2,1	1,35	35,69
Frydlant	27	0,37	1,42	1,99	1,26	12,85
Miedzygorze	30	0,42	1,58	2,2	1,37	43,21
Ladek	29	0,37	1,53	2,1	1,27	16,95
Weißensstadt	30	0,42	1,58	2,2	1,46	71,37
Ottenhöfen	31	0,47	1,63	2,3	1,61	172,54
Nagold	30	0,47	1,58	2,3	1,56	118,97
Liptovsky	31	0,42	1,63	2,3	1,38	42,82

3.5.3 Genetische Differenzierung zwischen Populationen

Das Ausmaß an genetischer Differenzierung (genetische Ähnlichkeit bzw. Verschiedenheit) zwischen Populationen kann auf verschiedene Weise quantifiziert werden. Ein allgemein übliches Maß ist der genetische Abstand (z.B. d_0 von GREGORIUS, 1974), der die Unterschiede zwischen den Allelhäufigkeiten eines Genlocus zweier Populationen (oder Stichproben) in einer Maßzahl wiedergibt. Da diese Unterschiede von Genlocus zu Genlocus variieren können, wird zur besseren Übersicht im allgemeinen ein Mittelwert der genetischen Abstände einzelner Genloci berechnet (Genpool-Abstand= D_{xy}) und diese Mittelwerte in Form einer Matrix zusammengestellt. Aus diesen Genpool-Abständen kann ein Ähnlichkeitsschema oder Dendrogramm konstruiert werden, mit welchem dann das Ausmaß an genetischer Ähnlichkeit (oder Verschiedenheit) zwischen allen Populationen diagrammatisch dargestellt wird.

Die genetische Differenzierung zwischen den hier untersuchten 11 Weißtannenpopulationen basiert vor allem auf den sehr unterschiedlichen Allelhäufigkeitsverteilungen der Genloci IDH-A, MDH-C und 6PGDH-A, wie beispielhaft die Abbildung 11 für das letztere System zeigt. Der mittlere genetische Abstand (Genpool-Abstand D_{xy}) läßt hierbei erkennen, daß die Bestände des sächsischen und tschechischen Erzgebirges, des Isergebirges und der polnischen Sudeten genetisch sehr ähnlich sind, da alle d_0 -Werte deutlich unter 0.1 liegen, d.h. die genetische Verschiedenheit zwischen zwei Populationen erreicht keine 10% (Tabelle 20). Demgegenüber ergaben sich wesentlich größere genetische Unterschiede zwischen den Populationen dieses Areals

und den Schwarzwaldpopulationen Ottenhöfen und Nagold, wie die d_0 -Werte von 0,14-0,18 belegen (Tabelle 20).

Basierend auf diesen D_{xy} -Werten wurde ein Dendrogramm (nach der UPGMA-Methode) entwickelt, welches die genetischen Beziehungen zwischen den Populationen anschaulich darstellt (Abbildung 12). Es läßt erkennen, daß die sächsischen und südwestpolnischen Weißtannenbestände eine Gruppe bilden, eine weitere Gruppe besteht aus den tschechischen Beständen und denen aus dem Thüringer Wald und dem Fichtelgebirge. Hiervon deutlich abgesetzt erscheint die Herkunftsgruppe aus dem Schwarzwald. Man kann aus diesen Zusammenhängen schließen, daß der Genpool der Schwarzwald-Tanne sich klar von dem der ostdeutschen, polnischen und tschechischen Weißtanne unterscheidet, wobei die Bestände aus dem Fichtelgebirge und dem Thüringer Wald eine Art Übergangszone darstellen.

3.5.4 Vergleiche zwischen Altbäumen und Naturverjüngung

Bei den genetischen Vergleichen zwischen einigen Altbäumen und ihrer Naturverjüngung stellte sich heraus, daß das Material aus dem Revier Conradswiese (FA Lauter/Erzgebirge) ungeeignet war, da ein Teil der jüngeren Tannen nicht von den 6 Altbäumen stammen konnte. Es war zu vermuten, daß die tatsächlichen Eltern sich unter den bereits abgestorbenen Tannen befanden. Aus diesem Grunde wurden die Untersuchungen auf die Altbäume und ihre Naturverjüngung (NV) im Naturschutzgebiet Polentzthal (Elbsandsteingebirge) beschränkt.

Insgesamt wurden in einem eng begrenzten Gebiet des Polentzthals drei Alttannen (A, B und C) und die unter den Tannen A und B stockende NV untersucht. Dabei stellte es sich heraus, daß die Alttanne B und die 8 zugehörigen Jungtannen (eine Jungtanne konnte nicht von B abstammen) an den meisten Enzym-Genloci für das häufigste Allel homozygot sind, so daß eine Aussage über Fremd- oder Selbstbefruchtung nicht getroffen werden konnte. Völlig anders stellten sich jedoch die Verhältnisse bei dem Altbaum A und seiner aus 16 Tannen bestehenden NV dar, die nochmals in zwei Altersklassen (unter 20 Jahre, über 20 Jahre) unterteilt werden konnte. Die Alttanne A war auch an mehreren Genloci homozygot, jedoch nicht immer für das häufigste Allel, so daß unter der NV zahlreiche heterozygote Genotypen angetroffen wurden. Da diese Heterozygoten nur aus Fremdbefruchtung entstanden sein konnten, ergibt sich bei Betrachtung mehrerer Genloci ein minimaler Schätzwert für den Anteil der Fremdbefruchtungsnachkommen. Wie die betreffenden Daten in Tabelle 21 zeigen, erreicht dieser Anteil einen Minimalwert von 80%, d.h. mindestens 80% der NV unter der Tanne A sind aus Fremdbefruchtung entstanden. Ein Unterschied in diesem Wert zwischen den zwei Altersklassen der NV konnte nicht festgestellt werden, so daß anzunehmen ist, daß eine Selektion gegen Selbstungsnachkommen bereits in früheren Stadien erfolgt ist. Da die via Pollen eingebrachten Allele nicht von den beiden anderen Alttannen B und C stammen können, muß die damalige Bestäubung der Alttanne A von weiter entfernt stehenden Bäumen erfolgt sein.

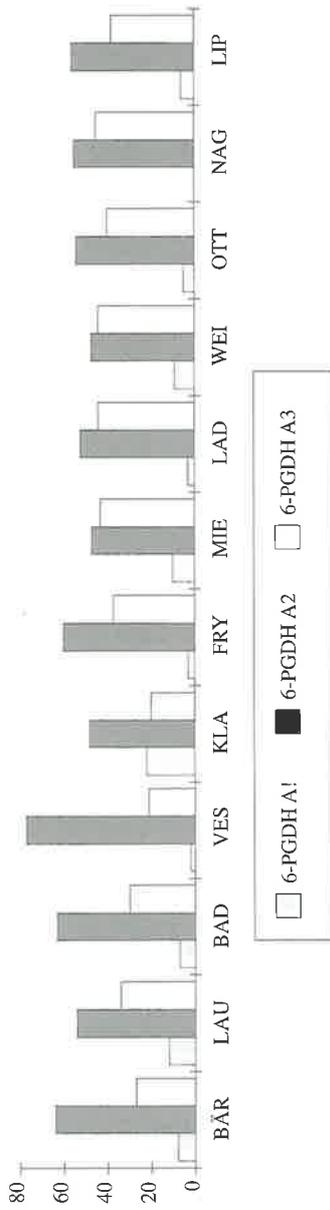


Abb. 11: Säulendiagramm der Allelhäufigkeiten am Locus 6 PGDH-A von 12 Tannenpopulationen

Tab. 20: Genpool-Abstände (Sxy) zwischen 12 Weißtannenpopulationen

POPULATIONEN	BÄR	LAU	BAD	VES	KLA	FRY	MIE	LAD	WEI	OTT	NAG	LIP
LAUTER	0,049											
BAD SCHANDAU	0,038	0,062										
VESSERTAL	0,092	0,079	0,094									
KLASEREC	0,078	0,080	0,055	0,104								
FRYDLAND	0,095	0,076	0,084	0,065	0,107							
MIEDZYGORZE	0,76	0,082	0,061	0,116	0,077	0,119						
LADEK	0,058	0,051	0,061	0,091	0,091	0,085	0,066					
WEIßENSTADT	0,102	0,088	0,073	0,128	0,084	0,099	0,068	0,084				
OTTENHÖFEN	0,173	0,157	0,163	0,187	0,186	0,171	0,144	0,171	0,130			
NAGOLD	0,168	0,139	0,147	0,158	0,175	0,143	0,153	0,156	0,106	0,093		
LIPTOVSKY	0,081	0,074	0,066	0,107	0,074	0,115	0,055	0,087	0,084	0,134	0,138	

Tab. 21: Mindestanteil der aus Fremdbefruchtung entstandenen Nachkommen der Naturverjüngung (NV) unter Altanne A

NV unter Tanne A	Anzahl	Aus Fremdbefruchtung	(Anteil)
falsche Nachkommen	1		
Nachkommen unter 20 J.	5	4	(0,8)
Nachkommen über 20 J.	10	8	(0,8)
Gesamtzahl Nachkommen	15	12	(0,8)

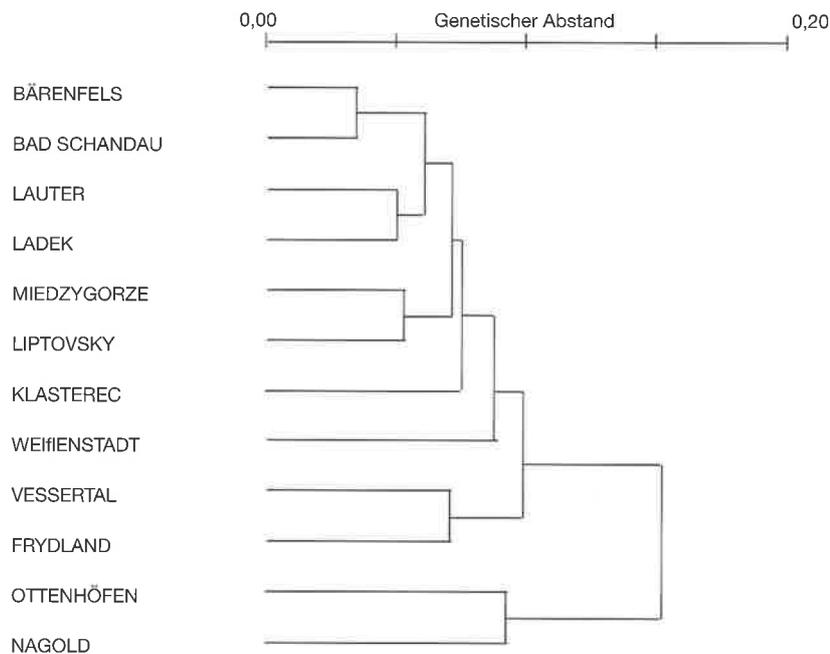


Abb. 12: UPGMA-Dendrogramm von 12 Weißtannenpopulationen basierend auf den Genpool-Abständen (D_{xy}) in Tabelle 20

3.6 Diskussion und Schlußfolgerungen

Ausgehend von den genetischen Daten, die an 19 Enzym-Genloci ermittelt wurden, kann festgestellt werden, daß die Weißtanne des Erzgebirges und angrenzender Mittelgebirge eine im Vergleich zu anderen Koniferenarten nur geringe genetische Vielfalt aufweist. Darüber hinaus besitzen diese Populationen auch nur eine geringe genetische Diversität, die beispielsweise deutlich von der einiger Schwarzwaldpopulationen übertroffen wird (siehe Tabelle 19). Allerdings ist diese relativ geringe genetische Variation kein Charakteristikum der Erzgebirgstanne, da sowohl für die südwestpolnischen (Sudeten) als auch die tschechischen Populationen (Erzgebirge, Isergebirge) ähnliche Werte der genetischen Vielfalt und Diversität ermittelt wurden. Analysen zur genetischen Differenzierung zeigten dann auch, daß die ostdeutschen, polnischen und tschechischen Populationen nur geringe genetische Unterschiede aufweisen und sich als Gruppe von der Schwarzwald-Tanne deutlich absetzen (Abbildung 12). Dieses geographische Variationsmuster spiegelt die postulierte Rückwanderung der Weißtanne aus eiszeitlichen Refugien recht gut wider, da ein Wanderweg (vermutlich aus Mittelitalien) entlang dem Ostalpenbogen nach Norden bis nach Mittelpolen geführt haben soll, der möglicherweise im Gebiet der Beskiden,

Niederer Tatra und Westkarpaten Kontakt mit einem Weißtannenvorstoß aus den Ostkarpaten gehabt haben könnte. Die Weißtanne des Schwarzwaldes und der südbayerischen Areale stammt jedoch von einer anderen nacheiszeitlichen Einwanderung und z.T. auch aus anderen eiszeitlichen Refugien.

Aus den Ergebnissen dieser genetischen Vergleichsuntersuchungen läßt sich der Schluß ziehen, daß zur Wiederaufforstung des Erzgebirges (und evtl. des Thüringer Waldes) möglichst Vermehrungsgut aus dem osteuropäischen Tannenareal verwendet werden soll, obwohl die Weißtanne des Schwarzwaldes und anderer Areale Westeuropas eine wesentlich höhere Diversität an den analysierten Enzym-Genloci aufweist. Da die Werte der Diversität nicht unbedingt mit dem adaptiven Potential einer Population gleichzusetzen sind, sollten zur Abschätzung einer längerfristigen (evolutionären) Anpassungsfähigkeit einer Population andere Parameter herangezogen werden, wie z.B. das latente adaptive Potential (LP, siehe BERGMANN et al., 1990). Das LP entspricht der Differenz zwischen Anzahl Allele und Diversität (effektive Anzahl Allele) und repräsentiert damit die Menge der selteneren Allele, die unter Umständen bei größeren Umweltverschiebungen zu adaptiven Allelen werden und für die Anpassung der Population Bedeutung erlangen können.

In der Tabelle 22 sind für einige Weißtannenpopulationen die LP-Werte für den Genpool (Mittelwerte über 10 polymorphe Genloci) aufgeführt und man sieht, daß die Erzgebirgspopulationen die weitaus höchsten Werte besitzen, während die Schwarzwaldpopulationen die niedrigsten Werte aufweisen. Die LP-Werte der polnischen Populationen ähneln eher denen des Erzgebirges. Auch dieser Befund spricht dafür, kein Vermehrungsgut aus dem südwestdeutschen Areal zur Wiederaufforstung des Erzgebirges zu verwenden.

Tab. 22: Werte des latenten genetischen Potentials (LP) bezogen auf den Genpool für sieben Populationen

Population	LP-Wert für Genpool
Bärenfels	0,869
Lauter	0,789
Bad Schandau	0,610
Miedzygorze	0,628
Ladek	0,696
Ottenhöfen	0,566
Nagold	0,537

Wie die Ergebnisse im Projektteil A gezeigt haben, ist die Inzuchtdepression in den letzten Samenproduktionen sehr hoch, was sich in einem sehr hohen Hohlkornanteil und nur geringer Keimkraft bei den restlichen vollen Samen widerspiegelt. Im Gegensatz hierzu steht der hohe Anteil an Fremdbefruchtungsnachkommen, die unter der Naturverjüngung einer Altanne gefunden wurden (siehe Tabelle 21). Da dieser Anteil von etwa 80% auf der Analyse von nur fünf polymorphen Genloci basiert, muß er als Minimalwert eingeschätzt werden, d.h. der Anteil an

Fremdbefruchtungsnachkommen wird wahrscheinlich höher, vielleicht über 90% liegen. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Alttannen im Polenztal, gemischt mit anderen Baumarten, relativ weit auseinander stehen, was eher für eine höhere Selbstungsrate spricht.

Für diese primär widersprüchlichen Ergebnisse können verschiedene Ursachen verantwortlich sein. Einmal könnte auch bei einer hohen Selbstbefruchtungsrate ein Großteil (oder alle) der Selbstungsnachkommen im Verlauf der frühen Ontogenese durch Selektion ausgemerzt werden, so daß in späteren Jahren nur noch weitgehend fremdbefruchtete Tannen in den Populationen existieren. Zum anderen wäre auch denkbar, daß die als Inzuchtdepression angesehenen Reproduktionsausfälle tatsächlich nicht so sehr durch Selbstbefruchtung verursacht werden, sondern durch Störungen der Befruchtungsvorgänge infolge starker Immissionsbelastung, wie dies für andere Waldbaumarten mehrfach nachgewiesen wurde (VENNE et al., 1989). Die im Polenztal wachsenden jüngeren Tannen entstammen vielleicht Samenproduktionen, die weniger durch Immissionseinwirkung belastet waren. Letztendlich muß auch in Betracht gezogen werden, daß die untersuchte Naturverjüngung im Polenztal nicht allein von der Alttanne A abstammt (evtl. sind einige Mutterbäume vor mehr als 20 Jahren abgestorben) und somit auch nicht als aus Fremdbefruchtung entstandene Nachkommen angesehen werden darf. Dagegen spricht allerdings, daß bis auf ein Individuum alle anderen Jungtannen ein Allel aller untersuchten Genloci mit dem Altbaum A gemeinsam haben, was z.B. mit den Alttannen B und C nicht der Fall ist.

3.7 Literatur

- BERGMANN, F. 1991: Isoenzyme gene markers. In: MÜLLER-STARCK, G. and M. ZIEHE (eds.). Genetic Variation in European Populations of Forest Trees. J. D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt/M., pp. 67-78.
- BERGMANN, F., H.-R. GREGORIUS and F. SCHOLZ 1989: Isoenzymes, indicators of environmental impacts on plants or environmentally stable gene markers? In: SCHOLZ, F., H.-R. GREGORIUS and D. RUDIN (eds.): Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 17-28.
- BERGMANN, F., J. B. LARSEN and H.-R. GREGORIUS 1990: Genetische Variation in verschiedenen Arealen der Weißtanne *Abies alba* Mill. In: HATTEMER, H.H. (Hrsg.): Erhaltung forstlicher Genressourcen. Schriften aus der Forstl. Fakultät d. Univ. Göttingen, Bd. 98, S. 130-140.
- GREGORIUS, H.-R. 1989: The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Math. Bioscience* 41, 253-271.
- HARTIG, M. 1986: Zur Bedeutung der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in den sächsisch-thüringischen Mittelgebirgen. *Naturschutzarbeit in Sachsen* 28, 33-42.
- KRAL, F. 1980: Waldgeschichtliche Grundlagen für die Ausscheidung von Ökotypen bei *Abies alba*. 3. Tannensymposium Wien, 158-168.
- LEONHARDT, U. 1993: Zur Situation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Sachsen und Maßnahmen der forstlichen Generhaltung. *Forstarchiv* 64, 83-87.
- THORMANN, R. and B. R. STEPHAN 1993: Interpretation of isozyme patterns of malate dehydrogenase in Scots pine using two different staining methods. *Silvae Genetica* 42, 5-8.
- VENNE, H., F. SCHOLZ and A. VORNWEG 1989: Effects of air pollutants on reproductive processes of poplar (*Populus* spp.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). In: SCHOLZ, F., H.-R. GREGORIUS and D. RUDIN (eds.). Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 17-28.

4. Teil C

4.1 Zielsetzung

Das **Paarungssystem** von Waldbaumpopulationen entscheidet über die Kombination von Allelen zu Genotypen und damit auch über die **Weitergabe genetischer Variation** von den Elterngenerationen an die Nachkommenschaften.

Ein geringer Heterozygotiegrad, wie er in den bedrohten mitteleuropäischen Weißtannenpopulationen anhand von Isoenzym-Genmarkern festgestellt wurde (BERGMANN, 1991), läßt in diesem Zusammenhang zwei fundamentale Rückschlüsse zu:

- a) die genetische Vielfalt der betreffenden Populationen ist allgemein gering und/oder
- b) es liegen Störungen im Paarungssystem vor, wie z.B. geringe reproduktionseffektive Populationsgröße, große Entfernung der paarenden Elternindividuen zueinander, sexuelle Asymmetrie, umweltbedingte Fertilitätsselektionen.

Die unter a) genannte Voraussetzung ist durch Untersuchungen der genetischen Struktur bestätigt worden. Danach zeigen mitteleuropäische Weißtannenpopulationen eine im Vergleich zu südeuropäischen Populationen deutlich geringere genetische Vielfalt (BERGMANN et al., 1990).

Zu b): Ökologisch-genetische Untersuchungen zum Reproduktionssystem unter Schadstoffeinfluß konnten bisher folgendes zeigen. Bei der Kiefer ist ein Zusammenhang zwischen Zapfenzahl und Bonitur der Waldschadenserhebung belegt (THORMANN und SCHOLZ, in Vorbereitung). Andere Untersuchungen ergaben, daß Reproduktionssysteme im besonderen Maße selektionsempfindlich sind. So wurde unter dem Einfluß von Schadstoffen eine unterschiedliche genotypenabhängige Fertilität beobachtet (VENNE et al., 1989; SCHOLZ und VENNE, 1992).

Die in Teilvorhaben A und B ermittelten geringen Heterozygotiegrade der erzgebirgischen Tanne treten oft mit phänotypischen Merkmalen einer Inzuchtdepression (siehe Teilvorhaben A) auf. Teilvorhaben C widmet sich der Untersuchung der beobachteten Phänomene auf der Basis von Elternschaftsanalysen. Am Beispiel einer Reliktpopulation sollen Elternschaftsanalysen räumliche und zeitliche Verteilungen elterlicher Allele in den Nachkommenschaftspopulationen aufzeigen. Eine derartige Analyse läßt Rückschlüsse auf zurückliegende Ereignisse und somit auch auf Störungen im Reproduktionsgeschehen der untersuchten Tannenpopulationen zu. Beispielhaft werden dann auch in den ausgewählten Reliktpopulationen die Anzahl der Selbstungsnachkommen bzw. der Grad der Inzucht zu ermitteln sein.

Im Teilvorhaben C wird hierzu ein neuer methodischer Weg beschritten. Mit Hilfe von molekularbiologischen Techniken soll die Zuordnung von Nachkommen zu ihren Eltern direkt auf Nukleinsäure-Ebene erfolgen. Die auf diesem Wege erzielten Ergebnisse werden mit denen in derselben Reliktpopulation auf Isoenzym-Ebene (Teilvorhaben B) gewonnenen Da-

ten verglichen. Der Vergleich bietet somit zugleich die Möglichkeit einer Verwendbarkeits- und Effizienzprüfung der neuen Methode.

Zusammen mit den Isoenzym-Daten können die Ergebnisse der molekularen Elternschaftsanalysen als Grundlagen für eine waldbauliche Gestaltung der Tannenwälder im Erzgebirge genutzt werden. Die abzuleitenden Vorgehensweisen haben dann insbesondere die waldbauliche Basis für ein die Weitergabe der genetischen Information gewährleistendes Paarungssystem im Blick.

Abbildung 13 zeigt eine Altbaum-Naturverjüngungs-Insel von Weißtanne im Polenztal, in einer der drei ausgewählten Reliktpopulationen für die Elternschaftsuntersuchungen.



Abb. 13: Altbaum-Naturverjüngungsinsel im Polenztal, Elbsandsteingebirge

4.2 Lösungsweg

Elternschaftsanalysen bzw. Abstammungsrekonstruktionen erfolgen über die genetische Zuordnung von Nachkommen zu ihren Eltern. Dies ist dann möglich, wenn die genetischen Merkmale der Nachkommenschaft, an welchen deren Eltern erkennbar sein sollen, bei allen als Eltern in Frage kommenden Altbäumen individuelle Unterschiede zeigen und detektierbar sind. Ferner muß gelten, daß die Weitergabe dieser genetischen Merkmale gemäß den Gesetzmäßigkeiten der Mendelschen Vererbung erfolgt.

Die in der Populationsgenetik etablierte Methode zur Ermittlung der genetischen Struktur von Waldbaumpopulationen stellt die Untersuchung von Isoenzym-Gensystemen dar. Die relativ geringe Anzahl verfügbarer Isoenzym-Gensysteme jedoch bedeutet, daß Isoenzymmuster für unsere Fragestellung nur begrenzt hilfreich sind. Gerade bei der Unterstellung von Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Elternbäumen in den betreffenden Reliktpopulationen erscheint es sinnvoll, die Suche nach genetischen Unterschieden auf sogenannte hypervariable Bereiche des Genoms zu lenken. Der Lösungsweg, der sich daraufhin für das Teilvorhaben C auftut, liegt in der Anwendung molekulargenetischer Methoden zur Detektion von Unterschieden direkt auf der Ebene der Nukleinsäure (**DNA-Polymorphismen**). Hierzu ist es erforderlich, die bereits für viele Bereiche der Pflanzenwelt etablierten molekularbiologischen Techniken zunächst für den "Waldbaum" Tanne und dann für die Fragestellung des Projektes verfügbar und anwendbar zu machen.

Da für das gesamte Genom eine unmittelbare Analyse der Basenabfolge und damit ein unmittelbares Erkennen von DNA-Polymorphismen nicht zweckmäßig ist, erstreckt sich die Suche nach DNA-Unterschieden auf das Erkennen von Längenunterschieden von DNA-Fragmenten. Letztere werden auf verschiedenen molekularbiologischen Wegen erzeugt, wobei diese Erzeugung natürlich wiederum auf Unterschieden in der Basenabfolge beruhen. Die zwei prinzipiell unterschiedlichen Zugänge zu den sogenannten Fragmentlängenpolymorphismen sind zum einen PCR-Techniken (PCR=Polymerase-Chain-Reaction), die z.B. zur Detektion von RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) führen. Alle anderen Verfahren basieren auf einer **Hybridisierung von DNA-Restriktionsfragmenten** mittels spezieller Sonden und dienen der Ermittlung von **RFLPs** (= Restriction-Fragment-Length-Polymorphisms). Die Methode der Wahl ist zunächst die letztgenannte, da die RFLPs eine unabdingbare Voraussetzung für Abstammungsrekonstruktionen erfüllen, sie sind nämlich kodominante Marker, d.h. jeder zu einem Locus gehörende DNA-Abschnitt wird im Pherogramm sichtbar (GILLET, 1992). Im folgenden ist das Prinzip der Fragmenthybridisierung dargestellt und erläutert.

4.2.1 Einführung in die Methode

Abbildung 14 zeigt in vereinfachter Form die zur Fragmenthybridisierung notwendigen Schritte.

Am Anfang der Prozedur steht die Isolierung der DNA. Es folgt das Schneiden der DNA mittels sogenannter Restriktionsendonukleasen. Hierbei erkennt das jeweilige Enzym seine DNA-Schnittstelle an einer spezifischen Sequenz von vier bis sechs Basenpaaren. Auf diese Weise entstehen DNA-Fragmente, deren unterschiedliche Länge wiederum auf individuellen Unterschieden in der Basenabfolge der DNA beruhen. Trennt man die Fragmente über ein Agarose-Gel elektrophoretisch auf, so sind auf Grund der Komplexität des Genoms die zahl-

reichen Fragmente nicht unterscheidbar, sie sind stattdessen über die gesamte Lauflänge des Gels lediglich als “Schmier” erkennbar (vgl. Abbildung 17).

Das “Unterscheidbarmachen” der Fragmente erfordert die folgenden Schritte. Die DNA-Fragmente werden noch im Agarose-Gel einzelsträngig gemacht und dann unter Wahrung ihrer Lage zueinander auf eine Hybridisieremembran übertragen. Anschließend können bestimmte Fragmente “sichtbar” gemacht werden, indem eine zuvor markierte einzelsträngige DNA aus einem Organismus derselben Art (= homologe Sonde) oder aus einem Organismus einer anderen Art (= heterologe Sonde) mit der zu untersuchenden DNA hybridisiert wird. Dieses Verfahren wird Southern Blot genannt. Die Markierung der im Vorhaben eingesetzten DNA-Sonden erfolgte auf nicht-radioaktive Weise, d.h. die von der markierten und hybridisierten Sonde ausgehenden Signale werden als Chemiluminiszenz auf einem Röntgenfilm aufgefangen. Individuelle Unterschiede zwischen einzelnen Bäumen dokumentieren sich auf dem Röntgenfilm letztlich in einem Muster unterschiedlich lokalisierter Banden (Fragmentlängenpolymorphismen). Die Individuen hinterlassen auf diese Weise ihren spezifischen genetischen Fingerabdruck (DNA-Fingerprinting) und können nun miteinander verglichen werden.

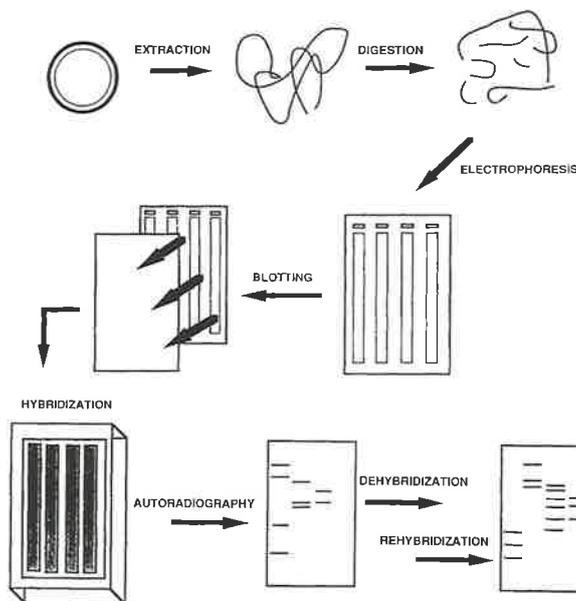


Abb. 14: Schematische Übersicht über das Verfahren der Fragmenthybridisierung

4.2.2 Erkenntnisstand

Neuere molekularbiologische Methoden finden bisher auf zwei Ebenen Eingang in genetische Untersuchungen an Waldbaumarten:

a) Strukturanalysen der DNA

Im Rahmen von forstgenetischen Fragestellungen dienen Strukturanalysen der DNA allgemein der Ermittlung genetischer Variabilität; und zwar sowohl der Ermittlung von interspezifischer

Variabilität als auch der Erfassung von genetischer Variabilität zwischen und innerhalb von Waldbaumpopulationen. Für das Koniferen-Genom liefern NEALE und WILLIAMS (1991) eine Übersicht zur Kartierung von Restriktionslängenpolymorphismen und deren Einsatzmöglichkeiten in der Forstgenetik und in der Forstpflanzenzüchtung.

Speziell zur interspezifischen genetischen Variabilität liegen Untersuchungen vor, welche anhand von zumeist RFPLs der Chloroplasten-DNA (cpDNA) phylogenetische Beziehungen zwischen Arten einer Gattung beleuchten (SZMIDT et al., 1991; WANG et al., 1991; KORMUTÁK et al., 1993). Chloroplasten-DNA wird ebenfalls mit Blick auf eine molekular-genetische Unterscheidbarkeit von Stiel- und Traubeneiche (KREIKE et al., 1991; PETIT et al., 1993b) untersucht. Daneben werden Analysen der cpDNA zur Beschreibung von Genflüssen zwischen Arten und somit vor allem zur Beschreibung von Introgressionszonen herangezogen (WAGNER et al., 1987).

Zur Ermittlung der genetischen Diversität von Waldbaumarten auf Populationsebene werden zunehmend molekularbiologische Methoden eingesetzt. Im Rahmen eines EU-Projektes "Entwicklung und Anpassung molekulargenetischer Screeningmethoden zur Erfassung genetischer Diversität von Waldbaumarten" widmen sich 12 Teilnehmer aus sechs europäischen Ländern der Methodenoptimierung. Unter der Koordinierung des Institutes für Forstgenetik der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft (F. SCHOLZ) werden an ausgewählten Leitbaumarten europäischer Waldökosysteme DNA-Polymorphismen identifiziert und der genetischen Analyse unterzogen. Zu den ausgewählten Waldbaumarten zählt auch die europäische Weißtanne.

Parentalanalysen auf Nukleinsäureebene, wie im vorliegenden Teilvorhaben zu erarbeiten, liegen für Waldbaumarten noch nicht vor. Einzig aus einer DNA-Fingerprinting-Untersuchung beim Apfel geht hervor, daß in einer Samenplantage, bestehend aus drei verschiedenen Apfelsorten, innerhalb einer ausgewählten Stichprobe von Sämlingen die Väter identifiziert werden konnten (NYBOM und SCHAAL, 1990). Wenn, wie in unserem Fall, innerhalb einer Population Elternschaftsanalysen durchgeführt werden sollen, ist die hierfür erforderliche Detektion von DNA-Polymorphismen auf Individuumebene ein erster und notwendiger Schritt. Hierzu liegen für einige Waldbäume mittlerweile Ergebnisse vor. Eine kurze Literaturauswahl soll im folgenden gegeben werden: Pinus: HONG et al., 1993; DONG und WAGNER, 1994; KARVONEN und SAVOLAINEN, 1994; Picea: HEINZE, 1993; Populus: STOEHR und SINGH, 1993; Quercus: PETIT et al., 1993a.

b) Über Strukturanalysen hinausgehende Untersuchungen der Nukleinsäuren finden sich in jüngster Zeit bei molekularbiologischen Experimenten zur Genexpression. Hier wurden bei verschiedenen Baumarten unter Schadstoffbelastung differentielle schadstoffinduzierte Genexpressionen festgestellt (SCHNEIDERBAUER et al., 1989; ETSCHIED et al., 1993).

4.3 Material

Für die Elternschaftsanalysen im Teilvorhaben C wurde von Forschungspartner A Nadelmaterial aus drei Reliktpopulationen (I - III) zur Verfügung gestellt:

MATERIAL I:	Polenztal (Forstamt Lohmen; Revier Hohenstein) - Elbsandsteingebirge
Altbaum A	16 Tannen aus Naturverjüngung (Alter < 20 Jahre)
Altbaum B	9 Tannen aus Naturverjüngung (Alter < 20 Jahre)
MATERIAL II:	NSG Riedert (Forstamt Schönheide; Revier Torfhaus)
15 Altbäume	20 Tannen aus Naturverjüngung
MATERIAL III:	Forstamt Lauter; Revier Conradswiese
Altbaum Nr. 351	23 Tannen aus Naturverjüngung

Die Charakterisierung dieser Reliktbestände findet sich im Bericht des Forschungspartners A. Das Nadelmaterial wurde sofort nach Beerntung tiefgefroren, in diesem Zustand transportiert und gelagert.

Um die molekularbiologischen Arbeiten zunächst an der Baumart Tanne zu etablieren, wurde Material aus dem Arboretum im Institutsgelände eingesetzt. Hierbei handelt es sich um folgende Herkünfte:

1. Weißtanne (*Abies alba* Mill.) Forstamt Bodenmais - Bayerischer Wald
2. Weißtanne (*Abies alba* Mill.) Rospa Sorba - Korsika
3. Weißtanne (*Abies alba* Mill.) Lukow-Jata und Lukow-Mrocki - Polen

4.4 Methoden und Ergebnisse

4.4.1 DNA-Isolierung

Die Isolierung von genomischer DNA aus den Nadeln der Tanne stellte eine erste große methodische Hürde dar. Die für andere Pflanzenarten erfolgreich eingesetzten Standard-Extraktionsverfahren scheiterten bei der Tanne zunächst aufgrund deren hoher Gehalte an Phenolen, Terpenen und Harzen sowie Polysacchariden. Auf der biochemischen Grundlage eines von GUILLEMAUT und MÁRECHAL-DROUARD (1992) entwickelten Verfahrens konnten die eigenen DNA-Extraktionen biochemisch und vor allem technisch optimiert werden. So können nach dem eigenen Verfahren (ZIEGENHAGEN et al., 1993) auf der Basis nur geringer Nadeln einwaagen sowohl die Extraktionseffizienz im Eppendorf-Gefäß-Maßstab auf ein Vielfaches gesteigert als auch gleichzeitig die Kosten gesenkt werden. Dies ist wegen der für die Fragestellung zu untersuchenden hohen Individuenzahl unabdingbar.

Ergebnis:

Im Minipräparationsverfahren wurden im Mittel (ca. 300 Wiederholungen) 80 mgDNA/g Nadelfrischgewicht gewonnen, maximal konnte eine Ausbeute von 200 mgDNA/g Nadelfrischgewicht erzielt werden. Im Gegensatz zu KREIKE (1990), welcher DNA erfolgreich aus den Plumulae der Knospen von *Abies alba* extrahiert, hat die Extraktion der DNA aus der Nadel den Vorteil, daß sie aus **ganzjährig** vorhandenem Gewebe erfolgt. Bei der Knospenextraktion besteht außerdem die Gefahr, daß sehr junge Individuen durch die Knospenbeerntung letal geschädigt werden könnten. Diese Gefahr besteht jedoch nicht bei dem von uns entwickelten Verfahren, welches auf extrem geringen Ausgangsmengen basiert. Tabelle 23 stellt einmal die herkömmlichen Verfahren der eigenen entwickelten Minipräparationstechnik gegenüber.

Tab. 23: Gegenüberstellung herkömmlicher Verfahren zur entwickelten DNA-Minipräparationstechnik

<p>Herkömmliche DNA-Extraktion</p> <p>Equipment: Flüssiger Stickstoff Mörser, Sand</p> <p>Einwaage: 1-10 g Nadelfrischgewicht</p> <p>Homogenisierung von 1 Probe (=1 Individuum) innerhalb von 8-10 Minuten</p>	<p>Minipräparation (ZIEGENHAGEN et al., 1993)</p> <p>Equipment: Flüssiger Stickstoff RENTSCH-Schwingmühle mit 2 Teflon- aufnahmegefäßen für je 5 Reaktionsgefäße (1,5-2,0 ml)</p> <p>Einwaage: 200-300 mg Nadelfrischgewicht entsprechend 15-30 Nadeln</p> <p>Homogenisierung von 10 Proben (=10 Individuen) innerhalb von 6 Minuten</p>
	
<p>Erhöhung der Effektivität durch Verkürzung der Homogenisierungsdauer um 1/10 bis 1/12</p>	
<p>Anschließende Untersuchungsschritte in großvolumigen Gefäßen (20-50 ml)</p>	<p>Anschließende Untersuchungsschritte in Reaktionsgefäßen (1,5-2,0 ml)</p>
	
<p>Erhöhung der Effektivität durch Zeitersparnis bei Zentrifugations- und Pipettierschritten und Kostensparnis durch Minimierung der eingesetzten Chemikalien</p>	

Abbildung 15 zeigt in einer Frontansicht die zur Homogenisierung der Nadeln eingesetzte Schwingmühle, welche wesentlich zu der Effektivitätssteigerung des DNA-Aufschlusses beiträgt.

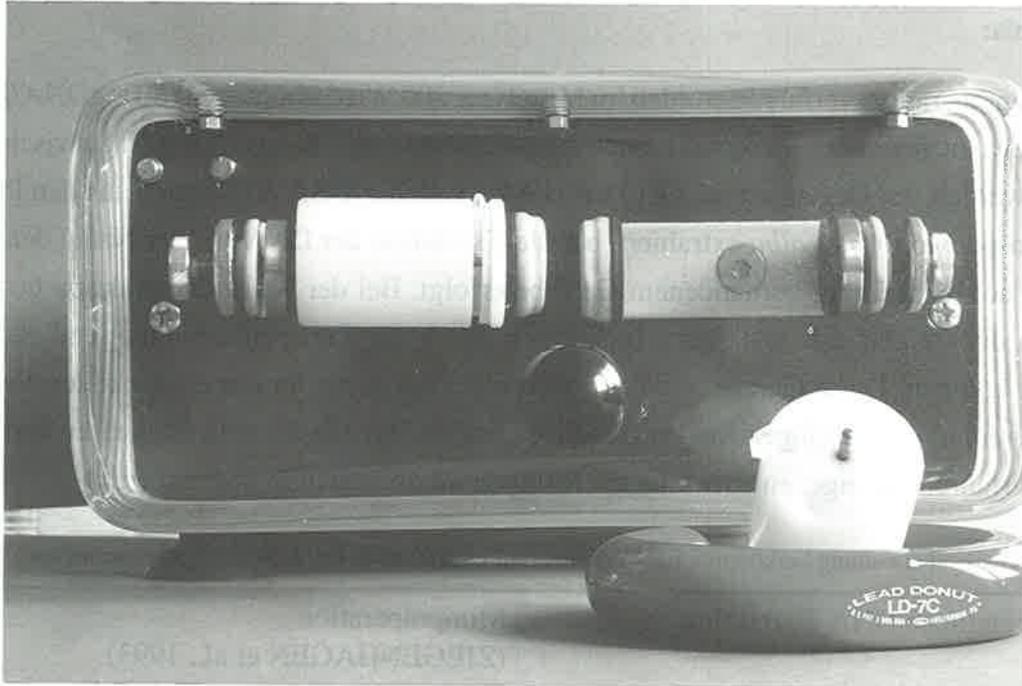


Abb. 15: Frontansicht der Schwingmühle. Zusätzlich Blick in das offene Teflon-Gefäß mit 5 Bohrungen zur Aufnahme von Eppendorf-Gefäßen.

Abbildung 16 dokumentiert das Ergebnis der DNA-Extraktion auf dem Agarose-Gel. Hochmolekulare DNA ist im Bereich von ca. 23 KB des DNA-Längenstandards als distinkte Bande zu erkennen.

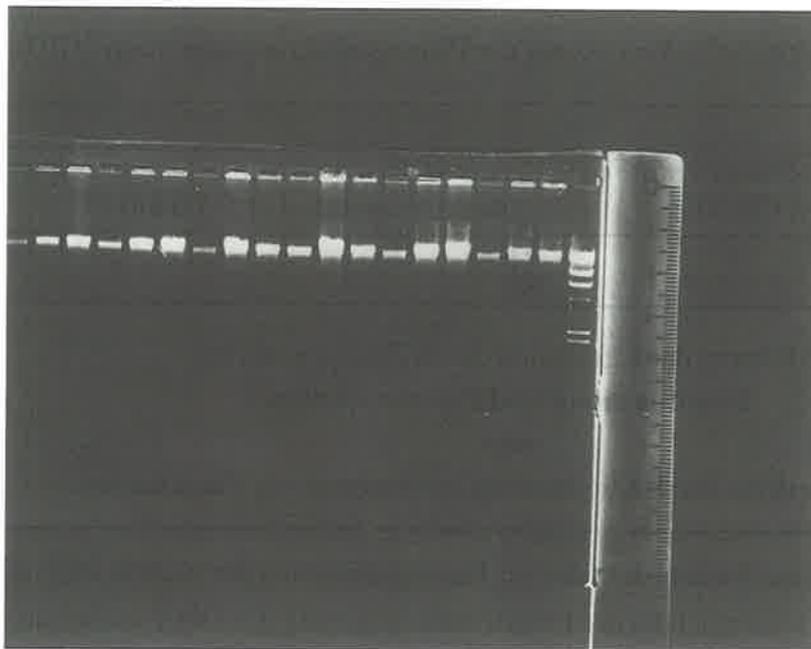


Abb. 16: Ungeschnittene hochmolekulare DNA nach der Extraktion in jeweils 3 Verdünnungen. Spuren 1-18 genomische DNA, M= Längenstandard (λ Hind III).

4.4.2 Restriktion der DNA

Die gewonnene genomische Tannen-DNA hat eine Länge von im Mittel 23-30 KB und erweist sich für nahezu alle von uns verwendeten Restriktionsenzyme als komplett schneidbar. Dieses ist die entscheidende Voraussetzung für die Detektion von genetischen Unterschieden. Der sogenannte "Dau" (Digestion) der DNA durch eine Vielzahl von Enzymen erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auffinden von Schnittstellen, an denen sich Individuen durch eine Veränderung in der speziellen Erkennungssequenz für das jeweilige Enzym unterscheiden könnten. Betrachtet man die Wahrscheinlichkeit, Polymorphismen zu detektieren, als eine Funktion von zwei variablen Größen, so stellen die Restriktionsenzyme die eine und die später zu beleuchtenden DNA-Sonden die andere variable Größe dar. Vor diesem Hintergrund wurde zunächst eine Vielzahl von Schneideexperimenten mit der Tanne durchgeführt.

Ergebnis:

Die insgesamt gute Schneidbarkeit der Tannen-DNA bestätigt rückwirkend auch die gute Qualität der extrahierten genomischen DNA. Folgende in der Molekularbiologie häufig verwendete Restriktionsenzyme wurden eingesetzt:

Kpn I, Eco RV, Xba I, Hind III, Bam HI, Pvu II, Eco RI, Sma I, Pst I, Sac I, Dra I
Hinf I
Rsa I, Msp I, Taq I, Alu I, Hae III, Mbo I

Die Enzyme *Kpn I* bis einschließlich *Dra I* sind sogenannte 6er cutter, d.h. ihre Erkennungssequenz besteht aus einer Kombination von sechs Basen, *Hinf I* ist ein 5er cutter, und die Enzyme *Rsa I* bis einschließlich *Mbo I* stellen 4er cutter dar.

Von den auf Schneidfähigkeit geprüften Enzymen fielen *Kpn I*, *Xba I* und *Msp I* aus allen anschließenden Untersuchungsschritten heraus, da sie kein befriedigendes "Dau-Ergebnis" zeigten. Abgesehen davon, daß es sich hierbei um "sensible" Enzyme handelt, die oftmals bereits hochempfindlich auf suboptimale Pufferbedingungen reagieren, können auch Methylierungen der DNA für ein Versagen der Enzyme verantwortlich sein. Dieses ist um so eher wahrscheinlich, je methylierungssensitiver die Enzyme sind.

Beim Einsatz der Enzyme zeigte sich auch in unseren Experimenten, daß die 4er cutter im Vergleich mit den 5er cuttern und vor allem im Vergleich mit den 6er cuttern eine relativ höhere Anzahl kleinerer DNA-Fragmente liefern. Mehrfache Wiederholungen der DNA-Extraktion am selben Individuum ergaben nach dem Schnitt der DNA reproduzierbare Laufmuster für das jeweilige Enzym. Die Reproduzierbarkeit der Laufmuster ist ein erster Hinweis darauf, daß die entstandenen Fragmente auf den Schnitt der Restriktionsenzyme und nicht auf mechanische bzw. auf unspezifische enzymatische Abbauprozesse während der Extraktion zurückzuführen sind. Ein zweiter und exakterer Beleg für die im eigenen Experiment gewährleistete Wiederholbarkeit findet sich in Kap. 4.4.5. Hier wird die aus jeweils zwei verschiedenen Aufschlüssen

extrahierte DNA ein und desselben Genotyps hybridisiert, wobei die Hybridisierungsprodukte, sichtbar als Bandenmuster, exakt dieselben sein müssen.

Abbildung 17 zeigt exemplarisch typische Laufmuster von DNA, die mit verschiedenen Restriktionsenzymen geschnitten wurde. Die "gedaute" DNA, mit von oben nach unten abnehmenden Fragmentlängen, ist wegen der großen Zahl unterschiedlicher Längen als "Schmier" sichtbar.

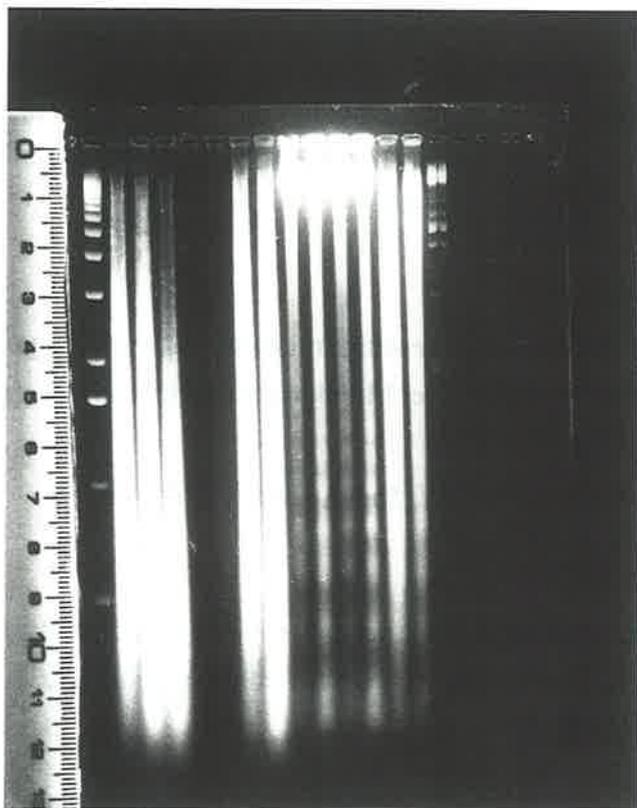


Abb. 17: Typische Restriktionsmuster von Tannen-DNA. 1-2 *Alu I*, 3-5 *Mbo I* 4-5 (ausgefallen), 6-7 *Hae III*, 8-9 *Eco RI*, 10-11 *Xba I*, 12-13 *Taq I*, M= Längenstandard (KB Ladder).

4.4.3 Wahl der Sonde

Für die Weißtanne stehen noch keine homologen Sonden zur Verfügung. Es mußte daher auf heterologe Sonden bzw. auf synthetische Sonden zurückgegriffen werden. Immer bedeutet die Verwendung von nicht-homologen Sonden einen zusätzlichen Aufwand an Optimierung, vor allem für die Optimierung der Hybridisierungsbedingungen. Dieses gilt besonders im vorliegenden Fall, wenn in Ermangelung eines Isotopenlabors eine nicht-radioaktive Markierung der DNA-Sonden vorgenommen werden muß. Für nicht-radioaktiv markierte Sonden wurde oftmals eine geringere Sensitivität beim Auffangen der Signale auf dem Röntgenfilm unterstellt. Wenngleich eine Vielzahl von Untersuchungen dieses nunmehr widerlegt (ALLEFS et al., 1990; NEUHAUS-URL und NEUHAUS, 1993), so erfordert das Arbeiten ohne Radioaktivität immer noch zusätzliche und aufwendige Anpassungsschritte an das jeweilige Versuchsobjekt.

Die Sonde stellt nach dem Restriktionsenzym die zweite variable Größe dar, wenn es darum geht, eine für die Fragestellung optimale Fragmenthybridisierung vorzunehmen. Prinzipiell stehen für Fragmenthybridisierungen folgende Sonden zur Verfügung:

- a) single-copy-Sonden
- b) high-copy-Sonden

zu a) **Single-copy-Sonden** entsprechen DNAs, welche in der Regel für ein "single-locus-Gen" kodieren. Für die Tanne im eigenen Experiment wurden zwei heterologe Sonden aus einer Fichten cDNA-Bank bereitgestellt (Institut für Physikalische Biologie der Universität Düsseldorf, Prof. Riesner). Diese Sonden schieden für unsere Fragestellung aus, da zu erwarten ist, daß ihr Informationsgehalt den einer Isoenzym-Untersuchung kaum übertreffen kann. D.h. selbst unter der Voraussetzung, daß die allelische Diversität des betreffenden Gens auf DNA-Ebene zu detektieren sei, sind die Individuen innerhalb eines Bestandes auf diese Weise wohl kaum zu unterscheiden.

Zu b) **High-copy-Sonden** sind DNAs, welche in hoher Kopienzahl im Genom der Organismen vorkommen. Es kann hierbei zwischen folgenden Sonden unterschieden werden. Zum einen treten diese DNAs als sogenannte repetitive Sequenzen auf. D.h. kurze Motive von Nukleotidsequenzen (= **oligonukleotide Sequenzen**) liegen in hoher Kopienzahl im Genom vor. Von ihnen ist bekannt, daß sie nicht für Proteine kodieren. Ihre Funktion aber ist noch weitestgehend unerforscht. Von diesen DNA-Bereichen weiß man jedoch, daß sie hoch variabel sind. Als Sonde eingesetzt, können sie im sogenannten Fingerprinting ein ausgeprägtes Muster von vielen und zwischen Individuen deutlich unterscheidbaren Banden erzeugen. Was sich im humanen und tierischen Bereich deshalb als Methode der Wahl für Parentalanalysen erwiesen hat, ist im Pflanzenreich bisher "lediglich" zur Unterscheidung von Sorten und Rassen erfolgreich eingesetzt worden (BIERWERTH et al., 1992; BEYERMANN et al., 1992; WEISING et al., 1989). Obwohl zudem methodisch noch nicht an Waldbäume adaptiert, fiel auch für unsere Parentalanalyse bei nah verwandten Elterindividuen die Wahl auf kurze synthetisch hergestellte Nukleotidsequenzen mit folgenden Motiven: (GTG)₅, (GGAT)₄ und (GATA)₄.

Zum anderen gibt es im Genom der Organismen auch Gene in hoher Kopienzahl. Es handelt sich zumeist um Gene, die für Strukturproteine (z.B. Legumin) oder aber auch für ribosomale RNA kodieren. Bei der Wahl einer geeigneten Sonde entschieden wir uns ebenfalls für Fragmenthybridisierungen mit einer solchen **rDNA-Sonde** aus dem Weizen. Diese wurde von der Angewandten Molekularbiologie der Pflanzen der Universität Hamburg (Prof. LÖRZ) zur Verfügung gestellt und neben den o.g. oligonukleotiden Sonden auf ihre Eignung zur Lösung unserer Fragestellung geprüft. Folgende Überlegungen führten zur Wahl dieser Sonde, deren ausführliche Charakterisierung sich bei GERLACH und BEDBROOK (1979) findet. Die DNA, die für cytoplasmatische ribosomale RNA kodiert, tritt im Genom in der Regel als Zweier-Anordnungen von Strukturgenen auf. Diese wiederum befinden sich in bis zu 10⁴ Kopien im

pflanzlichen Genom und sind hier zumeist auf verschiedenen Chromosomen angeordnet. Nach Hybridisierungen mit einer solchen Sonde können also die für Fingerprints charakteristischen umfangreichen Bandenmuster auftreten. Die rDNA Sonden bestehen neben den o.g. Strukturgenen außerdem aus zwischen diesen gelegenen sogenannten "Zwischen-Gen-Abstandsstücken (= Intergenic Spacer = IGS). Im Anhang (i) ist die rDNA-Sonde aus dem Weizen schematisch dargestellt. Die Kombination von hoch konservativen Strukturgenen und dem IGS ließ die rDNA-Sonde für unsere Zwecke geeignet erscheinen. Zum einen erlaubt nämlich der extrem konservative Charakter der Strukturgene ein nahezu stringente Hybridisierung mit der DNA eines dem Weizen genetisch entfernten Organismus wie der Tanne. D.h. der Hybridisierungsprozess kann auf biophysikalische Bedingungen eingestellt werden, welche demjenigen theoretischen T_m (Schmelzpunkt) entsprechen, bei welchem keine Basenfehlpaarungen (=mismatches) zugelassen werden. Somit entfällt für den Faktor Hybridisierungstemperatur eine aufwendige Optimierung. Für den Bereich der Strukturgene ist auf der anderen Seite nicht zu erwarten, auf DNA-Polymorphismen zu stoßen. Alle Hoffnungen basierten deshalb auf den sogenannten Längenpolymorphismen des Abstandsstückes (Spacerlengthpolymorphisms). Diese wurden mit jeweils verschiedenen Restriktionsenzymen für mehrere Pflanzen gefunden und beschrieben (SAGHAI-MAROOF et al., 1984; LAURENT et al., 1993). In der neueren Literatur finden sich hierzu auch schon Untersuchungen bei Waldbaumarten (STOEHR und SINGH, 1993; KARVONEN und SAVOLAINEN, 1994).

4.4.4 Präparation und Markierung der Sonden

4.4.4.1 rDNA-Sonde

Die aus Organismen gewonnenen DNA-Sonden bedürfen im Gegensatz zu den synthetischen Sonden einer besonderen Präparation. Eine solche DNA wird zunächst in ein Plasmid einkloniert, mit diesem in rekombinanten Organismen, in der Regel in Bakterienstämmen, vermehrt und, nachdem eine ausreichende Menge Plasmid-DNA mit darin sich befindlicher Sonden-DNA vorhanden ist, wiederum im umgekehrten Verlauf aus Bakterium und Plasmid zurückgewonnen. Den letztgenannten Vorgang der Sonden-"Rückgewinnung" bezeichnet man als Plasmidpräparation.

Die im Experiment eingesetzte rDNA-Sonde erhielten wir als Bakteriensuspension von der Universität Hamburg. Nach einer erneuten Anzucht und Vermehrung der Bakterien wurde die plasmidische Präparation nach den in SAMBROOK et al. (1989) beschriebenen Standardverfahren durchgeführt.

Im Anschluß an die Plasmidpräparation wurde die Sonden-DNA (=Insert) mit derjenigen Restriktionsendonuklease aus dem Plasmiden "herausgeschnitten", mit welcher sie zuvor dort einkloniert worden war. In unserem Fall erfolgte das Herausschneiden der ca. 9KB langen rDNA-Sonde durch *ECO RI* aus dem Plasmiden. Nach der Auftrennung im Agarose-Gel muß die DNA-

Sonde als deutliche Bande in Höhe der 9KB Marke des Längenstandards zu erkennen sein. Im Anhang (i) findet sich die Fotodokumentation zur Plasmidpräparation.

Die als deutliche Bande im Agarose-Gel vorliegende Sonden-DNA muß im nächsten Schritt von der Gelmatrix befreit werden. Die Trennung von DNA-Sonde und Gelmatrix wurde mittels "GeneClean" und dem beiliegenden Protokoll der Firma BIO 101 vorgenommen (s.a. VOGEL-STEIN und GILLESPIE, 1979).

Die eigentliche Präparation der Sonde, nämlich ihre Markierung zwecks späterer Detektion auf dem Röntgenfilm, erfolgte als **nicht-radioaktive Markierung** mit dem **Digoxigenin-System** (BOEHRINGER, 1993). Diese Markierung basiert prinzipiell darauf, daß Nukleotide in die Sonden-DNA eingebaut werden, an welche spezifisch, nämlich über eine Antikörperreaktion, Substrate binden. Diese wiederum können Farbstoffe oder sogenannte chemilumineszente Stoffe aufnehmen, und somit wird der ganze Komplex sichtbar gemacht. Im einzelnen sind hier die folgenden Schritte zu nennen:

- Zunächst werden in die Sonden-DNA Nukleotid-Analoga (digoxigenin-11-dUTP) eingebaut. Der Einbau erfolgt randomisiert mittels eines speziellen Enzyms (Klenow-Enzyms). Digoxigenin ist ein im Fingerhut (*Digitalis purpurea*) vorkommendes Steroid.
- Nach der Hybridisierung von zu untersuchender DNA gegen die Digoxigenin-markierten Sonden-DNA erfolgt die Detektion der Hybridfragmente dadurch, daß im Zuge einer Immuninkubation ein Antikörper-Enzym-Konjugat (Anti-digoxigenin-Alkalische Phosphatase) spezifisch an die Nukleotidanaloga bindet. Die Alkalische Phosphatase kann wiederum die Bindung einer sogenannten chemilumineszenten Substanz (AMPPD) katalysieren. Dabei emittiert diese Substanz, die während des Prozesses gemäß einer Halbwertszeit zerfällt, Lichtstrahlung von geringer Dosis, welche auf einem Röntgenfilm aufgefangen werden kann (s.a. Schema der nicht-radioaktiven Markierung im Anhang ii).

4.4.4.2 Synthetische oligonukleotide Sonden

Oligonukleotide Sonden werden oftmals bereits digoxigenin-markiert auf dem Markt angeboten. Zwei solcher Sonden der Firma FRESENIUS standen im Experiment zur Verfügung: (GTG)₅ und (GGAT)₄. Eine dritte Sonde mit repetitiven Sequenzen, (GATA)₄, wurde im Forschungsinstitut Borstel synthetisiert und dem eigenen Labor zur Verfügung gestellt. Die Markierung der Sonde erfolgte wiederum prinzipiell nach der o.g. Methode, nur mit dem Unterschied, daß die Nukleotid-Analoga nicht randomisiert eingebaut werden, sondern ein solches Nukleotid jeweils an das Ende der 16 Basen der Sonde angehängt wird. Man nennt ein solches Verfahren auch "End labeling" (s.a. Schema im Anhang ii).

Die Markierung beider Sonden-Typen wird auf ihre Markierungseffizienz hin geprüft, indem Verdünnungsreihen sowohl einer markierten Kontroll-DNA als auch der markierten Sonde gegeneinander aufgetragen und verglichen werden (s.a. Abbildungen im Anhang iii)

4.4.5 Hybridisierung und Auswertung der Bandenmuster

Die Hybridisierung der geschnittenen DNA erfolgt nicht auf dem Agarose-Gel, sondern auf einer sogenannten Hybridisierungsmembran. Hierzu wird die DNA im Kapillarstrom so auf die Membran übertragen, daß die DNA-Fragmente exakt unter der Wahrung ihrer Lage zueinander auf der Hybridisierungsmembran zu liegen kommen. Für diesen sogenannten Transfer wurde das SSC-Standardverfahren (NICKERSON, 1993) angewandt, als Membranen die Biodyne A (Oligonukleotidhybridisierung) bzw. die Biodyne B (rDNA-Hybridisierung) der Firma PALL verwendet. In einem anschließenden Schritt wird die DNA auf der Membran fixiert. Im Falle der Biodyne A wurde im eigenen Experiment die DNA unter UV-Strahlung, im Falle der Biodyne B unter Wärmezufuhr (80-120°C) fixiert.

4.4.5.1 rDNA-Sonde

Nach einer Vielzahl von wiederholten Hybridisierungsexperimenten, konnte mittels des optimierten Protokolls von NEUHAUS-URL und NEUHAUS (1993) auch für die Tanne erstmalig eine erfolgreiche nicht-radioaktive Fragmenthybridisierung erreicht werden. Der zeitliche Aufwand für ein solches Verfahren kann daran ermessen werden, daß zunächst einmal von der Extraktion der DNA, über ihre die elektrophoretische Auftrennung nach dem Schnitt (1 Gel = bis max. 15 Proben) bis zur Entwicklung des Röntgenfilmes anderthalb bis zwei Wochen vergehen. Zudem gingen der ersten gelungenen Hybridisierung ca. 10 Hybridisierungsdurchläufe voraus. Damit war neben der äußerst schwierigen Extraktion der DNA aus den Nadeln auch eine zweite große Hürde genommen, d.h. die Tannen-DNA/rDNA-Hybridisierung konnte, wenn auch erst kürzlich, in die Routine gehen. Daraufhin wurden die Hybridisierungsexperimente in einer speziellen Reihenfolge vorgenommen.

1. Serie: Wahl geeigneter Restriktionsenzyme

Restriktion von DNA eines Genotypes mit allen im Labor verfügbaren Restriktionsenzymen. In der anschließenden Hybridisierung sollten dann solche Enzyme ausgewählt werden, welche im Bereich von ca. 5KB bis ca. 500bp deutlich unterscheidbare Hybridisierungsfragmente liefern. Zu diesem Zwecke wurde bzgl. der Restriktionsenzyme nach 4er/5er und 6er cuttern unterschieden, da beide unterschiedliche Gellaufbedingungen fordern. Während eine optimale Fragmentauftrennung bei den 4er/5er cuttern in 1.5%igen Agarose-Gelen möglich ist, läuft die mit 6er cuttern geschnittene DNA optimal in 0.7-0.8%igen Gelen.

2. Serie: Test auf Reproduzierbarkeit von Restriktion und Hybridisierung - Detektion von RFLPs bei Tanne aus räumlich weit entfernten Populationen

Nach der Auswahl "funktionierender" Enzyme erfolgt ein Vergleich der Fragmenthybridisierung zwischen zwei Genotypen. Gleichzeitig wird die Reproduzierbarkeit der entstehenden Banden geprüft, indem die Genotypen jeweils aus zwei verschiedenen DNA-Extraktionen stam-

men. Sind die Banden identisch, so kann als gesichert gelten, daß keine Artefakte hybridisiert werden, wie sie z.B. durch mechanische und/oder enzymatische Degenerierung der genomischen DNA während des Aufschlusses auftreten könnten. Erst an dieser Stelle ist, wie in Kap. 4.4.2 angedeutet, auch erst eine präzise Beurteilung über die Reproduzierbarkeit der vorangegangenen Restriktion möglich. Die Hybridisierungsexperimente der zweiten Serie wurden an Probetannen-DNA aus dem Arboretum bewerkstelligt. Dabei wurden, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, für das Tannen-Genom überhaupt Polymorphismen zu detektieren, Individuen aus Populationen gewählt, die zum einen einen großen räumlichen Abstand voneinander haben, bzw. für die zum anderen verschiedene eiszeitliche Refugien angenommen werden können. In unserem Falle wurden Genotypen aus südeuropäischen Populationen einerseits und östlichen Populationen (Bayerischer Wald, Erzgebirge, Polen) andererseits eingesetzt.

3. Serie: Detektion von RFLPs beim Probematerial

In dieser Serie werden zuletzt diejenigen Enzyme, welche Fragmentlängenpolymorphismen hervorbringen, am Erzgebirgsmaterial selber daraufhin geprüft, ob sie für unsere Fragestellung hinreichend viele Polymorphismen generieren. Eine anschließende genetische Analyse der polymorphen Fragmente muß zuletzt sicherstellen, daß die RFLPs gemäß den Mendelschen Gesetzmäßigkeiten spalten.

Experimente zu Serie 1: Wahl geeigneter Restriktionsenzyme

Auf den nächsten beiden Seiten werden an **einem** Genotyp der Tanne (Probematerial aus dem Arboretum, Tanne aus dem Bayerischen Wald) die Hybridisierungstests auf der Basis aller verfügbarer Restriktionsenzyme demonstriert.

Dabei stellen die Abbildungen 18a und 18b die Ergebnisse der Hybridisierung von Tannen-DNA, welche mit 4er cuttern geschnitten wurde, dar. Ausgehend von jeweils 10 mg Tannen-DNA, erfolgte der enzymatische Schnitt mit 3 Einheiten (=units) Restriktionsenzym pro mg Tannen-DNA. Die geschnittene DNA wurde auf ein 1.5%iges Agarose-Gel aufgetragen und bei 1.5 - 2 Volt/cm Lauflänge des Gels aufgetrennt. Die nach NEUHAUS-URL und NEUHAUS (1993) praktizierte Hybridisierung wurde mit 40 ng/rDNA-Sonde pro ml Hybridisierungslösung durchgeführt.

Die Abbildungen 19a und 19b demonstrieren den Hybridisierungstest mit 6er cuttern. Es gelten dieselben Bedingungen wie bei den 4er cuttern, mit zwei Ausnahmen. Zum einen erfolgte die Auftrennung der geschnittenen DNA in einem 0.8%igen Agarose-Gel. Zum anderen erwies sich eine Konzentration von 20 ng rDNA-Sonde pro ml Hybridisierungslösung als ausreichend. Zusätzlich zum Hybridisierungstest wurde bereits teilweise ein Vergleich der Bandenmuster des ausgewählten Genotyps (Tanne aus dem Bayerischen Wald) aus zwei verschiedenen DNA-Extraktionen durchgeführt, und damit den Experimenten der zweiten Serie, dem Test auf Reproduzierbarkeit, vorgegriffen.

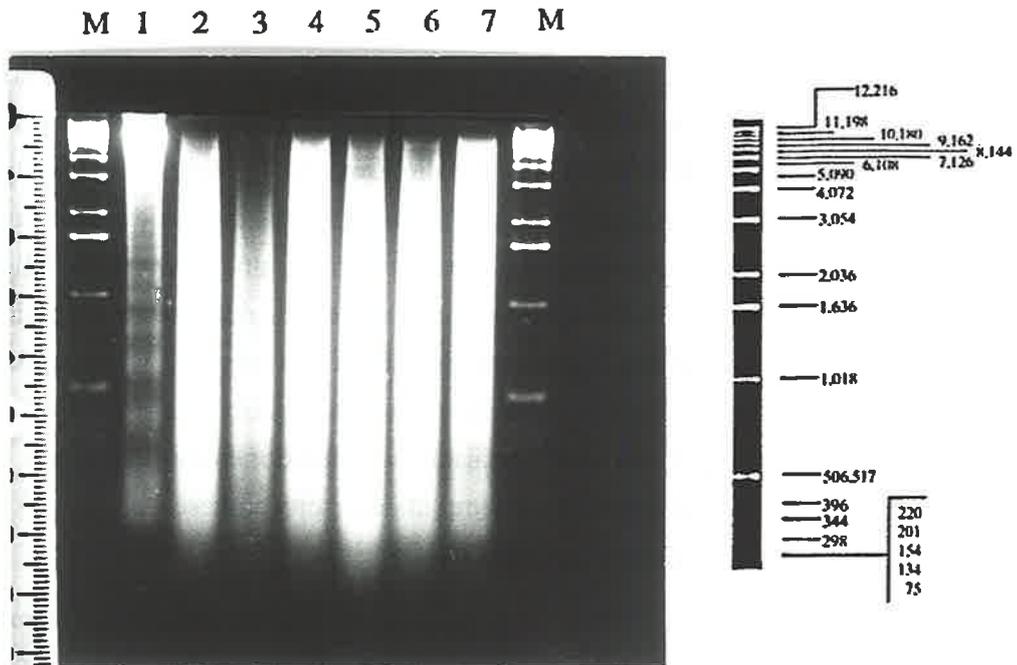


Abb. 18a: Restriktionsmuster der mit 4er cuttern geschnittenen Tannen-DNA. 1 *Msp I*, 2 *Rsa I*, 3 *Mbo I*, 4 *Hae III*, 5 *Alu I*, 6 *Hinf I* (*Ser cutter*), 7 *Taq I*, M= Längenstandard (KB-Ladder).



Abb. 18b: Hybridisierungsmuster der mit 4er cuttern geschnittenen Tannen-DNA. Die Spuren 1-7 entsprechen denjenigen aus Abb. 18a.

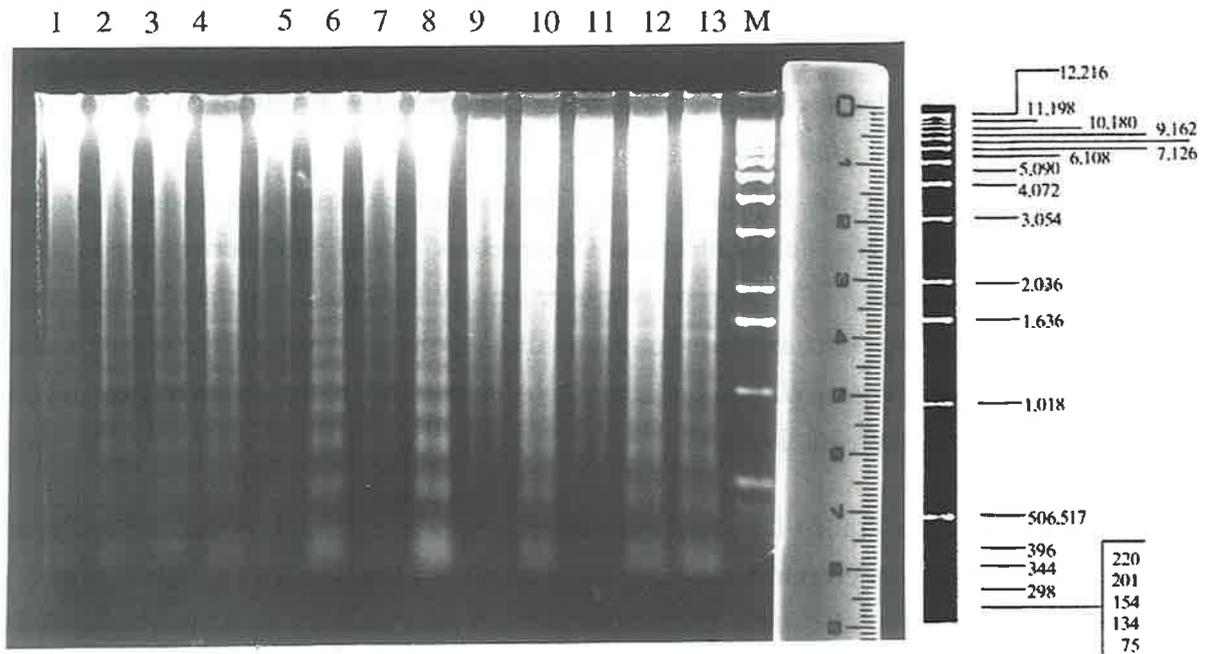


Abb. 19a: Restriktionsmuster der mit 6er cuttern geschnittenen Tannen-DNA. 1 *Kpn I*, 2 *Pvu II*, 3 *Sma I*, 4 *Sac I*, 5-6 *Pst I*, 7-8 *Eco RI*, 9-10 *Hind III*, 11-12 *Eco RV*, 13 *Bam HI*, M= Längenstandard (KB-Ladder). Die doppelt belegten Restriktionen beziehen sich auf jeweils zwei verschiedene Aufschlüsse.

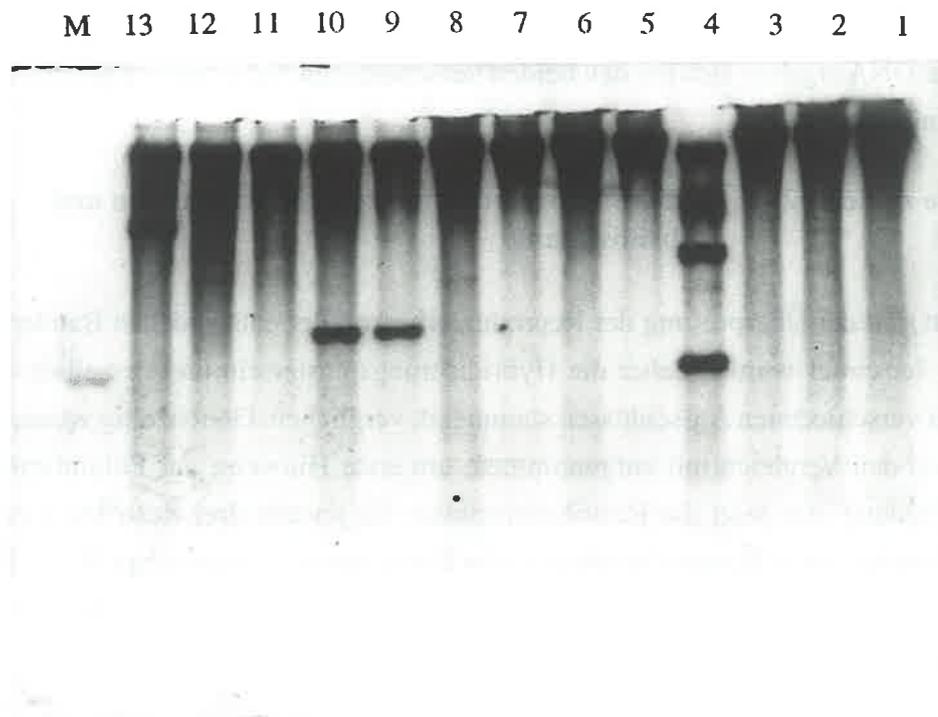


Abb. 19b: Hybridisierungsmuster der mit 6er cuttern geschnittenen Tannen-DNA. Die Spuren 1-13 entsprechen denjenigen aus Abb. 19a, sind allerdings seitenvertauscht.

Auswertung der Bandenmuster aus Serie 1: Wahl der geeigneten Restriktionsenzyme

Der Restriktionstest mit den **4er cuttern** (Abbildung 18b) erbrachte distinkte Banden insbesondere für die Enzyme: *Rsa I*, *Hinf I* (5er cutter), *Mbo I* und *Alu I*. Diese Enzyme wurden daraufhin ausgewählt, zur Detektion von Polymorphismen bei der Tanne beizutragen (Experimente der Serie 2). Dagegen zeigte *Msp I* ein schlechtes "Dauergebnis". Die Hybridisierungsprodukte bei der mit *Taq I* geschnittenen DNA waren zwar über den gewünschten Fragmentlängenbereich von 5 KB bis 500 bp vorhanden, konnten aber nicht gut aufgelöst werden. Die Hybridisierungsbande bei *Hae III* geschnittener DNA eignen sich nicht, da sie diffus sind und im zu kleinen Fragmentbereich liegen.

Bereits beim Schnitt der Tannen-DNA mit **6er cuttern** (Abbildung 19a) fällt auf, daß nach dem Schnitt eine Verteilung der entstandenen Fragmente im oberen Bereich des Gels überwiegt, z.T. ist der Schnitt auch nur unvollständig. Dieses spiegelt sich auch nach der Hybridisierung mit der rDNA-Sonde wieder (Abbildung 19b). Die DNA-Sonde findet ihre Homologie in den langen Fragmenten nahe des Startpunktes auf dem Gel, dort, wo eine Auftrennung der Hybridisierungsprodukte nicht mehr möglich ist. Diejenigen Enzyme, welche geeignet scheinen, zusammen mit der Sonde unterscheidbare Hybridisierungsfragmente zu liefern, sind: *Bam HI*, *Hind III* und *Sac I*. Der erste Test auf Reproduzierbarkeit der Banden an Genotypen aus zwei verschiedenen Aufschlüssen verlief positiv, d.h. für die mit *Eco RV*, *ECO RI*, *Hind III* und *Pst I* geschnittenen DNA ergaben sich bei den beiden verschiedenen Aufschlüssen jeweils identische Hybridisierungsbanden.

Experimente zu Serie 2: Test auf Reproduzierbarkeit von Restriktion und Hybridisierung

Dieser Schritt galt der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der entstandenen Banden. Für drei ausgewählte 4er cutter wurden daher die Hybridisierungsmuster ein und desselben Genotyps, aber aus zwei verschiedenen Aufschlüssen stammend, verglichen. Gleichzeitig wurde ein zweiter Genotyp in den Vergleich mit aufgenommen, um erste Hinweise auf Polymorphismen zu erhalten. Abbildung 20a zeigt die Restriktionsmuster für jeweils drei Restriktionsenzyme an DNA zwei verschiedener Tannen-Genotypen (B= Tanne aus dem Bayrischen Wald; K= Korsische Tanne) aus zwei unterschiedlichen Aufschlüssen. In Abbildung 20b sind die nach erfolgter Hybridisierung mit der rDNA-Sonde entstandenen Banden dargelegt.

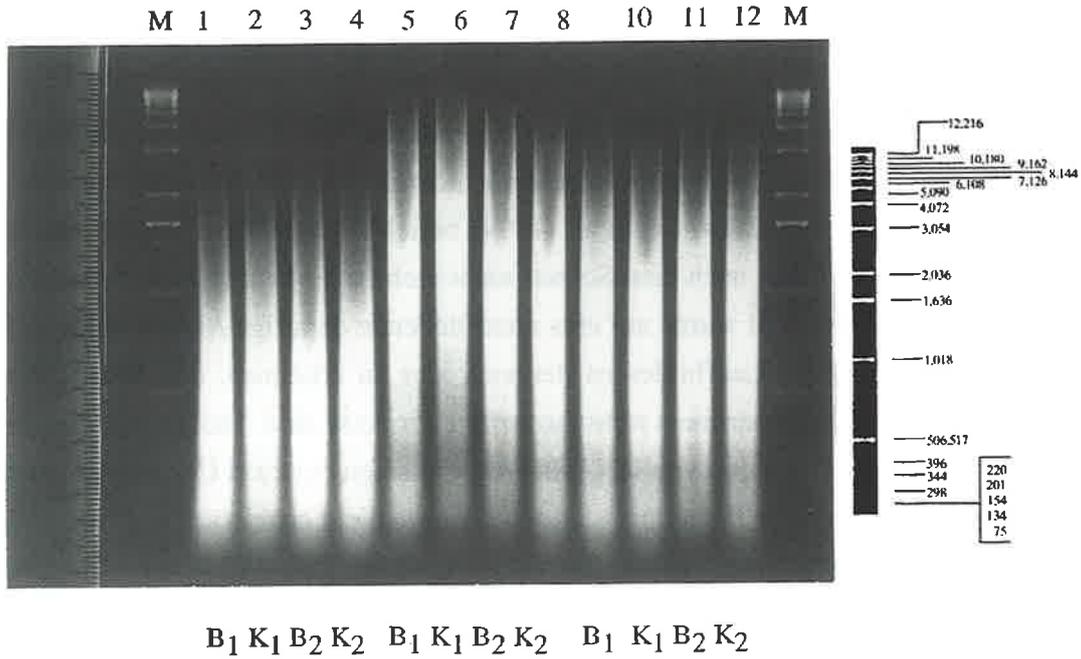


Abb. 20a: Restriktionsmuster von DNA zweier Genotypen aus jeweils zwei verschiedenen DNA-Extraktionen. M=DNA-Längenstandard (KB-Ladder), 1-4 *Hinf*I, 5-8 *Rsa*I, 9-12 *Mbo*I. B₁= Bayer. Tanne aus Aufschluß 1, B₂= Bayer. Tanne aus Aufschluß 2, K₁= Korsische Tanne aus Aufschluß 1, K₂= Kors. Tanne aus Aufschluß 2.

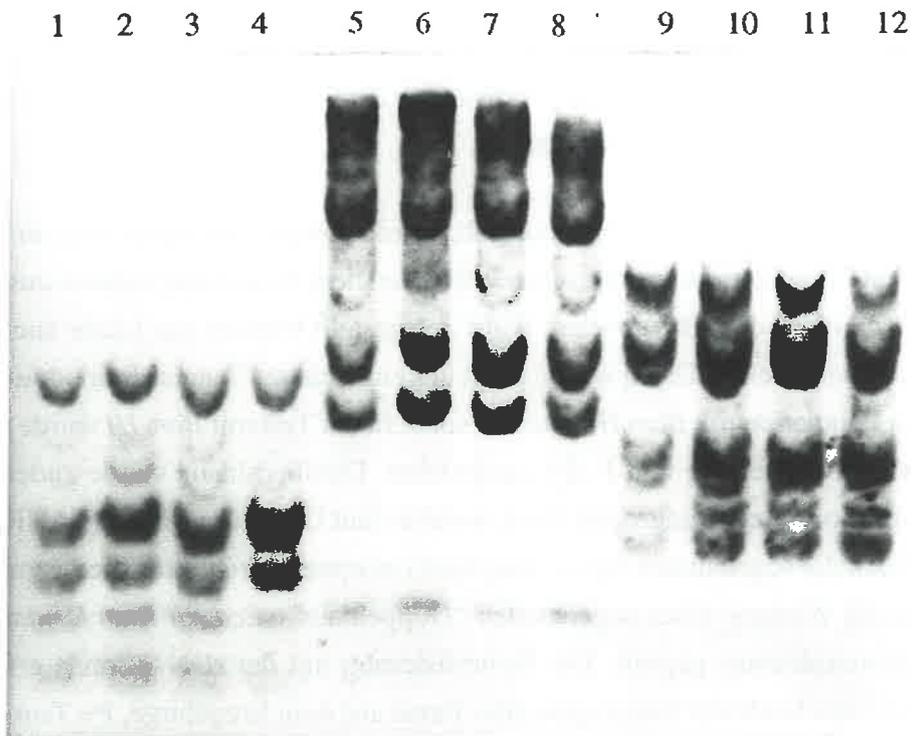


Abb. 20b: Hybridisierungsmuster der nach 20a geschnittenen DNA. Die Spuren 1-12 entsprechen denen in Abb. 20a.

Auswertung der Bandenmuster aus Serie 2: Test auf Reproduzierbarkeit von Restriktionen und Hybridisierung

Zunächst fällt auf, daß der Lauf der DNA in den Spuren eine Art "Ösencharakteristik" zeigt. Dieses ungewünschte Laufbild, welches sich besonders deutlich in Abb. 20b dokumentiert, wird neuerdings folgendermaßen erklärt. LU et al. (1994) berichten über diese "Ösen", die immer dann auftreten, wenn die DNA nach dem Schnitt nicht mehr mit Phenol/Chloroform gereinigt wird. Auch im vorliegenden Fall wurde auf eine anschließende derartige Aufreinigung verzichtet. Trotz des ungenügenden Laufbildes ist dennoch klar zu erkennen, daß Restriktion und Hybridisierung im eigenen Experiment reproduzierbare Prozesse sind. Das zweite Ziel der Experimente in Serie 2, die Detektion von DNA-Polymorphismen bei zwei Genotypen aus räumlich weit auseinanderliegenden Tannenpopulationen, wurde nicht erreicht. Da dieses zunächst einmal nur für die wenigen ausgewählten Restriktionsenzyme galt, wurde ein Screening von weiteren Enzymen in Verbindung mit ausgewählten Genotypen veranlaßt.

Weitere Experimente zu Serie 2: Detektion von RFLPs bei Tanne aus räumlich weit entfernten Populationen

Die Abbildungen 21a und 21b zeigen noch einmal den Schnitt und die Hybridisierung der DNA zweier Genotypen (B= Tanne aus dem Bayerischen Wald, K= Korsische Tanne). Der Schnitt erfolgte hierbei mit weiteren ausgewählten 4er cuttern.

Abbildungen 22a und 22b demonstrieren die Hybridisierung der DNA der o.g. Genotypen, nachdem die DNA mit 6er cuttern geschnitten wurde.

Nachdem es Hinweise auf einen Polymorphismus gab, wurde das entsprechende Enzym (*Bam HI*), anhand dessen ein Fragmentmusterunterschied zwischen dem Tannenindividuum aus Korsika und dem Individuum aus dem Bayerischen Wald festgestellt worden war (siehe auch Abbildung 22b), noch einmal getestet. Dabei wurde nicht nur ein weiteres Tannen-Individuum aus derselben korsischen Population mit *Bam HI* getestet, sondern der Test mit *Bam HI* wurde auf je ein Individuum aus dem Erzgebirge und Polen ausgedehnt. Darüberhinaus wurde zudem ein neu erworbenes Restriktionsenzym eingesetzt *Dra I*, welches laut Literaturangaben (LAURENT et al., 1993) beim Tabak die sogenannten Spacerlengthpolymorphisms zu detektieren vermochte. Außerdem wurde die Wirkung eines sogenannten "Doppeldaus" (*Eco RI/ Bam HI*) auf das Auffinden eines Polymorphismus geprüft. Die Hybridisierung mit der rDNA-Sonde erfolgte nun an DNA von drei verschiedenen Genotypen. (E= Tanne aus dem Erzgebirge, P= Tanne aus Polen, K= Korsische Tanne). Die Ergebnisse des Daus sowie der Hybridisierung finden sich in den Abbildungen 23a und 23b.

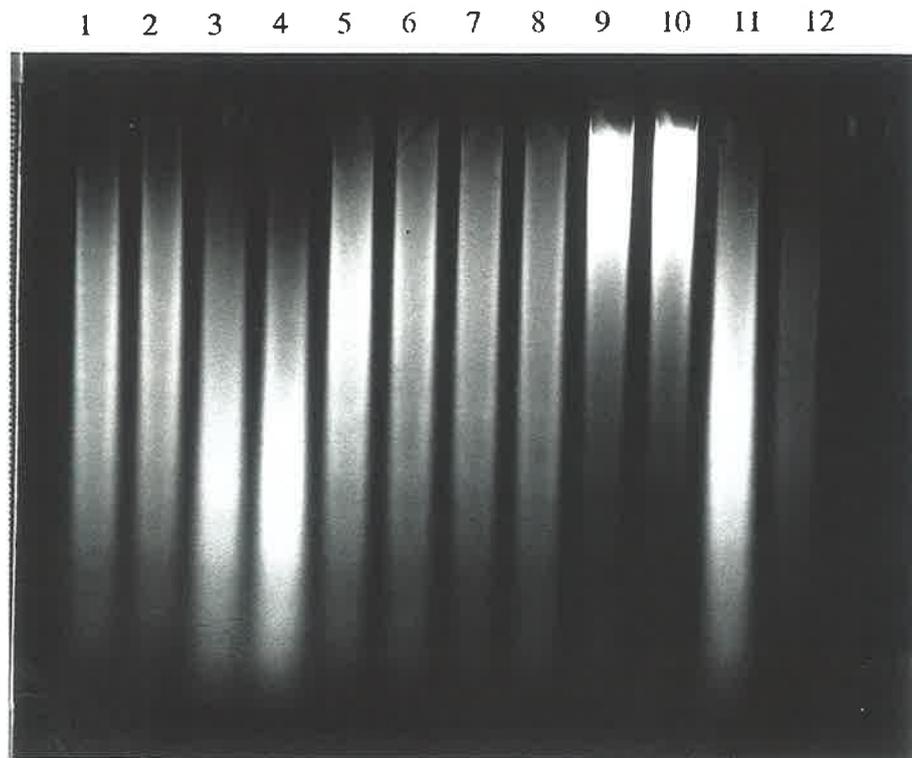


Abb. 21a: Restriktionsmuster von DNA zweier Genotypen (4er cutter). 1-2 *Hinf I*, 3-4 *Mbo I*, 5-6 *Rsa I*, 7-8 *Hae III*, 9-10 *Taq I*, 11-12 *Alu I*. M= Längenstandard (KB-Ladder). B= Tanne aus Bayer. Wald, K= Korsische Tanne.

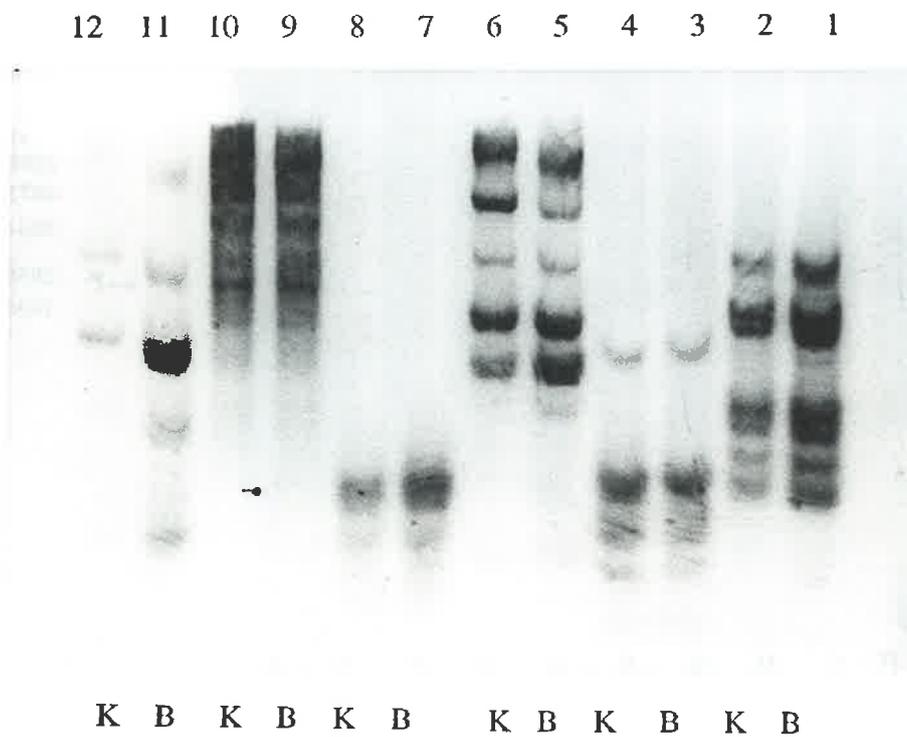


Abb. 21b: Hybridisierungsmuster der nach 21a geschnittenen DNA. Die Spuren 1-12 entsprechen denen in Abb. 21a, sind allerdings seitenvertauscht.

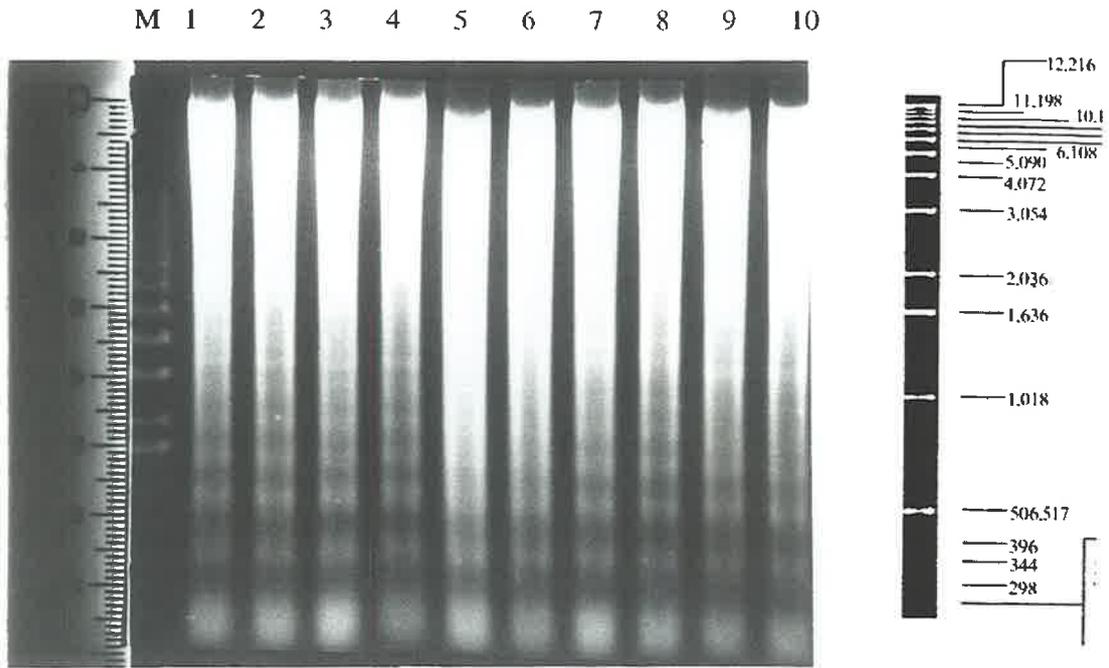


Abb. 22a: Restriktionsmuster von DNA zweier Genotypen (6er cutter). 1-2 *Eco RV*, 3-4 *Eco RI*, 5-6 *Hind III*, 7-8 *Bam HI*, 9-10 *Sac I*. M= Längenstandard (KB-Ladder). B= Tanne aus Bayer. Wald, K= Korsische Tanne.

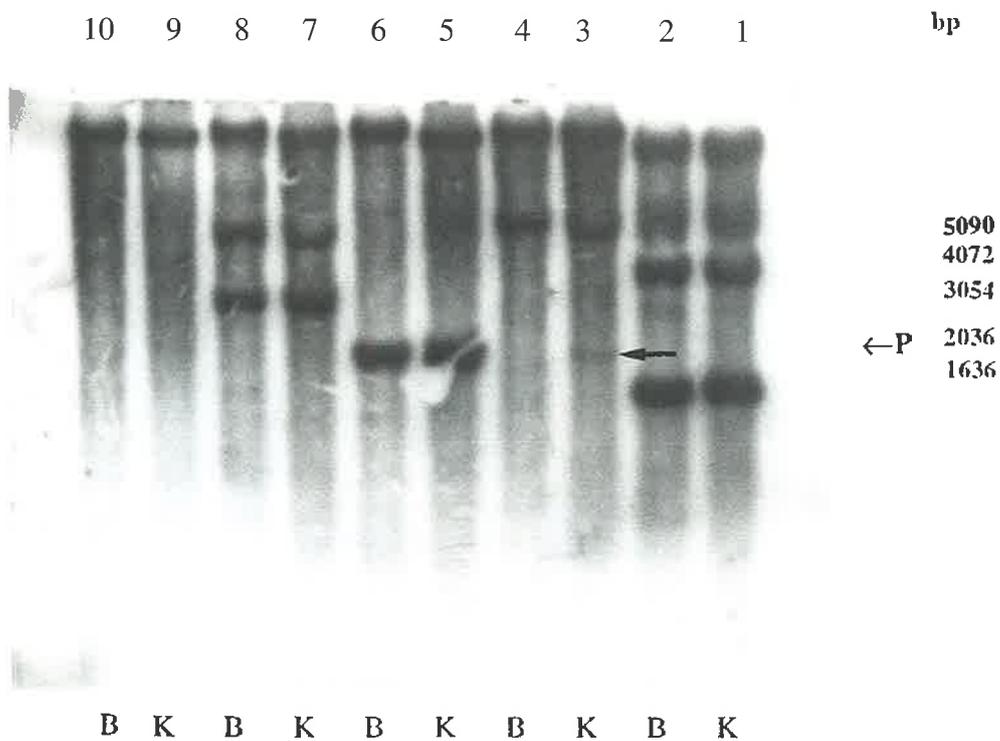


Abb. 22b: Hybridisierungsmuster der nach 22a geschnittenen DNA. Die Spuren 1-10 entsprechen denen in 22a.

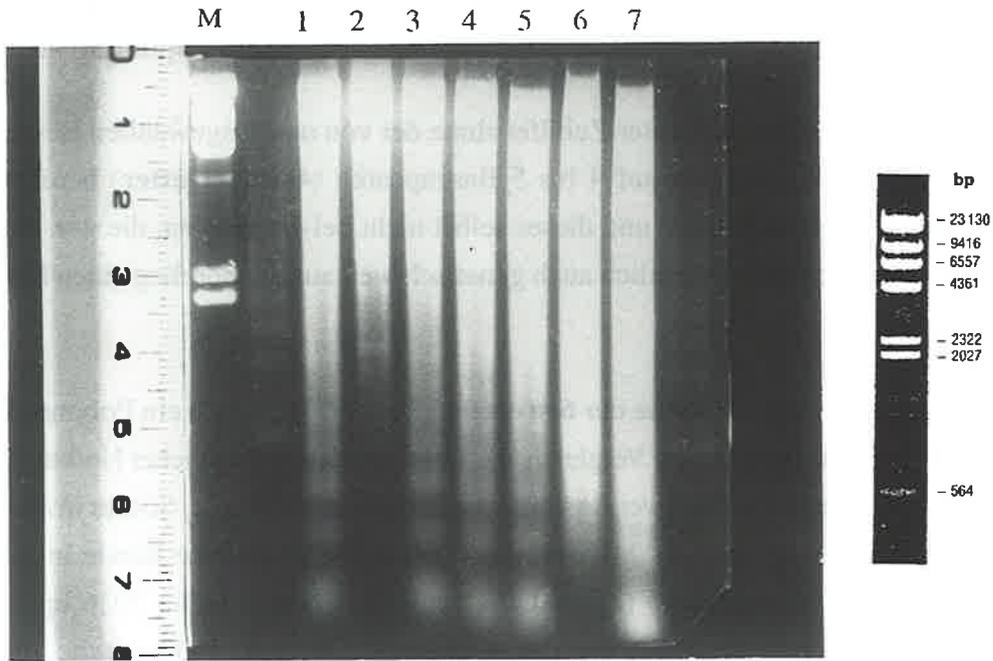


Abb. 23a: Hybridisierungsmuster von DNA dreier Genotypen. 1-3 *Bam HI*, 4-5 *Eco RI/Bam HI*, 6-7 *Dra I*. M= Längenstandard (λ *Hind III*). E= Tanne aus dem Erzgebirge, P= Tanne aus Polen, K= Korsische Tanne.

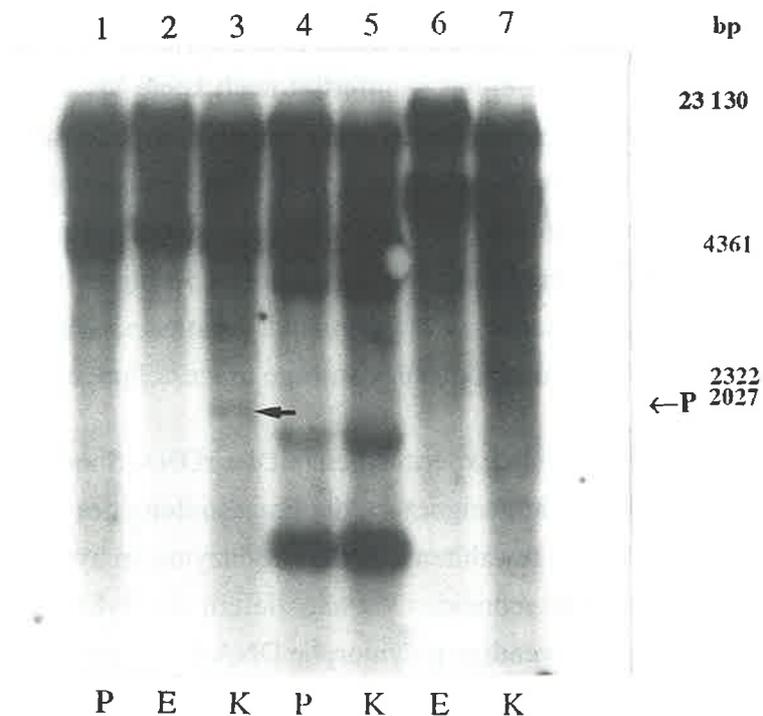


Abb. 23b: Hybridisierungsmuster der nach 23a geschnittenen DNA. Die Spuren 1-7 entsprechen denen in 23a.

Auswertung weiterer Bandenmuster aus Serie 2: Detektion von RFLPs aus räumlich weit entfernten Populationen

Abbildung 21b zeigt deutlich, daß unter Zuhilfenahme der von uns ausgewählten Restriktionsenzyme, deren Erkennungssequenz auf 4 bis 5 Basenpaaren (**4er/5er cutter**) beruhen, **kein Polymorphismus** zu detektieren ist; und dieses selbst nicht bei Genotypen, die wie im vorliegenden Fall, aus räumlich und vermutlich auch genetisch weit auseinanderliegenden Populationen stammen.

Lediglich für ein Enzym aus der Reihe der **6er cutter** (*Bam HI*) läßt sich ein Polymorphismus bei Individuen korsischer Herkunft im Vergleich mit Tannenindividuen östlicher Herkunft (Bayerischer Wald, Erzgebirge, Polen) in zwei Ansätzen auch zweimal ermitteln. So tritt in Abbildung 22b der Polymorphismus in Spur Nr. 8 (Korsische Tanne) als zusätzliche Bande in Höhe der 2027-bp-Bande des Längenstandards (λ Hind III) zu Tage. Etwa in Höhe 2036 bp des KB-Ladders ist dieselbe zusätzliche Bande auch in Abbildung 23b, Spur 3 (Korsische Tanne) zu erkennen. Die zusätzliche Bande wurde in beiden Fotos mit dem Symbol ← markiert. Alle drei Individuen aus den genannten östlichen Populationen haben die bei den zwei korsischen Individuen auftretende Bande nicht, zeichnen sich aber nach der Hybridisierung durch dasselbe Fragmentmuster aus. Anhand der Hybridisierungsexperimente waren letztlich nicht Individuen innerhalb einer Population bzw. zwischen räumlich nah beieinander liegenden Populationen unterscheidbar, sondern lediglich die zwei südeuropäischen Individuen von den drei östlichen Individuen zu unterscheiden. Dieser Befund rechtfertigt noch keine Verallgemeinerung, könnte aber für andere als die das Teilvorhaben betreffenden populationsgenetischen Fragestellungen sehr interessant sein. So könnte bei hinreichend großem Stichprobenumfang aus südeuropäischen und östlichen Tannenpopulationen der Frage nachgegangen werden, inwieweit der gefundene Polymorphismus in Zusammenhang mit eiszeitlichen Refugien und nacheiszeitlichen Rückwanderungswegen der Weißtanne zu bringen sind. Zumindest könnte die rDNA-Sonde einen ersten wichtigen molekularen Marker für derartige Fragestellungen abgeben.

Für unser Teilvorhaben wurde aus den Experimenten mit der rDNA-Sonde der Schluß gezogen, daß die rDNA-Sonde zunächst nicht geeignet ist, die Fragestellung des Projektes zu lösen. Da offensichtlich keines der vielen ausgewählten Restriktionsenzyme im hypervariablen Intergenic Spacer (IGS) der Tannen rDNA zu schneiden vermag, liefern die Hybridisierungsexperimente nicht das für Parentalanalysen notwendige polymorphe DNA-Fingerprinting. Für einige andere Pflanzen, auch Bäume, sind solche Enzyme, die deshalb auch von uns getestet wurden, bekannt. Hier konnten aufgrund des Schnitts dieser Enzyme im IGS hinreichend viele Polymorphismen detektiert werden, so daß Sorten beim Getreide oder aber auch beim Kakao unterschieden werden konnten (SAGHAI-MAROOF et al., 1984; LAURENT et al., 1993). STOEHR und SINGH (1993) berichten von auf diese Weise gefundener intraspezifischer Variation bei der Pappel,

KARVONEN und SAVOLAINEN (1994) bei der Kiefer. Die methodisch erlangten durchaus großen Erfolge und Erfahrungen bei Extraktion, Restriktion und Hybridisierung eines solch schwierigen Objektes wie Tannen-DNA ließen uns noch am Ende der Laufzeit des Projektes die nachfolgend dargestellten Hybridisierungsexperimente mit synthetischen Oligonukleotiden beginnen.

4.4.5.2 Synthetische oligonukleotide Sonden

Die Genome nahezu aller Organismen zeichnen sich durch hypervariable nicht-kodierende DNA-Bereiche aus, die in der Regel aus immer wiederkehrenden oligonukleotiden Motiven von Basenabfolgen bestehen. Von Minisatelliten spricht man bei Wiederholungsmotiven von 10 bis 35 Basenpaaren, sogenannte "simple sequences" besitzen Wiederholungsmotive von 2 bis 10 bp (BIERWERTH et al., 1992). Das Motiv und die Anzahl seiner Wiederholungen sind demnach Faktoren, welche über den erfolgreichen Einsatz von synthetischen oligonukleotiden Sonden in Hybridisierungsexperimenten bestimmen.

Die Gestaltung der Sonde für unsere Zwecke wurde nicht zufallsmäßig vorgenommen, sondern orientierte sich an bereits erfolgten Hybridisierungsexperimenten im pflanzlichen Genom. Dabei sind offenbar z.B. (GTG)₅, (GGAT)₄ und (GATA)₄ weit verbreitete Motive von repetitiven Basensequenzen, die von uns auch daraufhin ausgewählt wurden. Insbesondere von (GATA)₄ ist bekannt, daß dieses Motiv sehr universell vor allem im Pflanzenreich auftritt (EPPLEN et al., 1989; WEISING et al., 1989; BEYERMANN et al., 1992; BIERWERTH et al., 1992; NEUHAUS et al., 1993).

Die Hybridisierungsexperimente wurden nicht-radioaktiv nach dem Protokoll von BIERWERTH et al. (1992) durchgeführt. Die Abbildungen 24a, b und 25a, b zeigen die ersten Ergebnisse der Hybridisierung mit (GTG)₅ zum einen und (GATA)₄ zum anderen.

Die Hybridisierung mit der (GTG)₅-Sonde basiert auf einer Restriktion von jeweils 3 mg Tannen-DNA von Individuen aus dem Bayerischen Wald (Abbildungen 24a und b). Für zwei Enzyme konnte die DNA von jeweils zwei Tannenindividuen (1 und 2) aus dem Bayerischen Wald zugrunde gelegt werden. Bei der elektrophoretischen Auftrennung der geschnittenen DNA wurde nicht zwischen 4er und 6er cuttern unterschieden. Gellaufbedingungen: 0.8% Agarose, 3 Volt/cm Lauflänge, Hybridisierung: 5pmol Sonde/ml Hybridisierungslösung).

Die Hybridisierung mit der (GATA)₄-Sonde erfolgte als letztes Experiment im Projekt (Abbildungen 25a und b). Um den Hybridisierungserfolg abschätzen zu können, wurde neben der Tannen-DNA auch DNA von zwei Gräsern eingesetzt, da von den Gräsern bekannt ist, daß ihr Genom GATA-Motive besitzt. Zudem wurden Gräser- und Tannen-DNA (Tanne wiederum aus dem Bayerischen Wald) in unterschiedlichen Ausgangsmengen geschnitten, um die Optimum-Bedingungen kennenzulernen. Da es in diesem Gel im wesentlichen auf den Test und die Opti-

mierung der DNA-Ausgangsmengen ankam, wurde die Restriktion einzig und allein mit dem Enzym *Alu I* durchgeführt. Von diesem Enzym ist bekannt, daß es für viele Arten einen besonders für DNA-Fingerprintings geeigneten Schnitt der DNA herbeiführt. (Gellaufbedingungen: 1.5% Agarose, 1.5 Volt/cm Lauflänge; Hybridisierungsbedingungen: 10 pmol Sonde/ ml Hybridisierungslösung).

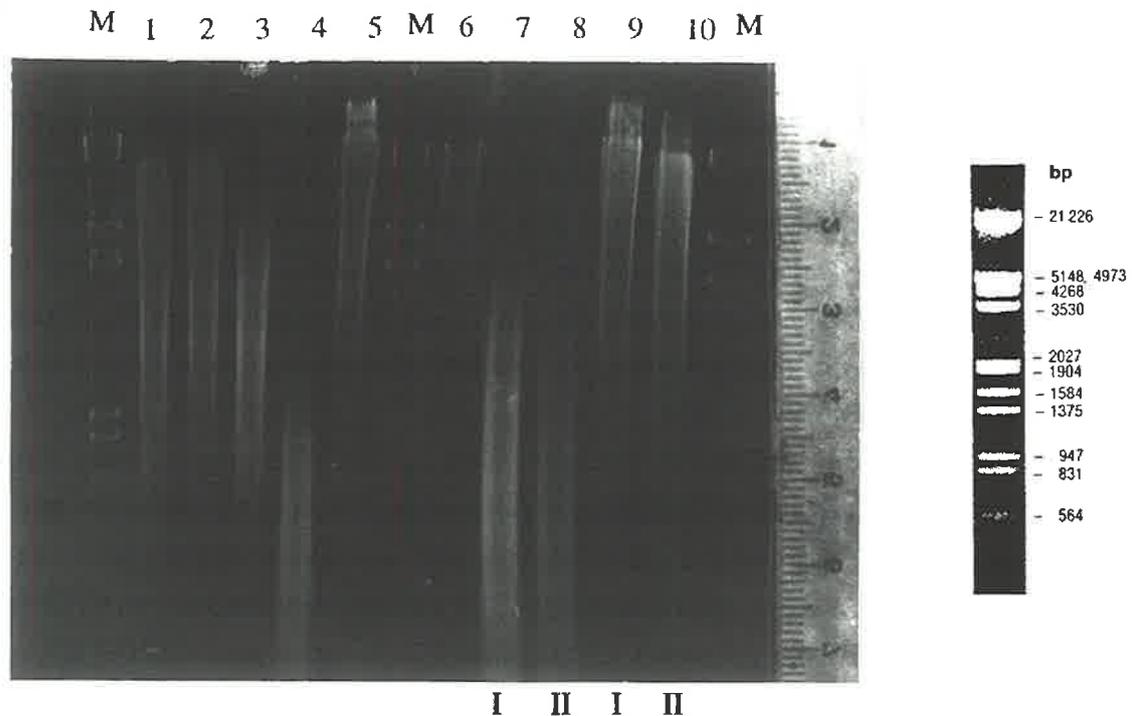


Abb. 24a: Restriktionsmuster von Tannen-DNA nach dem Schnitt mit 1 *Sac I*, 2 *Bam HI*, 3 *Hind III*, 4 *Hinf I*, 5 *Pst I*, 6 *Pvu II*, 7-8 *Hae III*, 9-10 *Eco RI*, M= Längenstandard (λ *Hind III*), I = Tannenindividuum 1, II = Tannenindividuum 2.

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

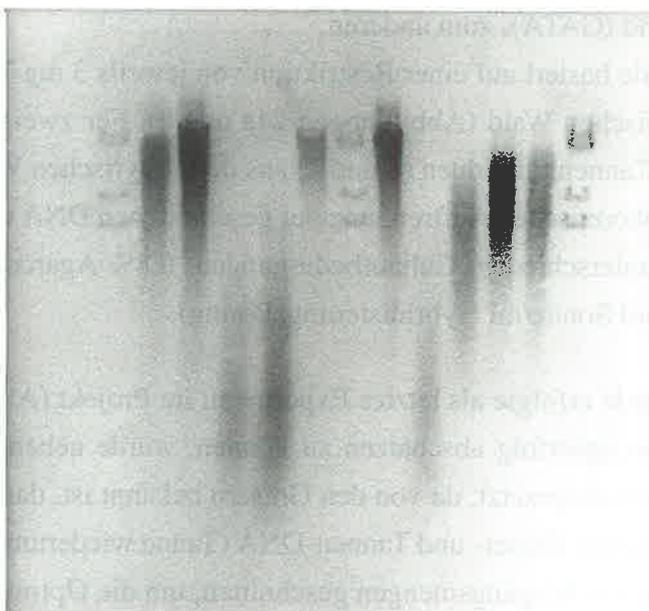


Abb. 24b: Hybridisierungsmuster der nach 24a geschnittenen DNA. Die Spuren 1-10 entsprechen denen aus Abb. 24a, sind allerdings seitenvertauscht.

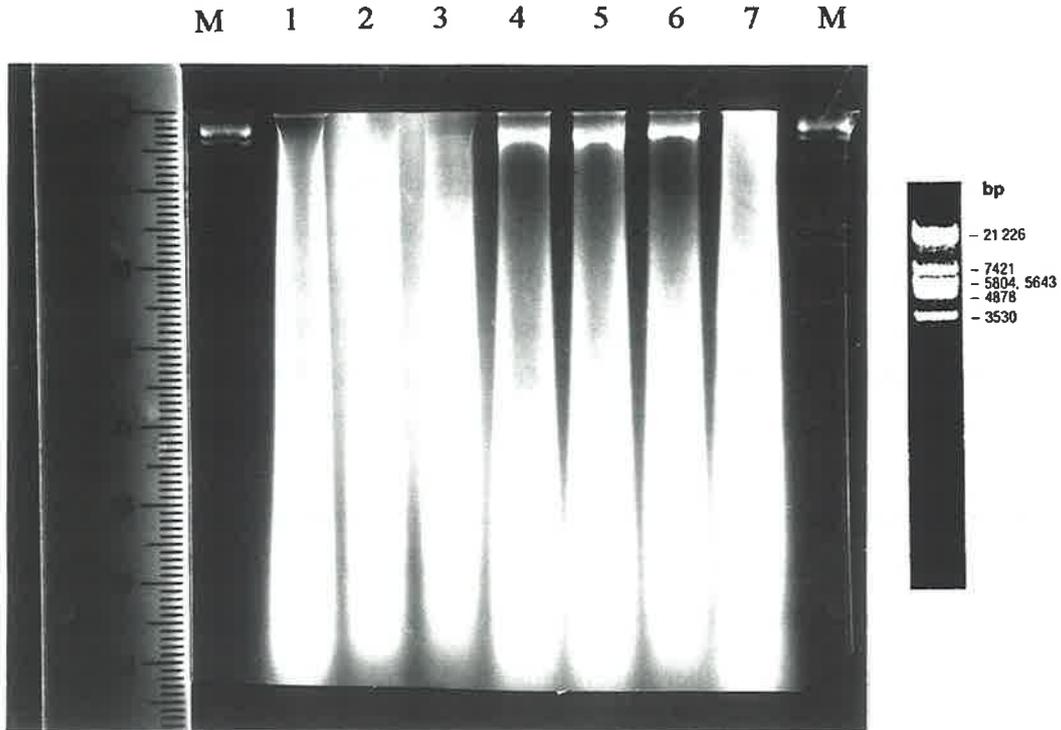


Abb. 25a: Restriktionsmuster von Tannen- und Gräser-DNA nach dem Schnitt mit *Alu I*. 1 *Tanne* 40 μg , 2 *Tanne* 20 μg , 3 *Tanne* 10 μg , 4 *Spartina anglica* 40 μg , 5 *Sp. anglica* 20 μg , 6 *Sp. anglica* 10 μg , 7 *Panicum boliviense* 3.5 μg , M= Längenstandard (KB-Ladder)

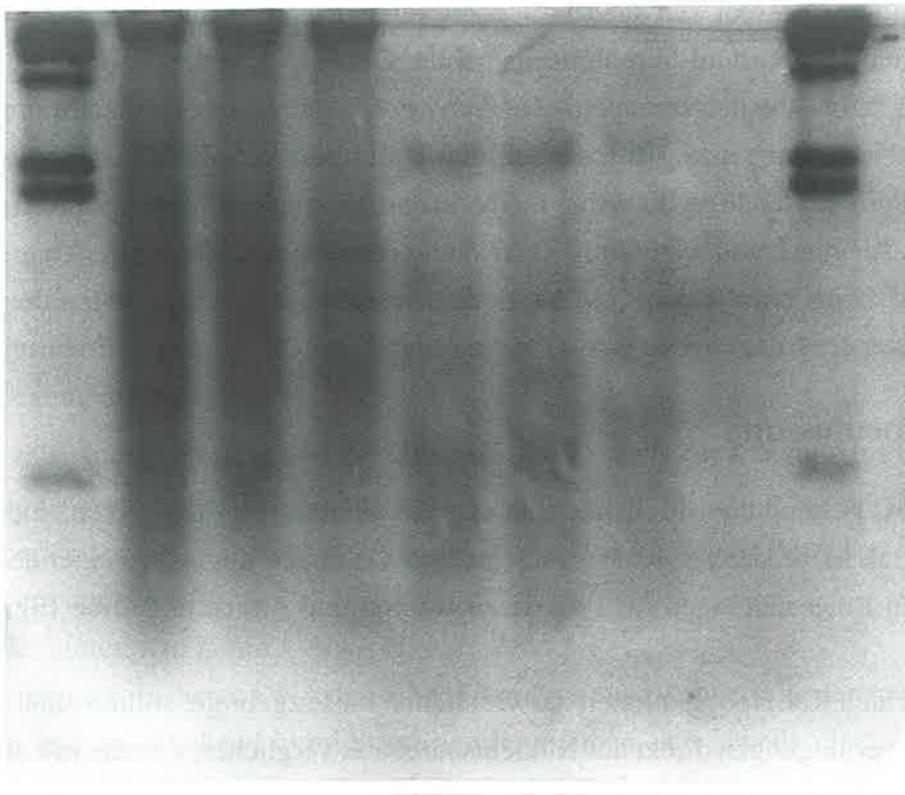


Abb. 25b: Hybridisierungsmuster der nach 25a geschnittenen DNA auf dem Röntgenfilm. Die Spuren 1-7 entsprechen denen in Abb. 25a.

5. Schluß

Die Einzelergebnisse des Projektes finden sich jeweils am Ende der Berichte aus den Teilvorhaben in umfassenden Zusammenfassungen bzw. Diskussionen.

5.1 Zusammenfassung und Schlußfolgerungen

- Die in 44 Sächsischen Forstämtern gefundenen Tannenvorkommen sind zumeist einzelbaumweise oder horstweise, seltener in zusammenhängenden Beständen anzutreffen. Insgesamt wurde das Tannenvorkommen im Sächsischen Erzgebirge sowie Elbsandsteingebirge auf 2000 Exemplare beziffert. Dies bedeutet eine Reduzierung auf ca. 4% der im Jahr 1956 vorhandenen Vorkommen. 94% der aufgenommenen Altannen sind geschädigt, so daß mit dem Abgang weiterer Exemplare zu rechnen ist.

- Die Untersuchungen der genetischen Struktur bei den Altannen der Restpopulationen ergaben, daß sowohl genetische Vielfalt als auch genetische Diversität und genetische Differenzierung an den untersuchten Genorten allgemein gering sind.

Die Auswertung der gefundenen genetischen Strukturen im Untersuchungsgebiet erbrachte eine klare geographische Differenzierung. Danach unterscheiden sich die Populationen des Elbsandsteingebirges deutlich von denen des Erzgebirges. Auch konnte über diesen Vergleich nachgewiesen werden, daß in einigen Forstämtern nicht-autochthone Weißtannenvorkommen aufgenommen wurden.

- Die in Teilvorhaben A und B vorgenommenen Vergleiche der genetischen Strukturen der Tanne im Untersuchungsgebiet mit denen benachbarter westlicher Populationen (Bayerischer Wald, Frankenwald und Fichtelgebirge) sowie benachbarter östlicher Populationen (Südwestpolen, Nordwesttschechien) hatten folgende Ergebnisse.

Aufgrund geringer genetischer Abstände zueinander bilden die Populationen des Elbsandstein- und Osterzgebirges mit den Populationen des Bayerischen Waldes eine Gruppe. Die Westerzgebirgstanne zeigt hohe genetische Ähnlichkeit mit der Tanne aus Fichtelgebirge und Frankenwald, sie bildet mit diesen eine weitere Gruppe. Der genetische Abstand zwischen den beiden Gruppen ist allerdings relativ gering.

Die insgesamt geringe genetische Variation der Sächsischen Erzgebirgstanne findet ihre Entsprechung in den angrenzenden südpolnischen und nordwesttschechischen Populationen. Dort wurden ähnliche Werte der genetischen Vielfalt und Diversität ermittelt. Analysen der genetischen Differenzierung ergaben zudem, daß sich diese Populationen nur geringfügig voneinander unterscheiden.

Mit diesen Ergebnissen rundet sich das Bild über postulierte glaziale Refugien und postglaziale Rückwanderungswege der Tanne ab. Für die Tanne des Erzgebirges sind zwei große Rückwanderungswege relevant. Zum einen ist sie aufgrund der genetischen Untersuchungen

in den sogenannten Ostalpenbogen einzuordnen, mit einem Tannenvorstoß über das Erzgebirge hinweg bis nach Mittelpolen. Zum anderen läßt ihre genetische Nähe zu den Vorkommen in Polen und Tschechien eine genetische Beeinflussung durch die Tanneneinwanderung aus den Ostkarpaten vermuten, wobei eine präzise Lokalisierung der postulierten Kontaktzone der beiden großen Rückwanderungswege noch nicht möglich ist. Fest steht dagegen, daß sich die postglaziale Geschichte der Erzgebirgstanne mit diesen Befunden eindeutig von der südwestdeutschen Weißtanne im Schwarzwald abgrenzen läßt..

- Der Vergleich genetischer Strukturen in unterschiedlich geschädigten Teilpopulationen ließ keine deutliche genetische Differenzierung zwischen toleranten und sensitiven Kollektiven erkennen. Dies ist vermutlich das Ergebnis einer seit über einem Jahrhundert bestehenden starken gerichteten Selektion durch Immissionen, die die sensiblen Teile der ursprünglichen Population eliminiert hat. Hierfür spricht auch die geringe genetische Diversität.
- Die zur Schätzung des Anteils an Fremd- bzw. Selbstbefruchtung herangezogenen Vergleiche der genetischen Struktur von Eltern und Nachkommen erbrachten auf Isoenzym-Basis einen erstaunlich hohen Fremdbefruchtungsanteil von ca. 80%. Nicht hinreichend erklärt werden konnte dabei, ob ein hoher Anteil von Selbstungsnachkommen bereits einer starken Selektion während ihrer frühen Ontogenese zum Opfer gefallen ist. Andere Erklärungsmöglichkeiten wären im Rahmen einer genotypenabhängigen Fertilitätsselektion unter Schadgasbelastung zu suchen. Aus früheren *in vitro* Untersuchungen ist nämlich bekannt, daß das Pollenschlauchwachstum in sauren Keimmedien genotypenabhängig gehemmt sein kann. Eine weitere Ursache für den auf Isoenzymebene gefundenen hohen Fremdbefruchtungsanteil könnte darin bestehen, daß die untersuchten jungen Tannen Nachkommen von bereits abgängigen Elternindividuen sind. Hier sollten die in denselben Beständen durchgeführten vergleichenden molekularbiologischen Untersuchungen Aufklärung durch eindeutige Elternschaftszuordnungen bringen. Das Ziel einer molekularen Elternschaftsanalyse konnte jedoch noch nicht erreicht werden. Die Tanne erwies sich schon bei der experimentellen Eingangsbedingung, der Extraktion von DNA aus der Nadel, als ein zunächst höchst problematisches Untersuchungsobjekt. Wesentliche Teilziele wurden jedoch erreicht: Extraktion der DNA, Schnitt der DNA mit verschiedensten Restriktionsenzymen und anschließende nicht-radioaktive Hybridisierung mit heterologen Sonden. Vor allem die als Minipräparation gelungene Extraktion der Tannen-DNA führt zu einer optimalen Nutzbarkeit des Verfahrens in ökologisch-genetischen Fragestellungen mit hohem Probendurchsatz, da das Verfahren den Aufwand auf 1/10 der herkömmlichen Extraktionsprozeduren reduziert. Auf dieser Basis wird der molekularbiologische Teil des Verfahrens in einem EU-Projekt weitergeführt. Die Befunde des Verbundprojektes sind hierfür eine gute Voraussetzung.

Schlußfolgerungen

Die **Erhaltung und Wiederausbreitung** der Weißtanne im Erzgebirge ist gleichermaßen Ziel von Forstwirtschaft und Naturschutz. Die vorliegende Arbeit konnte anhand ökologisch-genetischer Untersuchungen belegen, daß die Erhaltung und Wiederausbreitung der Tanne im Sächsischen Erzgebirge aufgrund ihrer geringen genetischen Variabilität, der geringen Zahl und Größe sowie fehlenden Vitalität der Restvorkommen nicht alleine aus diesen Restvorkommen heraus bewerkstelligt werden kann. Bis auf wenige Vorkommen sind weder Naturverjüngung noch die Entnahme und Verbringung von Saatgut aus genetischer Sicht empfehlenswert.

Die **Erhaltung der Sächsischen Tanne als authentische Population** ist demzufolge vorwiegend *ex situ* im Rahmen von Erhaltungssamenplantagen möglich, in denen eine Zusammenführung der jetzigen isolierten Vorkommen geplant ist. Dabei können sowohl die Erhaltung seltener Allele als auch genetische Neukombinationen nur über eine hohe Anzahl beteiligter Klone gewährleistet werden. Eine *ex situ* Erhaltung von Saatgut der Restpopulationen in Genbanken scheidet wegen des vermutlich ingezüchteten Einlagerungsmaterials sowie fehlender ausgereifter Verfahren der Langzeitlagerung von Tannensaatgut aus. Einer dynamischen Konservierung ist somit Vorzug zu geben.

Eine besondere Situation, die die Bedeutung ökologisch-genetischer Untersuchungen im Rahmen von Naturschutzstrategien aufzeigt, ergibt sich für die Tannenrestvorkommen in Naturschutzgebieten. Hier scheint das Einbringen von Vermehrungsgut, welches nicht von derselben Fläche stammt, unumgänglich. Ein lediglich konservierender Ansatz zur Wahrung des derzeit Bestehenden führt aus den genannten Gründen zu deren Verlust. In den Naturschutzgebieten ist eine Ergänzung durch Tannenvermehrungsgut aus anderen Sächsischen Forstämtern empfehlenswert.

Die langfristige waldbauliche Planung für eine **Wiederausbreitung** der Weißtanne ist nur über die Einbringung nicht autochthonen Vermehrungsgutes möglich. Die auf Isoenzym-Basis gewonnenen Ergebnisse über den genetischen Abstand geben die Herkunft solchen Vermehrungsgutes klar vor. Für den Bereich des Westerzgebirges wird Vermehrungsgut aus den Beständen des Bayerischen/Böhmischen Waldes und für den Bereich Elbsandsteingebirge/Osterzgebirge Material aus den Sudeten bzw. Beskiden empfohlen.

5.2 Bewertung der Ergebnisse und Ausblick

Der Bericht stellt die Ergebnisse eines ost-/westdeutschen Projektes der "ersten Stunde" nach der Wiedervereinigung dar, das zugleich ein Gemeinschaftsprojekt je einer Forschungsinstitution von Bund und Ländern und einer Universität war.

Die vielfältigen Ergebnisse des vorliegenden Vorhabens sind u.a. das Resultat eines hohen Integrationsgrades seiner Teilprojekte.

Das Ziel des Projektes, der Schutz der Weißtanne im Erzgebirge, forderte ein enges Zusammenwirken zwischen Forschung auf der einen und der forstlichen Praxis sowie dem Naturschutz auf der anderen Seite. Bei der Durchführung erfuhr das Vorhaben vor Ort ein hohes Maß an Unterstützung durch die zuständigen Behörden und die beteiligten Forstämter. Dadurch konnten die wissenschaftlichen Arbeiten auf die Bedürfnisse der Praxis abgestimmt werden, so daß die gewonnenen Ergebnisse in konkrete Empfehlungen Eingang fanden.

Die wissenschaftlichen Arbeiten verfolgten eine Reihe von Fragestellungen mit verschiedenen methodischen Ansätzen an definiertem Pflanzenmaterial desselben Ursprungs. Dabei zeigte sich, daß zum gegenwärtigen Zeitpunkt Isoenzyme als Genmarker noch immer die Methode der Wahl sind, wenn es darum geht, ökologisch-genetische Fragestellungen auf Populationsebene zu bearbeiten. Für bestimmte Fragestellungen hat das Projekt wertvolle Erfahrungen zur Verwendung molekularbiologischer Methoden erbracht.

Das Vorhaben hat gezeigt, daß ökologisch-genetische Untersuchungen für das Verständnis der Funktion von Waldökosystemen unerlässlich sind und die Ergebnisse in der Praxis von Forstwirtschaft und Naturschutz wichtige Entscheidungshilfen liefern.

Ausblick

Mit dem vorliegenden Bericht ist das Vorhaben abgeschlossen, die genetischen Arbeiten an der Weißtanne werden jedoch weitergeführt.

Die Sächsische Landesanstalt für Forsten wird neben der Einleitung der im Projekt empfohlenen Maßnahmen eine Vervollständigung des Bildes über die genetische Konstitution der örtlichen Weißtanne vornehmen.

Die Ergebnisse des Teilvorhabens B finden Eingang in weiterführende Untersuchungen über die adaptive Bedeutung von Isoenzym-Genorten.

Die im Projekt geleisteten molekularbiologischen Ansätze werden im Rahmen eines EU-Projektes weiterverfolgt: "Development and adaptation of rapid molecular screening technics for assessing genetic diversity in forest trees".

