

- SNEDCOR, G. W. and COCHRAN, W. G.: Statistical Methods. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. 6th edition. 593 pp. (1967). — SQUILLACE, A. E.: Average genetic correlation among offspring from oven-pollinated forest trees. *Silvae Genetica* 23: 149–156 (1974). — WILCOX, J. R. and FARMER, R. E. Jr.: Heritability and C effects in early root growth of eastern cottonwood cuttings. *Heredity* 23: 239–245 (1968). — YING, C. C. and BAGLEY, W. T.: Genetic variation of eastern cottonwood in an eastern Nebraska provenance study. *Silvae Genetica* 25: 67–73 (1976). — ZSUPPA, L.: Vegetative propagation of cottonwood by rooting cuttings. Proc. Cottonwood Symposium, Greenville, Mississippi (in press), (1976).

Untersuchungen über die natürliche Selbstbefruchtung in Beständen der Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) und Kiefer (*Pinus sylvestris* L.)

Von G. MÜLLER¹⁾

(Eingegangen September 1977 / Januar 1978)

Ziel der hier beschriebenen Experimente ist die Einschätzung der in Waldbeständen nach freier Abblüte zu erwartenden Selbstbefruchtungsraten einzelner Individuen. Als Selbstbefruchtungsrate wird im folgenden derjenige relative Anteil der Nachkommen eines Individuums bezeichnet, der aus der Verschmelzung männlicher und weiblicher Gameten ein und desselben Individuums hervorgegangen ist. Als Nachkommen gelten in diesem Zusammenhang alle mit keimfähigen Embryonen ausgestatteten Samen. Die Selbstbefruchtungsrate wird stets auf die Verhältnisse während einer Blühperiode bezogen.

1. Bedeutung

Die Bedeutung des Phänomens Selbstbefruchtung für die theoretische und angewandte Genetik beruht auf seiner Wirkung auf die genotypische Struktur einer Population, d. h. die Häufigkeitsverteilung der Genotypen dieser Population bezüglich einzelner oder aller polymorphen Genloci. Sind alle Paarungen zu einem gegebenen Zeitpunkt uneingeschränkt möglich (Zufallspaarung), so stimmt die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Individuum sich selbst befruchtet überein mit der Wahrscheinlichkeit, sich mit jedem der anderen Individuen der Population zu paaren und ist gleich dem Reziprokwert der Populationsgröße (vgl. GREGORIUS und G. MÜLLER, 1975). Übersteigt aber die Selbstbefruchtungswahrscheinlichkeit diesen Wert, so stehen potentiell zwar alle Paarungspartner zur Verfügung, jedoch wird der Anteil der durch Fremdbefruchtung zustandegekommenen Paarungen zugunsten des Anteils der Selbstbefruchtungen reduziert. Durch diesen gegenüber der Zufallspaarung zusätzlichen Beitrag an Verwandtenpaarung (Verwandschaft eines Individuums mit sich selbst) wird zwingend Inzucht induziert, da das Entstehen von Inzucht von der Existenz verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen den Paarungspartnern abhängig ist.

Selbstbefruchtungsraten, die den für Zufallspaarung maßgeblichen Wert überschreiten, bedingen somit einen Zuwachs der mittleren Abstammungs- und Inzuchtkoeffizienten der Individuen der Nachkommenpopulation (Definitionen siehe z. B. CROW und KIMURA, 1970, Kap. 3) und bewirken konsequent eine Erhöhung des Anteils homozygoter Genotypen gegenüber den korrespondierenden Har-

dy-Weinberg-Proportionen. Durch die Funktionsidentität der Allele an einem Genlocus können sich auf diese Weise bei Homozygoten rezessive Allele auswirken, deren Effekt bei Heterozygoten durch dominante Allele überlagert würde. Handelt es sich dabei um Allele mit nachteiligen Wirkungen auf bestimmte Leistungsmerkmale, so bewirkt ein überproportionaler Anteil an Homozygoten eine verstärkte phänotypische Präsenz solcher Merkmale, infolgedessen das Mittel einer Pflanzenpopulation bezüglich dieser Leistungsmerkmale nachteilig beeinflußt werden kann, solange diese Genotypen in der Population verbleiben. Es sei hier nur angemerkt, daß von diesen Wirkungen das gesamte Genom betroffen ist, also z. B. auch alle Allele, die an der Ausprägung von Resistenzmerkmale beteiligt sind. Definiert man die genische Vielfalt eines Individuums als die Gesamtzahl verschiedener Allele an allen polymorphen Genloci (GREGORIUS 1977), so bewirkt jede Erhöhung des Anteils homozygoter Genloci den Verlust an genischer Vielfalt dieses Individuums.

Daß Selbstbefruchtung und die daraus resultierenden Wirkungen für Fichte und Kiefer bedeutsam sind, ist nachgewiesen. So ist weder bei diesen beiden Baumarten noch sonst einer der bisher untersuchten Gymnospermenarten irgendeine Form der Selbstinkompatibilität gefunden worden (HAGMAN, 1975). Eine Reduzierung der Selbstbefruchtungswahrscheinlichkeit ist in geringem Umfang allenfalls durch die Anordnung der männlichen und weiblichen Blüten zu erwarten, da sich insbesondere in Fichtenkronen die weiblichen Blüten bevorzugt in den oberen bzw. äußeren Kronenpartien befinden und deshalb besonders für Fremdbefruchtung exponiert sind. Ein ähnlicher Effekt kann durch das von SARVAS (1962) an einigen Individuen beobachtete frühere Einsetzen der weiblichen Blüte hervorgerufen werden.

Die als Folge von Selbstbefruchtung bzw. Verwandtenpaarung allgemein zu erwartenden nachteiligen Wirkungen lassen sich leicht mit Hilfe von Kreuzungsexperimenten nachweisen. So zeigt FRANKLIN (1970 und 74 a) am Beispiel verschiedener Kiefernarten, daß sich die Vollkornerträge nach künstlicher Selbstbestäubung im Vergleich zur Fremdbestäubung um durchschnittlich über 50% verringern, daß lebensfähige Nachkommen aus Selbstbefruchtung signifikant geringere Wuchsleistungen zeigen (siehe auch KRIEBEL 1975) und zu diversen Abnormalitäten neigen können. Anhand der Analyse des Wuchsverhaltens von Nachkommen aus Verwandtenkreuzungen weisen z. B.

¹⁾ Dr. GERHARD MÜLLER

Lehrstuhl für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen, Büsgenweg 2, 3400 Göttingen-Weende.

GANSEL (1971) bei *Pinus elliottii* und ANDERSSON, JANSSON und LINDGREN (1974) bei *Picea abies* nach, daß die Volumenleistung dieser Nachkommen mit zunehmendem mittleren Inzuchtkoeffizienten kontinuierlich abnimmt, so daß unter Nachkommen aus Selbstbefruchtung die nachteiligsten Wirkungen zu erwarten sind. Dies wird besonders offensichtlich bei einem Vergleich des durchschnittlichen Stammvolumens der 61jährigen Nachkommen von vier Fichtenmutterbäumen, wobei ERIKSSON, SCHELANDER und ÅKEBRAND (1973) ermittelten, daß die aus Selbstbefruchtung stammenden Nachkommen nur ca. 42% der Leistung der aus freier Abblüte hervorgegangenen Halbgeschwister erreichten.

Welche Bedeutung solche Wirkungen für die aus freier Abblüte stammenden Waldbaumpopulationen haben können, hängt von der Präsenz der Selbstbefruchtungsnachkommen in diesen Populationen ab. Daher muß zunächst einmal der Nachweis erbracht werden, daß diese Nachkommen trotz der selektionsbedingten Benachteiligung der Paarungen zwischen Gameten ein und desselben Individuums (höhere Hohlkornanteile nach Selbstbefruchtung) in einer Häufigkeit auftreten, welche für die genotypische Struktur von Waldbaumpopulationen die genannten Konsequenzen hat. Daß der eigene Pollen eines Individuums gegenüber Fremdpollen konkurrenzfähig sein kann, beweisen Versuche mit *Pinus elliottii* (FRANKLIN 1974 b), denen zufolge der Anteil der Selbstbefruchtungsnachkommen nach künstlicher Bestäubung mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Eigen- und Fremdpollen auf 47% geschätzt wurde.

Steht fest, daß Selbstbefruchtungsnachkommen bei Fichten und Kiefer in einer bestimmten artspezifischen Häufigkeit zu erwarten sind, so wurde hierdurch der Fortbestand dieser Arten im Verlauf ihrer Evolution unter den Bedingungen der natürlichen Selektion offensichtlich nicht infrage gestellt. Das Regulativ der natürlichen Selektion kann jedoch bei Anwendung moderner Formen der Bewirtschaftung von Fichten- und Kiefernbeständen nicht mehr so wirksam sein wie unter natürlichen Bedingungen. So wird der konkurrenzbedingte Selektionsdruck auf Selbstbefruchtungsnachkommen durch die zu kurze Phase des Dichtstandes in der Baumschule oder im Forstkampf, durch die Tendenz zu immer größeren Pflanzabständen und infolge der Durchführung schematischer Reihendurchforstungen abgeschwächt, so daß in bewirtschafteten Fichten- und Kiefernbeständen relativ mehr Nachkommen aus Selbstbefruchtung aufwachsen können als unter natürlichen Bedingungen.

Selbstbefruchtung betrifft das gesamte Genom, also auch alle Merkmale, die keiner Selektion auf Leistung unterliegen. Die als Folge zunehmender Homozygotisierung zu erwartenden nachteiligen Wirkungen lassen sich daher auch durch Eliminierung aller hinsichtlich bestimmter Leistungsmerkmale benachteiligter Individuen nicht beseitigen, so daß nicht sinnvoll ist, Maßnahmen zur Intensivierung der Selektion zu ergreifen ohne gleichzeitig die Möglichkeit zur Selbstbefruchtung auf ein Minimum zu reduzieren.

Diese Aspekte gewinnen besondere Bedeutung im Hinblick auf künstlich zusammengestellte Zuchtpopulationen: Der dort zu erwartende Anteil der Selbstbefruchtungsnachkommen sollte zur Vermeidung zusätzlicher nachteiliger Wirkungen die hier für Bestände gefundenen Werte nicht noch überschreiten. Bei Samenplantagen ist dieses Problem besonders akut, da durch die Präsenz mehrerer genotypisch identischer Individuen ein zusätzlicher Beitrag

an Selbstbefruchtung induziert werden kann. Über die Einschätzung von Selbstbefruchtungsraten in Samenplantagen wird zu einem späteren Zeitpunkt berichtet.

2. Material und Methoden

Den bereits zitierten Arbeiten ist zu entnehmen, daß unter den Nachkommen aus Selbstbefruchtung Merkmale wie der Vollkornanteil oder die Wuchsleistung im Einzelfall extreme Schwankungen zeigen können. Für die hier beschriebenen Untersuchungen würde die Verwendung dieser Merkmale zur Schätzung von Selbstbefruchtungsraten keine ausreichende Genauigkeit gewährleisten. Dies ist nur möglich durch Anwendung von Verfahren, welche die Identifizierung eines definierbaren Teils oder aller Nachkommen aus Selbstbefruchtung zulassen. Voraussetzung hierfür ist die Kenntnis von „Genmarkern“, d. h. solchen Merkmalen, die von Umweltänderungen unabhängig sind und eine eindeutige Zuordnung von Genotyp und Phänotyp gestatten. Für die Untersuchung von Selbstbefruchtungsraten bei Fichte und Kiefer wurden zwei verschiedene Genmarker benutzt, und zwar bestimmte Isoenzyme der monomeren Leucin-Aminopeptidasen im Endosperm- und Embryogewebe sowie der vollständige Chlorophyllmangel bei Sämlingen (siehe Abschnitt 2.2).

Die Benutzung von Genmarkern hat unvermeidbar zur Folge, daß sich die Auswahl der zu analysierenden Bäume auf die Träger seltener Merkmale (im folgenden „Versuchsbäume“ genannt) beschränkt, da die Identifizierung von Nachkommen aus Selbstbefruchtung voraussetzt, daß das jeweils benutzte Merkmal nur durch den betreffenden Versuchsbaum repräsentiert wird. Befinden sich in deren Nachbarschaft jedoch weitere Träger des gleichen Merkmals, so können zu hohe Selbstbefruchtungsraten vorgetäuscht werden, da ein Teil der als Selbstbefruchtungsnachkommen angesprochenen Individuen in Wirklichkeit aus Fremdbefruchtung stammt. Um solche Schätzfehler zu vermeiden, wurden zum Auffinden von Versuchsbäumen alle fruktifizierenden Bäume einer möglichst großen Bestandesteilfläche untersucht und stets nur solche Versuchsbäume ausgewählt, deren Entfernung zu möglichen anderen Trägern des gleichen Merkmals maximal war. Dabei wurden Kenntnisse über die Pollenverbreitung in Fichten- und Kieferbeständen (G. MÜLLER 1976 a) berücksichtigt.

2.1 Versuchsmaterial

Das für die Analysen vorgesehene Samenmaterial wurde von 1975—77 in insgesamt 15 Fichten- und Kiefernbeständen verschiedener hessischer und niedersächsischer Forstämter geerntet. Die Bestände, in denen geeignete Versuchsbäume identifiziert werden konnten, sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Mit Ausnahme der in den Forstämtern Westerhof und Andreasberg an stehenden Bäumen geernteten Zapfen wurde alles andere Material von Abtriebsflächen beschafft. Dazu kamen nur Bestände in Frage, deren Anteil an samentragenden Bäumen nahe bei 100% lag. Bei der Kiefer war die Auswahl solcher Flächen wegen der Häufigkeit des Samentragens unproblematisch, bei der Fichte mußte nur während des Winters 75/76 auf Beernungen verzichtet werden. Die Abhängigkeit von einer maximalen Anzahl samentragender Bäume ist bei Anwendung biochemischer Methoden jedoch weniger bedeutsam, da zur Identifizierung von Bäumen auch Nadelstichproben benutzt werden können.

Die Beernung erfolgte stets auf zusammenhängenden Bestandesteilflächen. Alle samentragenden Bäume wurden

Tabelle 1. — Zusammenstellung der für die Einschätzung von Selbstbefruchtungsraten ausgewählten Versuchsflächen und Bezeichnung der für das Isoenzym -(1) und das Albino-Verfahren (2) geeigneten Versuchsbäume*.

Baumart	Zeitraum d. Zapfenernte	Forstamt/Abtlg.	Bestandestyp	Alter (Jahre)	Bestokkungsgrad	Anzahl analysierter Bäume	Bezeichnung der Versuchsbäume für Verf. (1)	Bezeichnung der Versuchsbäume für Verf. (2)
<i>Picea abies</i>	1974/75	Reinhardshagen						
		/382 c	Reinbestand	91	0.9	86	2.5 B	3.7A; 2.8D
	1974/75	/507 a	Reinbestand	90	0.8	71	5.1 G	2.1C; 1.5D
	1974/75	Braunlage/58	Reinbestand	95	0.7	64	1; 26	—
	1974/75	Westerhof/48	Reinbestand	90	1.0	51	32	—
	1976/77	Lautenthal	Fl-Horst in					
		/216 a	Bu-Bestand	120	0.8	63	98	211
	1976/77	Andreasberg	überwiegend	bis ca. 250				
<i>Pinus sylvestris</i>	1975/76	Grebennau/17 a	Ki m. Bu-Zwischenst.	133	0.8	149	1.1 G; 0.5 D	3.1C; 2.6A
	1975/76	Wolfgang/11 a	Ki m. Bu-Zwischenst.	127	0.9	89	1.2E; 1.5B	—2.6A; 1.6A
	1976/77	Grebennau/57 b	Ki m. Bu-Unterstand	120	0.9	105	69	—
	1976/77	Wolfgang/23 a	Ki m. Bu-Zwischenst.	150	0.7	92	4.2D	—

* Compilation of experimental areas selected for the purpose of estimating rates of self-fertilization and a listing of experimental trees suited for the isoenzyme (1) and the albino (2) methods.

nach der Fällung einzeln getrennt beerntet und ihr Standort im Bestand rekonstruiert. Die Positionen aller Bäume einschließlich der nicht samentragenden wurden sorgfältig vermessen und registriert. Die danach gefertigten Karten gestatten eine eindeutige Zuordnung der Bäume zu ihren vormaligen Positionen auf den Probeflächen sowie der einzelnen Probeflächen zu den übrigen Bestandspartien und den benachbarten Beständen.

Als Stichprobe wurde den Fichten bis zu 50 Zapfen (ca. 6000 Samen) pro Baum entnommen, den Kiefern bis zu 150 Stück (ca. 3000 Samen). Stand ausreichend Material zur Verfügung, so erfolgte die Entnahme repräsentativ aus den verschiedenen Kronenpartien.

2.2 Identifizierung von Nachkommen aus Selbstbefruchtung

a) Analyse von Isoenzymen in Endosperm- und Embryogewebe

Isoenzyme sind multiple Formen eines Enzyms, deren molekulare Verschiedenheit sich durch elektrophoretische Verfahren nachweisen lässt: Bedingt durch ihre unterschiedliche Ladung zeigen Isoenzyme im elektrischen Feld voneinander abweichende Wanderungsgeschwindigkeiten und können daher auf einem Trägermedium als distinkte Varianten sichtbar gemacht werden. Da Enzyme primäre Genprodukte sind, eignen sie sich zur Identifizierung der ihre Synthese kontrollierenden Genloci, wobei die Isoenzym-Varianten unter bestimmten Voraussetzungen die Allele an den betreffenden Genloci repräsentieren können.

Dies gilt genau dann, wenn durch Überprüfung der Gametensegregation und der Aufspaltungsverhältnisse unter den Nachkommen bewiesen ist, daß die Synthese eines Enzyms bzw. einzelner Polypeptide durch einen Genlocus kontrolliert wird. In diesem Fall stellen die Isoenzym-Varianten die phänotypische Ausprägung der Allele des betreffenden Genlocus dar und werden dann als „Allozyne“ bezeichnet. Da hier die Zuordnung von Genotyp und Phänotyp eindeutig ist, können Genotypen anhand ihrer Allozym-Phänotypen präzise identifiziert werden.

Die Erprobung der Anwendbarkeit verschiedener Isoenzym-Genmarker ergab, daß für Endosperm- und Embryoanalysen Isoenzyme monomerer Enzymsysteme am besten geeignet sind da di- oder polymere Enzyme bei diploidem Material Hybridband-Konfigurationen hervorrufen und

dadurch eine eindeutige Identifizierung von Selbstbefruchtungsnachkommen erschweren. Bei den bisherigen Untersuchungen wurde deshalb das System der monomeren Leucin-Aminopeptidase (LAP) analysiert, welches seltene Isoenzym-Varianten aufweist (BERGMANN, 1973) und somit gute Voraussetzungen zum Auffinden geeigneter Versuchsbäume bietet. Da Selbstbefruchtung das gesamte Genom betrifft, können Nachkommen aus Selbstbefruchtung bereits dann identifiziert werden, wenn Selbstbefruchtung an nur einem Genlocus — hier dem LAP-B-Locus — eindeutig nachgewiesen ist. Die genetische Kontrolle des LAP-Systems ist bei Fichte und Kiefer bereits bekannt: Die von BERGMANN (1973) mittels Endospermanalysen nachgewiesene Gametensegregation sowie die Ergebnisse der von LUNDKVIST (1974) und RUDIN (1977) an Familienmaterial durchgeführten Endosperm- und Nadelanalysen beweisen, daß das LAP-System bei beiden Baumarten durch zwei polymorphe Genloci (LAP-A und LAP-B) mit codominanten Allelen kontrolliert wird, welche jeweils durch unterscheidbare Allozyne repräsentiert sind (siehe auch G. MÜLLER, 1978).

Die LAP-Analysen erfolgten für Endosperm und Embryo getrennt nach der von BERGMANN (1971) zur Untersuchung des Endospermgewebes von Fichtensamen angewandten Methode: Homogenisierung der aus ruhenden Samen präparierten Endosperme bzw. Embryonen mit Phosphatpuffer pH 7.5; Auf trennung der LAP-Allozyne durch Stärkegel-Zonenelektrophorese mit einem diskontinuierlichen Puffersystem, modifiziert nach POULIK, 1957 (Gelpuffer: 0.07 mol. Tris-Citrat-Puffer pH 8.7; Elektrodenpuffer: 0.3 mol. NaOH-Borat-Puffer pH 8.2); Sichtbarmachung der Allozyne im Stärkegel mittels Inkubationsmischung nach SCANDALIOS, 1969 (Tris-Maleat-Puffer pH 5.4; L-Leucin-β-Naphthylamid HCL; Black K salt).

Über die Möglichkeit einer Identifizierung von Selbstbefruchtungsnachkommen durch Analyse von Isoenzymen in Endosperm- und Embryogewebe und eine erste Anwendung dieser Methode wurde vom Autor bereits kurz berichtet (G. MÜLLER, 1976 b). Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieses Verfahrens ist, daß keine gewebe- oder stadienspezifische Enzymsynthese-Schwankungen vorliegen, so daß von dem selben Allel ausgeprägte Allozym-Phänotypen in Endosperm und Embryo stets identisch sind. Dies trifft für das hier analysierte Enzymsystem zu, da bei über 99.5% aller untersuchten Samen das im Endosperm nach-

gewiesene Allel mit mindestens einem der Allele des korrespondierenden Embryos identisch war. Die Allozym-Phänotypen der restlichen Samen ließen sich entweder nicht eindeutig identifizieren, oder es konnten Zuordnungsfehler nicht ausgeschlossen werden.

Das Samenmaterial jeder Versuchsfläche wurde nach Einzelbäumen getrennt in folgender Weise analysiert:

I: Zum Auffinden geeigneter Versuchsbäume wurden die LAP-B-Genotypen aller Bäume anhand ihrer Allozym-Phänotypen identifiziert. Dies geschah durch Analyse des Endospermgewebes von jeweils sechs Samen pro Baum. Diese Anzahl reicht aus, um bei Heterozygoten die beiden Allele an dem betreffenden Genlocus mit einer Wahrscheinlichkeit von $p = 96.9\%$ in der Stichprobe auch vorzufinden.

II: Bei jedem ermittelten Versuchsbäum wurden an einer aus freier Abblüte stammenden Stichprobe von einigen hundert Samen Endosperm- und Embryoanalysen durchgeführt. Vergleicht man bei jedem einzelnen Samen dessen Allozym-Phänotypen aus Endosperm und Embryo, so läßt sich das Allel am LAP-B-Genlocus des zur Befruchtung gelangten Pollens im Embryo eindeutig nachweisen, da das entsprechende Allel des Versuchsbäumes im Endospermgewebe identifiziert werden kann und im Embryo in gleicher Form in Erscheinung tritt.

Weist ein Versuchsbäum an dem betreffenden Genlocus zwei seltene identische Allele auf, so können alle Nachkommen aus Selbstbefruchtung identifiziert werden, da bei ihnen die Allozym-Phänotypen in Endosperm und Embryo identisch sein müssen. Befindet sich an dem untersuchten Genlocus ein seltenes und ein häufiges Allel, so läßt sich nur die Hälfte der Selbstbefruchtungsnachkommen nachweisen: Steht *a* für das seltene und *A* für das häufige Allel, so gibt es unter den Nachkommen die vier Genotypen *aa*, *aA*, *Aa*, und *AA*, von denen nur diejenigen eindeutig zu identifizieren sind, die durch Pollen des Typs *a* befruchtet wurden. Es sind dies die Samen, die das seltene Allel im Endosperm und im Embryo aufweisen (*aa*) sowie diejenigen, bei denen das häufige Allel im Endosperm von dem seltenen im Embryo ergänzt wird (*Aa*). Die beiden anderen Genotypen *AA* und *aA* können sowohl aus Selbst- als auch aus Fremdbefruchtung stammen.

b) Untersuchungen an Chlorophyll-Mutanten

Dieses Verfahren beruht auf ähnlichen Prinzipien, nur daß zur Identifizierung der Nachkommen aus Selbstbefruchtung das Merkmal des vollständigen Chlorophyllmangels (Albinismus) benutzt wird. Da die Lebensfähigkeit von Albinos nur auf wenige Wochen des Sämlingsstadiums beschränkt ist, läßt sich bei den Mutterbäumen Homozygotie eines „Albino-Allels“ ebenso ausschließen wie dessen Dominanz, wenn feststeht, daß das Merkmal Albinismus von nur einem Genlocus kontrolliert wird und somit keine durch Interaktionen zwischen mehreren Genloci hervorgerufene Dosiseffekte auftreten können. Steht *a* für das rezessive „Albino-Allel“ und *A* für ein beliebiges anderes Allel, so kann ein Baum, dessen Nachkommenschaft Albinos enthält, an dem für die Ausprägung dieses Merkmals maßgeblichen Genort nur den Genotyp *Aa* aufweisen, so daß entsprechend den Mendel-Gesetzmäßigkeiten folgende Segregation unter seinen Selbstbefruchtungsnachkommen zu erwarten ist:

Genotypen aus Selbstbefruchtung: $AA : Aa : aA : aa = 1 : 1 : 1 : 1$

Phänotypen aus Selbstbefruchtung: $\overbrace{\text{Sämlinge}}^3 : \overbrace{\text{Albino-}}^1 : \overbrace{\text{mit Chlo-}}^1 : \overbrace{\text{Säm-}}^1 : \overbrace{\text{rophyll}}^1 : \overbrace{\text{linge}}^1 = 3 : 1$

Bei der Überprüfung dieser Hypothese mit Hilfe von Selbstbestäubungsexperimenten fand Koski (1973), daß der Anteil der Albino-Sämlinge an allen Nachkommen statt der erwarteten 25% bei *Picea abies* 14.2% und bei *Pinus silvestris* 21.1% betrug (gewogene Mittel aus den Nachkommen von 19 bzw. 17 Individuen). Eine bessere Übereinstimmung mit den erwarteten Werten erbrachten die Experimente von ANDERSSON, JANSSON und LINDGREN (1974) an *Picea abies*, wobei der Anteil der Albino-Sämlinge in 27 Nachkommenschaften aus künstlicher Selbst- bzw. Fremdbestäubung zwischen gleichen Genotypen insgesamt 24.6% betrug. Vergleichbare Experimente ergaben bei *Pseudotsuga menziesii* 19.6% (SORENSEN, 1973), bei *Pinus elliotti* ca. 25% (SQUILLACE und KRAUS, 1963) sowie 21.3% (KRAUS, 1975) und bei *Pinus taeda* 20.4% (FRANKLIN, 1969). Diese Ergebnisse werden von den Autoren übereinstimmend als Nachweis für den genannten Vererbungsmodus gewertet, wobei die Segregationsabweichung zuungunsten der Albino-Sämlinge auf ein Kopplungsungleichgewicht zwischen dem Marker-Gen und einem letalen bzw. mehreren subletalalen Genen zurückgeführt wird (SORENSEN, 1967 und 71).

Zur Identifizierung von Selbstbefruchtungsnachkommen wurde das bereits für die Isoenzym-Untersuchungen beschaffte Versuchsmaterial verwendet und nach Versuchsflächen getrennt wie folgt analysiert:

I: Zum Auffinden von Trägern des Albino-Merkogens („Versuchsbäume“) wurde von jedem Baum einer Versuchsfläche Samenmaterial aus freier Abblüte zur Aussaat gebracht. Methode: Aussortierung der Hohlkörner in 96%igen Alkohol; Aussaat der entflügelten Vollkörner in Vermiculit; Stratifizierung bei 7°C für die Dauer von 7–10 Tagen; Anzucht der Sämlinge auf dem selben Substrat bei 25°C in einer Berieselungsanlage. Pro Baum wurde eine Stichprobe von mindestens 300 Sämlingen auf das Vorhandensein von Albinos sorgfältig überprüft. Diese Anzahl reicht aus, um bei einer Übertretungswahrscheinlichkeit von $P = 10\%$ in der Stichprobe eines Versuchsbäumes mindestens einen Albino-Sämling vorzufinden, vorausgesetzt, daß unter den Nachkommen dieses Baumes Albinos in einer Häufigkeit von $p = 0.0075$ erwartet werden können ($P \leq \binom{n}{k} p^k \cdot (1-p)^{n-k}$ für binomial verteilte Stichproben des Umfangs n und mindestens k darin enthaltenen Albinos).

II: Befand sich in der Nachbarschaft von einem auf diese Weise ermittelten Versuchsbäum kein weiterer Träger des Albino-Merkogens, so wurde das noch zur Verfügung stehende Samenmaterial dieses Baumes nach der gleichen Methode ausgesät und die Anzahl der in dieser Stichprobe befindlichen Albino-Sämlinge festgestellt. Für die Auswertung waren verschiedene Kategorien vorgesehen (Sämlingsfarben weiß, gelblich-weiß, grünlich-weiß; Hypokotyl weiß; Kotyledonen weiß), jedoch wurden im gesamten Versuchsmaterial nur vollständig weiße Sämlinge vorgefunden. Die Beobachtungszeit betrug 4–6 Wochen.

2.3 Herleitung der erwarteten Selbstbefruchtungsraten

Ziel ist die Einschätzung des Anteils der aus freier Abblüte stammenden Selbstbefruchtungsnachkommen an allen mit keimfähigen Embryonen ausgestatteten Nachkommen eines Baumes. Die Identifizierung aller Nachkommen aus Selbstbefruchtung ist nur bei Anwendung der Isoenzym-

Methode möglich, und zwar dann, wenn ein Versuchsbäum homozygot bezüglich des als Marker benutzten Allels ist und Fremdbefruchtung durch andere Träger des gleichen seltenen Allels ausgeschlossen werden kann.

In allen anderen Fällen muß der nicht identifizierbare Anteil unter den Selbstbefruchtungsnachkommen anhand des identifizierten Teils eingeschätzt werden.

Die Schätzgenauigkeit hängt primär von der Entfernung eines Versuchsbäumes zu anderen Pollen-Emittenten des gleichen Typs ab. Ist diese Entfernung geringer als die Pollenreichweite, so wird die Selbstbefruchtungsrate um einen Beitrag zu hoch eingeschätzt, der von der Wahrscheinlichkeit abhängig ist, mit der ein Versuchsbäum durch Pollen von anderen Bäumen des gleichen Typs befruchtet werden kann. Wird etwa in einer repräsentativen Stichprobe von 80 Bäumen ein heterozygoter Versuchsbäum identifiziert, so kann unter der Voraussetzung einer gleich großen Pollenproduktion aller Bäume erwartet werden, daß der Anteil des Markergen-tragenden Pollens an der Gesamtmenge aller Pollen $0.5 \times 100/80 = 0.625\%$ beträgt. Wird die Entfernung der Paarungspartner zunächst nicht berücksichtigt (zufallsähnliche Fremdbefruchtung), so enthält der den Versuchsbäum befruchtende Fremdpollen zu 0.625% Pollen, der sich von dessen Eigenpollen nicht unterscheiden läßt. Wird ein Fremdbefruchtungsanteil von 90% unterstellt, so beträgt der Anteil der von diesen Pollen befruchteten Einzellen des Versuchsbäumes insgesamt $0.9 \times 0.625 = 0.562\%$.

Da die Befruchtungswahrscheinlichkeit mit zunehmender Entfernung der Paarungspartner jedoch stark abnimmt (Werte für Fichte und Kiefer siehe G. MÜLLER, 1976 a) und aufgrund der Kenntnis der Genotypen der Bäume eine Emission in der Nachbarschaft der Versuchsbäume ausgeschlossen werden kann, sind unter den hier maßgeblichen Versuchsbedingungen nur noch Werte von sehr nahe Null oder sogar gleich Null zu erwarten. Damit erübrigen sich Korrekturen der hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten.

Bis auf eine Ausnahme waren alle am LAP-B-Genlocus analysierten Versuchsbäume heterozygot, so daß jeweils nur zwei der vier aus Selbstbefruchtung stammenden Genotypen eindeutig identifiziert werden konnten. Als erster Schätzwert für die Selbstbefruchtungsrate wurde deren Anzahl verdoppelt und als prozentualer Anteil an allen Nachkommen angegeben. In einigen Fällen zeigten die Häufigkeiten der beiden identifizierbaren Genotypen *Aa* und *aa* starke Abweichungen von der erwarteten 1:1 Aufspaltung, und zwar stets zuungunsten des Typs *aa*. Als Ursache kommen verschiedene Phänomene in Frage, wie z. B. Gametenselektion durch nicht-zufallsähnliche Prozesse während der Meiose oder Genotypenselektion durch Koppungsungleichgewichte zwischen Marker-Genen und Lethalgenen sowie als Folge archegonischer Polyembryonie. Die Auswirkungen verschiedener Selektionsformen auf die daraus resultierenden Methoden zur Einschätzung der Selbstbefruchtungsraten werden anhand der Versuchsergebnisse im Abschnitt 3.1 erörtert.

Die Selbstbefruchtungsrate des Versuchsbäumes Nr. 106 konnte unmittelbar hergeleitet werden, da sich alle Selbstbefruchtungsnachkommen identifizieren ließen.

Zur Einschätzung der Selbstbefruchtungsraten der ein Albino-Markergen aufweisenden Versuchsbäume wurde der unter den Nachkommen eines Baumes ermittelte relative Anteil der Albino-Sämlinge mit dem Faktor Vier multipliziert. Keiner der analysierten Versuchsbäume wies zugleich ein Isoenzym- und ein Albino-Markergen auf.

3. Versuchsergebnisse

3.1 Endosperm- und Embryoanalysen

Die Ergebnisse und die daraus hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten der Versuchsbäume sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die Kennzeichnung der Genotypen der Versuchsbäume erfolgt entsprechend der Wanderungsgeschwindigkeit der ihre Allele repräsentierenden Allozym-Banden. So wird die am langsamsten wandernde Bande der LAP-B-Region bei beiden Baumarten B-1 benannt, die am schnellsten wandernde B-3 und eine bei Fichte vorkommende Doppelbande mit B-4 bezeichnet (schematische Darstellung siehe G. MÜLLER, 1976 b). Die bei Kiefer durch LAP-B-3 und bei Fichte durch LAP-B-3 bez. LAP-B-4 repräsentierten Allele waren in allen analysierten Stichproben selten vertreten und wurden daher als Marker-Allele benutzt. Unter den insgesamt 897 analysierten Bäumen befand sich nur ein Versuchsbäum, der bezüglich eines dieser beiden Allele homozygot war und keiner, der beide Allele zugleich aufwies.

a) Gametensegregation

Zur Überprüfung der Gametensegregation wurden die im Endosperm alternativ repräsentierten Allele der einzelnen Versuchsbäume zahlenmäßig erfaßt und ihre Häufigkeiten mit der erwarteten 1:1 Aufspaltung verglichen (Chi²-Test auf „Goodness of fit“ mit 1 Freiheitsgrad). Aus den in Tabelle 2 angegebenen Übertretungswahrscheinlichkeiten *P* ist ersichtlich, daß bei *P* = 10% die für den Versuchsbäum Nr. 2.5 B (*P* < 10%) ermittelten Werte signifikant von der erwarteten Gametensegregation abweichen. Als Ursache läßt sich nicht-zufallsähnliche Stichprobennahme vermuten, zumal dieser Baum als erster analysiert wurde und dabei vermutlich nicht genau genug auf eine optimale Durchmischung des Samenmaterials vor der Stichprobennahme geachtet wurde. Für diese Hypothese spricht das Ergebnis eines in der Stichprobe dieses Baumes enthaltenen Nachversuchs an einer weitestgehend zufällig entnommenen zusätzlichen Probe von 144 Samen: *B₂* : *B₃* = 73 : 71 mit $\chi^2 = 0.028$ und *P* = 87%. Zusätzlich können Stichprobefehler durch den Ausschluß besonders kleiner, schwer präparierbarer Samen verursacht werden. Eine Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen Merkmalen wie Samengröße oder Samengewicht und der Präsenz bestimmter Allele oder Genotypen wird zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt.

Abweichung von der erwarteten Gametensegregation können auch durch nicht-zufallsähnliche Prozesse bei der Chromosomen-Transmission während der Meiose („meiotic drive“) bedingt sein sowie durch nicht-reziproke Rekombination („gene conversion“ — Definitionen siehe RIEGER, MICHAELIS und GREEN, 1976). Die Wirkungen solcher Effekte konnten bisher jedoch nur bei Ascomyceten und verschiedenen Insektenarten nachgewiesen werden, wobei statt einer Aufspaltung von 1:1 Proportionen von 3:1, 1:3, 5:3 und 3:5 gefunden wurden (GUTZ und LESLIE, 1975). Die hier bei Fichte und Kiefer ermittelten Abweichungen von maximal 1.15 : 1 lassen sich daher vorerst nur als Stichprobefehler interpretieren.

b) Segregation unter den Nachkommen aus Selbstbefruchtung

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß unter den identifizierten Selbstbefruchtungsnachkommen der meisten Versuchsbäume eine starke Segregationsverzerrung zuungunsten des homozygoten Typs auftritt. Statt der erwarteten 1:1 Proportion liegt das Verhältnis der identifizierten Heterozygo-

ten zu den jeweiligen Homozygoten bei den Versuchsbäumen der Fichte zwischen 3.4 : 1 und 0.9 : 1, bei denen der Kiefer zwischen 2.2 : 1 und 0.6 : 1. Dieses Phänomen kann nicht mit den durch Stichprobenfehlern bedingten Abweichungen von der Gametensegregation zusammenhängen, es lässt sich aber auch bei deren Verursachung durch „meiotic drive“ oder „gene conversion“ nicht hinreichend erklären:

Tabelle 2. — Ergebnisse der Analysen am LAP-B-Genlocus der aus freier Abblüte stammenden Samensichproben einzelner Versuchsbäume sowie Darstellung der nach zwei Schätzmethoden hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten. Ergänzend werden Hohlkornanteile der Versuchsbäume mitgeteilt. Erläuterungen siehe Text.*

Baumart	Versuchs- Baum-Nr.	LAP- Geno- typen	Anzahl ana- lystischer Samen	Gameten- segregation	χ^2	P	Proportionen der identifizierten LAP-Genotypen aus Selbstbefruchtung		Erwartete Selbst- befruchtungsraten nach Methode (1)	Hohlkornanteil
<i>Picea abies</i>	2.5 B	B_2B_3	987	$B_2 : B_3 = 528 : 459$	4.82	3%	$B_2B_3 : B_1B_3 = 44 : 13$	11.6%	14.7%	27%
	5.1 G	B_1B_3	1026	$B_1 : B_3 = 525 : 501$	0.56	45%	$B_1B_3 : B_3B_3 = 31 : 9$	8.0%	9.9%	38%
	1	B_1B_3	556	$B_1 : B_3 = 270 : 286$	0.46	50%	$B_1B_3 : B_3B_3 = 16 : 5$	7.6%	9.5%	28%
	26	B_1B_3	336	$B_1 : B_3 = 173 : 163$	0.30	58%	$B_1B_3 : B_3B_3 = 16 : 5$	12.5%	15.8%	61%
	32	B_1B_3	594	$B_1 : B_3 = 295 : 299$	0.03	86%	$B_1B_3 : B_3B_3 = 13 : 15$	9.4%	9.1%	28%
	98	B_1B_4	571	$B_1 : B_4 = 298 : 273$	1.09	30%	$B_1B_4 : B_3B_4 = 29 : 14$	15.1%	17.7%	64%
	106	B_4B_4	576	—	—	—	$B_4B_4 = 42$	7.3%	7.3%	55%
	234	B_1B_4	273	$B_1 : B_4 = 129 : 144$	0.82	37%	$B_1B_4 : B_3B_4 = 7 : 9$	11.7%	11.0%	59%
<i>Pinus sylvestris</i>	1.1 G	B_2B_3	456	$B_2 : B_3 = 245 : 211$	2.54	11%	$B_2B_3 : B_3B_3 = 10 : 12$	9.6%	9.2%	41%
	0.5 D	B_2B_3	138	$B_2 : B_3 = 75 : 63$	1.04	31%	$B_2B_3 : B_3B_3 = 1 : 1$	2.9%	2.9%	22%
	1.2 E	B_2B_3	582	$B_2 : B_3 = 303 : 279$	0.99	32%	$B_2B_3 : B_3B_3 = 13 : 6$	6.5%	7.7%	24%
	1.5 B	B_2B_3	576	$B_2 : B_3 = 281 : 281$	0.00	100%	$B_2B_3 : B_3B_3 = 11 : 13$	8.3%	8.0%	26%
	69	B_2B_3	548	$B_2 : B_3 = 258 : 290$	1.87	17%	$B_2B_3 : B_3B_3 = 6 : 7$	4.7%	4.6%	28%
	4.2 D	B_1B_3	528	$B_1 : B_3 = 272 : 256$	0.48	49%	$B_1B_3 : B_3B_3 = 6 : 5$	4.2%	4.4%	30%

* Results of analyses on the LAP-gene locus of open pollinated seed samples from individual trees and a listing of rates of self-fertilization derived by means of two estimation methods. In addition empty seed percentages of experimental trees are given. For explanation see article.

Weisen die Gameten eines Versuchsbaumes eines der beiden Allele in geringerer Häufigkeit auf, so kann die Segregation unter den Nachkommen nur durch die unterschiedliche Allelhäufigkeit im Endosperm beeinflusst werden, da die identifizierbaren Selbstbefruchtungsnachkommen jeweils durch Pollen des gleichen LAP-B-Typs befruchtet wurden. Durch eine Gametensegregation von maximal 1.15 : 1 können daher keine Segregationsverzerrungen der genannten Größenordnungen ausgelöst werden. Gegen einen solchen Zusammenhang sprechen z. B. auch die Versuchsergebnisse bei Baum Nr. 1.1 G, unter dessen Selbstbefruchtungsnachkommen gerade der Typ in größter Häufigkeit vertreten ist, der homozygot bezüglich des bei der Gametensegregation benachteiligten Allels ist.

Die Verursachung durch Gametenselektion in anderen, nachmeiotischen Stadien ist ebenso unwahrscheinlich, da spezifische Inkompatibilitäten, durch deren Wirkung das Zusammentreffen bestimmter Gameten verhindert wird, bei Fichte und Kiefer nicht nachgewiesen sind. Ein bislang ebenfalls nicht nachgewiesener Zusammenhang zwischen der Viabilität von Pollen und der Präsenz bestimmter Allele am LAP-B-Genlocus könnte sich auf die hier gefundenen Segregationsproportionen ohnehin nicht auswirken, da die identifizierbaren Selbstbefruchtungsnachkommen heterozygoter Versuchsbäume den gleichen männlichen Gameten aufweisen.

Die gefundenen Segregationsverzerrungen müssen daher durch Selektionsprozesse bedingt sein, die erst von der Zygotebildung an wirken, d. h. durch Genotypenselektion. Bis zur Ausbildung eines vollständigen Embryos können zwei Formen der Genotypenselektion wirksam werden:

(1) Eliminierung bestimmter Genotypen als Folge der Homozygotisierung einzelner Letalgene oder mehrerer subtletaler Gene während der zygotalen und proembryonalen Phase: Vergleichende Untersuchungen des hierdurch bedingten Hohlkornanteils nach kontrollierten Kreuzungen (z. B. KOSKI, 1971; SORENSEN, 1971) haben gezeigt, daß Letalgene in individuenspezifischen Konstellationen zu erwarten sind. Deshalb ist die Wahrscheinlichkeit für das Zusammentreffen letaler Gene nach Selbstbefruchtung mindestens ebenso groß wie nach Fremdbefruchtung und die Intensität dieser Form der Genotypenselektion von der Anzahl rezessiver Letalgene (Letalallele) des jeweiligen Baumes abhängig. Daraus resultiert eine stärkere Benachteiligung aller Selbstbefruchtungsnachkommen, jedoch können die nachgewiesenen Segregationsverzerrungen nur durch ein Kopplungsgleichgewicht zwischen Marker- und Letalgenen verursacht werden, da nur unter dieser Bedingung bestimmte Genotypen aus Selbstbefruchtung stärker als andere aufgrund der Wirkung von Letalgenen benachteiligt sind.

SORENSEN (1967) untersuchte die möglichen Auswirkungen verschiedener Interaktionen zwischen einem Letalgen und einem Albino-Markergen auf das Segregationsverhältnis unter den aus Selbstbefruchtung stammenden Nachkommen. Sind die Gene gekoppelt (Rekombinationsindex $c < 0.5$) so variiert das Verhältnis der Phänotypen ohne Chlorophylldefekt zu den Albinos z. B. im Bereich $0.5 \geq c \geq 0.1$ von 3 : 1 bis 14.8 : 1. Besteht Kopplung zwischen einem nicht-letal Gen und dem Markergen, so variiert diese Relation im gleichen Bereich von 3 : 1 bis 2.03 : 1.

Durch Annahme entsprechender Kopplungsverhältnisse mit dem LAP-B-Genlocus könnten auf diese Weise alle gefundenen Segregationsverzerrungen erklärt werden. Unter den Nachkommen aus kontrollierten Kreuzungen wurden

solche Verzerrungen an diesem Genlocus bislang jedoch nicht nachgewiesen.

Da sich diese Form der Genotypenselektion primär auf die Häufigkeit der Markerallele tragenden Homozygoten auswirkt, rechtfertigt dies die Hypothese, daß die nicht identifizierbaren Genotypen aus Selbstbefruchtung mindestens in den gleichen Häufigkeiten zu erwarten sind wie die identifizierbaren Heterozygoten (Schätzmethode (2) in Tabelle 2).

(2) Eliminierung von Genotypen mit geringerer Viabilität als Folge der durch archegonale Polyembryonie bedingten Konkurrenz zwischen Embryonen während deren Entwicklungsphase: Zytologische und anatomische Untersuchungen an Embryonen haben gezeigt, daß die Anzahl befruchteter Archegonien pro Samenanlage bei Fichte nach Selbstbestäubung (KOSKI, 1971) ebenso wie bei Kiefer nach freier Abblüte (SARVAS, 1962) durchschnittlich 1.7 beträgt, aus denen dann in der Regel ein Embryo hervorgeht. Im Gegensatz zu (1) kann diese Form der Genotypenselektion wohl generell unterstellt werden.

Zur Überprüfung der Frage, ob und in welcher Weise die gefundenen Segregationsverzerrungen durch Selektion während der Entwicklung miteinander konkurrierender Embryonen bedingt sein kann, wird von folgenden Voraussetzungen ausgegangen:

Ein Versuchsbau hat den Genotyp Aa; der mütterliche Beitrag der in einer Samenanlage gebildeten Embryonen ist identisch; in jeder Samenanlage konkurrieren zwei Embryonen. Es werden nur die aus Selbstbefruchtung stammenden Genotypen AA, Aa, aA, aa berücksichtigt, von denen Aa und aa identifizierbar sind. Konkurrieren die Genotypen AA und Aa, soll AA den Selektionswert α und Aa den Selektionswert $(1-\alpha)$ haben; konkurrieren aA und aa, so sollen die entsprechenden Werte β und $(1-\beta)$ betragen. Aus der Kreuzung Aa \times Aa können folgende Embryo-Kombinationen pro Samenanlage resultieren:

Samenanlage	Embryo-Kombinationen	Wahrscheinlichkeiten
A	AA ; AA	1 AA
	AA ; Aa	α AA + $(1-\alpha)$ Aa
	Aa ; Aa	1 Aa
a	aa ; aa	1 aa
	aA ; aa	β aA + $(1-\beta)$ aa
	aA ; Aa	1 Aa

Alle Kombinationen sollen die gleiche Häufigkeit ($\frac{1}{6}$) haben. Die Genotypen-Häufigkeiten ergeben sich aus den genannten Wahrscheinlichkeiten. Zur Bestimmung des Bereiches, innerhalb dessen die Segregationsproportionen der Genotypen Aa und aa variieren können, werden die Genotypen-Häufigkeiten auf den Stichprobenumfang n normiert,

wobei $n = \sum_{i=1}^n n_i$:

$$p(AA) = \frac{1}{6} + \alpha \cdot \frac{1}{6} = \frac{1}{6} (1 + \alpha) = \frac{n_1}{n}$$

$$p(Aa) = \frac{1}{6} + (1 - \alpha) \cdot \frac{1}{6} = \frac{1}{6} (2 - \alpha) = \frac{n_2}{n}$$

$$p(aA) = \frac{1}{6} (1 + \beta) = \frac{n_3}{n}; p(aa) = \frac{1}{6} (2 - \beta) = \frac{n_4}{n}$$

Daraus folgt $\alpha = 2 - 6 \cdot \frac{n_2}{n}$ und $\beta = 2 - 6 \cdot \frac{n_4}{n}$.

Soll hinsichtlich der Selektionswerte keine Rangfolge der Genotypen untereinander bestehen, so gilt

$0 \leq \alpha \leq 1$ und $0 \leq \beta \leq 1$. Daraus folgt

$$0 \leq 2 - 6 \cdot \frac{n_i}{n} \leq 1 \quad \text{für } i = 2, 4$$

$$\frac{1}{6} n \leq n_i \leq \frac{1}{3} n \quad \text{für } i = 2, 4$$

$$\frac{1}{6} n \leq \frac{n_2}{n} \leq \frac{1}{3} n \rightarrow 1 : 2 \leq n_2 : n_4 \leq 2 : 1$$

Der mögliche Schwankungsbereich der Segregationsproportionen der identifizierbaren Genotypen Aa und aa liegt zwischen 0.5 : 1 und 2 : 1.

Werden Rangfolgen der Genotypen vereinbart, so bewirkt dies eine Verengung des möglichen Schwankungsbereiches: Gilt z. B. AA \geq Aa, aA \geq aa, so folgt entsprechend den vereinbarten Selektionswerten der Genotypen $0.5 \leq \alpha \leq 1$, $0.5 \leq \beta \leq 1$ und nach Einsetzen von α und β :

$$\frac{1}{6} n \leq n_i \leq \frac{1}{4} n \quad \text{für } i = 2, 4$$

$$\frac{1}{6} n \leq \frac{n_2}{n} \leq \frac{1}{4} n \rightarrow 2 : 3 \leq n_2 : n_4 \leq 3 : 2$$

Wird die experimentell gefundene Anzahl von durchschnittlich 1.7 Embryonen pro Samenanlage zugrunde gelegt, so reduzieren sich die hergeleiteten Abweichungen von der 1 : 1 Proportion um jeweils 30%. Für den allgemeinen Ansatz gilt dann ein Bereich von 0.65 : 1 bis 1.7 : 1.

Die zwischen den Genotypen AA und aA möglichen Segregationsverzerrungen lassen sich nach Berechnung der entsprechenden Wert für α und β analog herleiten. Der Schwankungsbereich ist identisch mit dem der Genotypen Aa und aa.

Wegen der Übereinstimmung der zwischen identifizierbaren und nicht identifizierbaren Genotypen möglichen Segregationsverzerrung wurde bei der Einschätzung der Selbstbefruchtungsraten auch die Hypothese eines gleich großen Anteils identifizierbarer und nicht identifizierbarer Selbstbefruchtungsnachkommen berücksichtigt (Schätzmethode (1) in Tabelle 2).

Außerhalb der durch Polyembryonie erklärbaren Segregationsverzerrungen liegen die Werte von 6 der 13 heterozygoten Versuchsbäume, wobei der Anteil unter den Fichten 71.4% beträgt und unter den Kiefern nur 16.7%. Für diese Abweichungen gibt es keine andere Erklärung, als Interaktionen zwischen individuellen Letalgen-Konstellationen und den jeweiligen Markergenen. Damit ist die individuenspezifische Präsenz von Letalgen ohne Durchführung aufwendiger Kreuzungsexperimente experimentell nachgewiesen. Ist das Versuchsmaterial repräsentativ, so sind Letalgen in Fichtenpopulationen in größerer Häufigkeit als in Kiefernpopulationen zu erwarten. Durch welche der beiden Formen von Genotypenselektion die zum Teil geringfügigen Segregationsverzerrungen bei den anderen Versuchsbäumen bedingt sind, läßt sich nicht eindeutig klären. Sicher ist nur, daß eine durch Polyembryonie bedingte Selektion in ihrer Wirkung auf die Segregationsproportionen sehr begrenzt ist.

c) Selbstbefruchtungsraten

Die Erörterung der ermittelten Gameten- und Genotypensegregation hat deutlich gemacht, daß die beiden in Tabelle 2 verwendeten Methoden zur Einschätzung der Selbstbefruchtungsraten ausreichen, um Auswirkungen durch Kopplungsgleichgewichte zwischen Marker- und Letalgenen sowie durch Polyembryonie hinreichend zu berücksichtigen. Sind die Segregationsproportionen zwischen den Genotypen

geringer als 0.65 : 1 bzw. größer als 1.7 : 1, so ist von der Schätzmethode (2) die höhere Genauigkeit zu erwarten, liegen die Proportionen darunter, so ist die Genauigkeit beider Methoden vergleichbar. Da die Schätzwerte für die zu erwartenden Selbstbefruchtungsraten Unter- und Obergrenzen repräsentieren, liegen mögliche Fehler in einem definierbaren, eng begrenzten Bereich. So beträgt die Differenz zwischen den nach beiden Methoden hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten bei den Versuchsbäumen der Fichte durchschnittlich weniger als 1.5%, bei denen der Kiefer sogar weniger als 0.1%.

Werden die nach beiden Schätzmethoden berechneten Werte der einzelnen Versuchsbäume einheitlich gemittelt, so beträgt die durchschnittliche Selbstbefruchtungsrate bei Fichte 11.1% und bei Kiefer 6.1%. Wird jedoch berücksichtigt, daß Segregationsproportionen geringer als 0.65 : 1 bzw. größer als 1.7 : 1 nur durch Letalgene bedingt sein können, so ist eine Mittelung der beiden Schätzwerte nur für Versuchsbäume innerhalb dieses Verzerrungsbereiches gerechtfertigt, während darüber hinaus nur Werte nach der Schätzmethode (2) herangezogen werden können. Dann beträgt die durchschnittliche Selbstbefruchtungsrate bei der Fichte 11.9% und bei der Kiefer 6.2%. Aufgrund der erörterten Sachverhalte sind letztere Werte als die genauesten Schätzwerte zu betrachten.

Die Frage, ob ein Stichprobe von 8 bzw. 6 Versuchsbäumen bereits ausreicht, um artspezifische Schätzwerte für die natürliche Selbstbefruchtungsrate in Fichten- und Kiefernbeständen zu ermitteln, läßt sich nicht eindeutig beantworten. Bei der Auswahl der Versuchsflächen wurde bewußt ein möglichst großes Spektrum charakteristischer Bestandesverhältnisse innerhalb der für die Reproduktion maßgeblichen Altersklassen erfaßt. Dabei zeigt sich, daß zwischen der Höhe der Selbstbefruchtungsraten der analysierten Versuchsbäume und den speziellen Gegebenheiten wie Bestandestyp, Alter und Bestockungsgrad keine generell gültigen Zusammenhänge nachweisbar sind. Im Einzelfall ließe sich z. B. bei Fichte ein Einfluß des Alters vermuten, da die geringste Selbstbefruchtungsrate beim jüngsten Baum (Nr. 106) auftritt und der höchste Wert bei ältesten (Nr. 98). Angesichts der Schwankungen der Selbstbefruchtungsraten auf denselben Versuchsflächen (z. B. Braunlage) und möglicher Verursachung durch andere Faktoren lassen sich solche Hypothesen hier nicht verallgemeinern. So könnte der hohe Wert von Nr. 98 ebenso durch geringes Fremdpollenangebot als Folge der isolierten Lage des Fichtenhorstes im Buchenbestand erklärt werden. Aus den gewonnenen Daten läßt sich allenfalls ein gewisser Einfluß

der Blühperiode auf die Selbstbefruchtungsraten der Kiefer erkennen: So beträgt die Differenz zwischen den Durchschnittswerten zweier verschiedener Jahre 2.6%, während ein entsprechender Wert bei Fichte nur 0.3% erreicht.

In Anbetracht der Verschiedenartigkeit der Versuchsbestände variieren die Selbstbefruchtungsraten bei beiden Baumarten nur gering und zeigen deutliche artspezifische Unterschiede. Es erscheint somit zulässig, die ermittelten Durchschnittswerte von 11.9% für Fichte und 6.2% für Kiefer vorerst als repräsentativ anzusehen.

Werden die in Tabelle 2 angegebenen Hohlkornanteile mit den jeweiligen Selbstbefruchtungsraten verglichen, so bestätigt sich die Hypothese, daß diese Werte bei beiden Baumarten nicht miteinander korreliert sind (Spearman rank correlation coefficient $r_s = 0.476$ bei Fichte und 0.486 bei Kiefer). Der Parameter Hohlkornanteil eignet sich daher nicht zur direkten Einschätzung von Selbstbefruchtungsraten aus frei abgeblühtem Samenmaterial. Daß dieser Parameter auch im Zusammenhang mit kontrollierten Kreuzungen keine zuverlässige Schätzgröße ist, zeigen Untersuchungen von Koski (1971) an *Pinus sylvestris*, denen zu folge künstliche Selbstbestäubungen an den selben Bäumen in verschiedenen Jahren zu jeweils unterschiedlichen Hohlkornanteilen führten.

3.2 Ergebnisse der Untersuchungen an Albino-Sämlingen

Die Ergebnisse dieses bereits häufig angewandten Standardverfahrens zur Einschätzung von Selbstbefruchtungsraten sollen mit den bereits beschriebenen Resultaten verglichen werden und diese ggf. ergänzen.

Die in den Samenstichproben der Versuchsbäume vorgefundenen Albino-Sämlinge und die daraus abgeleiteten Selbstbefruchtungsraten sind zusammen mit den jeweiligen Hohlkornanteilen in Tabelle 3 zusammengestellt. Aufgrund der von anderen Autoren nach künstlicher Selbstbestäubung gefundenen Segregationsverhältnissen wurde unterstellt, daß die identifizierten Albino-Sämlinge ein Viertel aller Selbstbefruchtungsnachkommen repräsentieren (siehe Abschnitt 2.2 b). Da nur die homozygoten Träger des Albino-Merkals identifizierbar sind und von den Versuchsbäumen kein Kreuzungsmaterial zur Verfügung steht, läßt sich diese Hypothese nicht überprüfen. Es erübrigt sich daher die Anwendung von Verfahren zur Erhöhung der Schätzgenauigkeit.

Die hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten variieren nur gering und weisen bei der Baumart Fichte entgegen den oben präsentierten Daten auffallend niedrige Werte auf. Sie betragen im Durchschnitt bei den Versuchsbäumen der

Tabelle 3. — Ergebnisse der Untersuchungen an den aus freier Abblüte stammenden Nachkommen der Versuchsbäume mit Albino-Merkogenen sowie Darstellung der erwarteten Selbstbefruchtungsraten. Ergänzend werden Hohlkornanteile der Versuchsbäume mitgeteilt. Erläuterungen siehe Text.*

Versuchs-Baum-Nr.	Anzahl analysierter Sämlinge	Anzahl Albino-Sämlinge	Erwartete Selbstbefruchtungsrate	Hohlkornanteil
<i>Picea abies</i>	1.5 D	2565	4.1%	33%
	2.1 C	1966	5.5%	39%
	2.8 D	1560	3.8%	52%
	3.7 A	1950	4.9%	38%
	211	720	8.9%	46%
<i>Pinus sylvestris</i>	3.1 C	828	8.2%	36%
	-2.6 A	1008	5.6%	21%
	1.6 A	910	1.8%	28%
	2.6 A	765	5.2%	34%

* Results of observations of open pollinated offspring from individual experimental trees carrying albino marker genes and a listing of the expected rates of self-fertilization. In addition empty seed percentages of experimental trees are given. For explanations see article.

Fichte 5.4%, bei denen der Kiefer 5.2%. Werden diese Werte mit den entsprechenden Durchschnittswerten aus den Endosperm- und Embryoanalysen verglichen, so beträgt die Differenz bei den Fichten 6.5% und bei den Kiefern 1.0%. Geht man davon aus, daß bei dem Isoenzym-Verfahren auch nur der homozygote Typ identifizierbar sei und berechnet die Selbstbefruchtungsraten dort ebenfalls durch Multiplikation mit dem Faktor 4, so beträgt der Durchschnittswert bei Fichte nur noch 7.3% statt 11.9% und bei Kiefer 5.9% statt 6.2%. Die Differenzen zwischen den Schätzwerten beider Verfahren betragen dann nur noch 1.9% bei der Fichte und 0.7% bei der Kiefer.

Damit wird ein entscheidender Nachteil des herkömmlichen Albino-Verfahrens offensichtlich: Da Segregationsverzerrungen nicht feststellbar sind, können Selbstbefruchtungsraten bei einer Versuchsanordnung wie dieser erheblich unterschätzt werden. Liegen Kopplungsungleichgewichte zwischen Letalgenen und dem Albino-Marker vor, so wächst der Schätzfehler mit zunehmendem Kopplungsgrad und ggf. mit der Zahl der beteiligten subletalalen Gene. Dies zeigen die unterschiedlichen Differenzen bei Fichte und Kiefer besonders deutlich. Damit steht fest, daß die Albino-Verfahren hinsichtlich der Schätzgenauigkeit nicht konkurrieren kann, daß es zugleich aber auch die Größenordnung der Schätzwerte des Isoenzym-Verfahrens bestätigt, wenn vergleichbare Modalitäten vorliegen. Die hier hergeleiteten Werte können aufgrund der insbesondere bei den Fichten zu erwartenden Schätzfehler somit bei der Einschätzung artspezifischer Selbstbefruchtungsraten nicht berücksichtigt werden.

Ein Vergleich der in Tabelle 3 angegebenen Hohkornanteile mit den jeweiligen Selbstbefruchtungsraten verdeutlicht, daß auch hier diese Werte bei beiden Baumarten nicht miteinander korreliert sind (Spearman rank correlation coefficient $r_s = 0$ bei Fichte und 0.40 bei Kiefer).

4. Diskussion

Die aus Selbstbefruchtung resultierenden nachteiligen Wirkungen wurden einleitend ausführlich erörtert. Die Einschätzung der realen Bedeutung dieses Sachverhaltes erfordert vor allem im Interesse der Forstpflanzenzüchtung die Erarbeitung zuverlässiger Informationen über die zu erwartende Präsenz von Selbstbefruchtungsnachkommen in Waldbaumpopulationen. Dies betrifft die als Ausgangsmaterial der Züchtung dienenden Waldbestände ebenso wie spezielle Zuchtpopulationen. Ausgangspunkt ist dabei eine präzise Analyse natürlicher Selbstbefruchtungsraten, die hier ausschließlich Waldbestände betrifft, später aber durch entsprechende Untersuchungen in Samenplantagen ergänzt werden wird.

Als Voraussetzung für die genaue Einschätzung von Selbstbefruchtungsraten wurden für beide Verfahren nur Versuchsbäume ausgewählt, deren Abstand zu möglichen weiteren Trägern des gleichen seltenen Merkmals so groß war, daß aufgrund der Kenntnisse über die Pollenverbreitung in Fichten- und Kiefernbeständen Bestäubungswahrscheinlichkeiten von Null oder zumindest sehr nahe Null unterstellt werden konnten (siehe Abschnitt 2.3).

Läßt sich ausschließen, daß zu hohe Selbstbefruchtungsraten vorgetäuscht werden, so hängt die Genauigkeit der hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten primär davon ab, wie zuverlässig der Anteil der nicht identifizierbaren Selbstbefruchtungsnachkommen eingeschätzt werden kann. Die größte Genauigkeit ist nach Anwendung eines kombinierten Verfahrens zu erwarten, bei dem die Segregationsverhältnisse unter den Selbstbefruchtungsnachkommen zu-

nächst mittels künstlicher Selbstbestäubung überprüft und die vorgefundene Proportionen auf die Analysenergebnisse des aus freier Abblüte stammenden Samenmaterials desselben Baumes übertragen werden.

Ein solches Verfahren ist jedoch sehr arbeitsintensiv und erfordert wegen der Durchführung der Bestäubungsexperimente einen von der Entwicklungsdauer der Samen bestimmten Zeitraum, der bei der Fichte mindestens 6 und bei der Kiefer 18 Monate beträgt. Dieser Aufwand ist nur gerechtfertigt, wenn Zweifel an der genetischen Kontrolle der zur Identifizierung zur Verfügung stehenden Genmarker bestehen oder wenn bei eindeutigem Vererbungsmodus mögliche Abweichungen der Segregationsproportionen nicht erkennbar sind.

Hier werden die Unterschiede zwischen den beiden angewandten Verfahren besonders deutlich: Bei der Analyse von Isoenzym-Genmarkern läßt sich deren genetische Kontrolle widerspruchsfrei klären, da alle Genotypen eindeutig identifizierbar sind. Wird das aus freier Abblüte stammende Samenmaterial untersucht, so sind mindestens zwei der vier aus Selbstbefruchtung stammenden Genotypen identifizierbar, so daß individuenspezifische Abweichungen von den erwarteten Segregationsproportionen erkannt werden können und der Anteil nicht identifizierbarer Selbstbefruchtungsnachkommen einschätzbar ist. Damit ist dieses Verfahren von der kombinierten Durchführung von Bestäubungsexperimenten unabhängig.

Mit Hilfe des Albino-Verfahrens läßt sich immer nur genau ein Pänotyp aus Selbstbefruchtung identifizieren, dessen Häufigkeit nach künstlicher Selbstbestäubung sehr stark schwanken kann (Koski, 1973: 1—38%). Die Anwendung dieses Verfahrens empfiehlt sich somit nur in Kombination mit Bestäubungsexperimenten, da andernfalls nicht mehr einschätzbare Fehler auftreten können. Als ein Unsicherheitsfaktor bleibt jedoch bestehen, daß die genetische Kontrolle des Merkmals Albinismus noch nicht widerspruchsfrei geklärt ist. So berichtet Koski (1973), daß sich nach Kreuzungen zwischen Bäumen mit Albino-Merkern in einigen der Nachkommenschaften keine Albino-Sämlinge befanden. Daraus ist zu schließen, daß zumindest in diesen Fällen die genetische Kontrolle dieses Merkmals einem bestimmten Genlocus nicht zugeordnet werden kann.

Somit beruht die eigentliche Bedeutung des Verfahrens der Analyse von Isoenzym-Genmarkern in Endosperm und Embryo darauf, daß nach Abklärung der Art der genetischen Kontrolle keine weiteren individuenspezifischen Bestäubungsexperimente erforderlich sind. Durch vergleichende Endosperm- und Embryoanalysen des aus freier Abblüte stammenden Samenmaterials kann die Gametensegregation ebenso wie die Segregationsproportionen zwischen zwei der vier aus Selbstbefruchtung stammenden Genotypen eindeutig überprüft werden. Damit besteht die Möglichkeit, bestimmte Formen der Gameten- und Genotypenselektion zu untersuchen. So ließen sich aus den hier gewonnenen Ergebnissen z. B. individuenspezifische Wirkungen durch Letalgene nachweisen. Die allgemein nachweisbaren Selektionswirkungen wurden bereits im Zusammenhang mit der Darstellung der Versuchsergebnisse im Abschnitt 3.1 eingehend erörtert.

Weist ein Versuchsbau zwei Marker-Allele auf, so können aus dem aus freier Abblüte stammenden Material hinsichtlich der Segregationsproportionen die gleichen Informationen gewonnen werden wie nach künstlicher Selbstbestäubung.

Die mit Hilfe dieses Verfahrens ermittelten Ergebnisse verdeutlichen, daß zwischen den Selbstbefruchtungsraten

der Baumarten Fichte und Kiefer artspezifische Unterschiede vorliegen. Zu verallgemeinernde Abhängigkeiten von den speziellen Merkmalen der Versuchsbestände können nicht nachgewiesen werden. Die durchschnittlich zu erwartende Selbstbefruchtungsrate wird bei Fichte auf 11.9%, bei Kiefer auf 6.2% geschätzt. Diese Werte liegen weit über dem einleitend genannten Reziprokwert aus der Populationsgröße, zumal die hier analysierten Stichproben aus Populationen stammen, die jeweils mehrere hundert Bäume umfassen. Durch diesen gegenüber der Zufallspaarung zusätzlichen Beitrag an Verwandtenpaarung wird zwingend Inzucht induziert. Die Frage, inwieweit die Präsenz von durchschnittlich 11.9 bzw. 6.2% Selbstbefruchtungsnachkommen in einer Population auf dem Wege der Selektion verringert wird, lässt sich gegenwärtig nicht beantworten. Die Wahrscheinlichkeit, mit der Selbstbefruchtungsnachkommen eliminiert werden, muß bei Anwendung moderner Bewirtschaftungsformen (z. B. weite Planzverbände, Reihendurchforstung, siehe Abschnitt 1) sehr viel geringer eingeschätzt werden als unter den Bedingungen der natürlichen Selektion. Diese im Ausgangsmaterial der Züchtung bestehende Tendenz einer zunehmenden Präsenz von Selbstbefruchtungsnachkommen wird in Zuchtpopulationen durch die Verwendung genotypisch identischer Individuen verstärkt.

Über mögliche Konsequenzen, insbesondere im Zusammenhang mit den zu erwartenden mittleren Inzuchtkoeffizienten, wird berichtet, sobald ausreichende Informationen über Selbstbefruchtungsraten in Zuchtpopulationen vorliegen.

5. Zusammenfassung

Die aus Selbstbefruchtung resultierenden nachteiligen Wirkungen und deren Bedeutung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung werden ausführlich dargestellt.

Zur Identifizierung der aus freier Abblüte stammenden Selbstbefruchtungsnachkommen einzelner Bäume werden Merkmale benutzt, deren genetische Kontrolle nachgewiesen ist. Es sind dies Isoenzyme der monomeren Leucin-Aminopeptidase (LAP) im Endosperm- und Embryogewebe (Verfahren (1)) sowie der vollständige Chlorophyllmangel bei Sämlingen (Verfahren (2)).

Das Versuchsmaterial stammt von zusammenhängenden Flächen, auf denen alle samentragenden Bäume getrennt beerntet wurden. Die Positionen aller Bäume sind bekannt. Als Versuchsbäume eignen sich nur diejenigen Träger seltener Merkmale, deren räumlicher Abstand zu möglichen anderen Bäumen des gleichen Typs groß genug ist, um eine Bestäubung durch deren Pollen weitestgehend auszuschließen. Zum Auffinden geeigneter Versuchsbäume werden bei Verfahren (1) die LAP-Genotypen aller Bäume durch Endospermanalysen ermittelt (Stärkegel-Zonelektrophorese). Weist ein Versuchsbäum am LAP-B-Genlocus ein seltenes Allel auf, so können aus dessen Samenmaterial durch vergleichende Endosperm- und Embryoanalysen zwei der vier Genotypen aus Selbstbefruchtung identifiziert werden. Trägt der Versuchsbäum zwei seltene Allele, so lassen sich auf diese Weise alle Selbstbefruchtungsnachkommen identifizieren. Bei Verfahren (2) wird anhand einer Stichprobe von mindestens 300 Sämlingen pro Baum überprüft, ob der jeweilige Mutterbaum das rezessive „Albino-Allel“ aufweist. Steht ein geeigneter Versuchsbäum zur Verfügung, so wird die Häufigkeit der Albino-Sämlinge unter allen Nachkommen dieses Baumes ermittelt. Bei der Einschätzung der Selbstbefruchtungsraten wird unterstellt, daß diese Sämlinge 25% aller Selbstbefruchtungsnachkommen repräsentieren.

Mit Verfahren (1) werden die Selbstbefruchtungsraten von insgesamt 14 Versuchsbäumen aus 10 verschiedenen Beständen eingeschätzt. Unter den identifizierbaren Selbstbefruchtungsnachkommen von fünf Fichten und einer Kiefer

treten starke Abweichungen von den erwarteten 1:1 Proportionen auf (von 0.6:1 bis 3.4:1). Eine Verursachung durch Gametenselektion kann aufgrund der gefundenen Gametensegregationen ausgeschlossen werden. Es läßt sich nachweisen, daß durch Genotypenselektion als Folge archegonialer Polyembryonie Verzerrungen innerhalb eines Bereiches von 0.65:1 bis 1.7:1 hervorgerufen werden können, während darüber hinausgehende Abweichungen durch Genotypenselektion infolge von Kopplung zwischen Marker- und Letalgen bedingt sind. Daraus werden zwei Methoden zur Einschätzung des Anteils nicht identifizierbarer Selbstbefruchtungsnachkommen abgeleitet. Die hergeleiteten Selbstbefruchtungsraten variieren bei den Fichten von 7.3% bis 17.7%, bei den Kiefern von 2.9% bis 9.6%.

Die mit Hilfe des Verfahrens (2) eingeschätzten Selbstbefruchtungsraten von insgesamt 9 Versuchsbäumen zeigen bei der Baumart Fichte deutliche Abweichungen von den oben genannten Werten. Weitgehende Übereinstimmung besteht jedoch dann, wenn bei beiden Verfahren nur die Häufigkeit der homozygoten Typen berücksichtigt wird. Daraus ist ersichtlich, daß im Falle von Genotypenselektion aus dem Albino-Verfahren Schätzfehler resultieren, die nur bei kombinierter Durchführung von Bestäubungsexperimenten vermieden werden können. Von diesen zusätzlichen Experimenten ist das Isoenzym-Verfahren jedoch unabhängig.

Aus den Werten der Versuchsbäume mit Isoenzym-Merkern wird die durchschnittlich zu erwartende Selbstbefruchtungsrate für die Baumart Fichte auf 11.9%, für die Baumart Kiefer auf 6.2% geschätzt.

Schlagworte: Selbstbefruchtung, Koniferen, Isoenzyme, Endosperm, Embryo, Letalgen, Albino-Sämlinge.

Mein besonderer Dank gilt Frau RODECK und Herrn KRAKUHN für die im Labor geleistete Arbeit sowie Herrn Dr. GREGORIUS für wertvolle Ratschläge und Diskussionen. Die Beschaffung des Versuchsmaterials wurde erleichtert durch das freundliche Entgegenkommen der Herren aus den zuständigen hessischen und niedersächsischen Forstämtern.

Diese Arbeit wurde gefördert aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Summary

Title: Investigations on the degree of natural self-fertilization in stands of Norway spruce (*Picea abies* (L.) KARST.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.).

The detrimental effects resulting from self-fertilization and its significance in forest genetics and forest tree breeding are presented comprehensively.

To identify open pollinated offspring from self-fertilization of individual trees, characters are used, the genetic control of which has been proven. These are the isoenzymes of the monomeric leucin-aminopeptidase (LAP) in the endosperm and embryo tissue (method (1)) as well as the complete lack of chlorophyll in seedlings (method (2)).

The experimental material originate from continuous parts of stands on which all the seed-bearing trees were harvested separately. The positions of all trees are known. Suitable experimental trees are only those carriers of rare markers whose distances to trees of the same type are large enough to essentially exclude cross-pollination.

To find suitable experimental trees, the LAP-genotypes of all trees are determined by means of endosperm analyses (starch gel zone elektrophoresis). If an experimental tree carries one rare allele on the LAP-B-gene locus, then two out of a total of four genotypes resulting from self-fertilization can be identified from its seeds by means of analysis of endosperm and corresponding embryo. If the experimental tree carries two rare alleles, then all the offspring from self-fertilization can be identified in this way (for method see also MÜLLER, 1976 b).

Applying method (2), a sample of at least 300 seedlings per tree is used to test whether the corresponding mother tree carries the recessive "albino-allele". If a suitable experimental tree is available, then the frequency of the al-

bino-seedlings among the progeny of that tree is determined. Estimating the rates of self-fertilization, it is assumed that these seedlings represent 25% of all the offspring from self-fertilization.

By means of method (1), the rates of self-fertilization of a total of 14 experimental trees from 10 different stands are estimated. Among the identifiable genotypes from self-fertilization of five Norway spruce trees and one Scots pine tree, large deviations from the expected 1:1 proportion are detected (from 0.6:1 to 3.4:1). This cannot be explained by gametic selection because of the observed gametic segregations. It can be proven that genotypic selection resulting from archegonial polyembryony can cause distortions within the range from 0.65:1 to 1.7:1, whereas deviations greater than these are caused by genotypic selection resulting from linkage between marker and lethal genes. From this, two methods are derived to estimate the share of the not identifiable offspring from self-fertilization. The derived rates of self-fertilization vary from 7.3 to 17.7% in the Norway spruce trees and from 2.9 to 9.6% in the Scots pine trees. Applying method (2), the estimated rates of self-fertilization of a total of 9 experimental trees indicate distinct deviations from the above presented values for the Norway spruce trees. However, a good agreement exists when only the frequency of the homozygous type is taken in consideration. This indicates that in the case of genotypic selection, estimation errors can result from the application of the albino-method. These errors can be avoided only by parallel performance of pollination experiments. However, the isoenzyme-method is independent of such additional experiments.

The average expected rate of self-fertilization derived from the values of the experimental trees carrying isoenzyme-marker genes is estimated to be 11.9% for Norway spruce and 6.2% for Scots pine.

Key words: Self-fertilization, conifer, isoenzyme, endosperm, embryo, lethal gene, albino-seedlings.

Literatur

ANDERSSON, E., JANSSON, R., und LINDGREN, D.: Some results from second generation crossings involving inbreeding in Norway spruce (*Picea abies*). *Silv. Gen.* 23, 34–43 (1974). — BERGMANN, F.: Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzyme-Identifizierung. I. Möglichkeiten für genetische Zertifizierung von Forstsaaftgut. *Allg. Forst- u. J.Ztg.* 142, 278–280 (1971). — BERGMANN, F.: Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzym-Identifizierung. II. Genetische Kontrolle von Esterase- und Leucinaminopeptidase-Isoenzymen im haploiden Endosperm ruhender Samen. *Theor. and Appl. Genetics* 43, 222–225 (1973). — CROW, J. F., and KIMURA, M.: An introduction to population genetics theory. Harper and Row, New York (1970). — ERIKSSON, G., SCHELANDER, B., and AKERBRAND, V.: Inbreeding depression in an old experimental

plantation of *Picea abies*. *Hereditas* 73, 185–194 (1973). — FRANKLIN, E. C.: Mutant forms found by self-pollination in loblolly pine. *J. Hered.* 60, 315–320 (1969). — FRANKLIN, E. C.: Survey of mutant forms and inbreeding depression in species of the family *Pinaceae*. *USDA For. Serv. Res. Pap. SE-61*, 1–21 (1970). — FRANKLIN, E. C.: Classical inbreeding in forest tree improvement. *IUFRO-Proceedings, Meeting S.02.04, 1–3, Stockholm, 147–153 (1974 a)*. — FRANKLIN, E. C.: Pollination in slash pine: first come, first served. In JOHN KRAUS (ed.): *Seed Yield from Southern Pine Seed Orchards Colloquium Proc.*, p. 15–20. Ga. For. Res. Coun., Macon, Ga. (1974 b). — GANSEL, CH. R.: Effects of several levels of inbreeding on growth and oleoresin yield in slash pine. *Proceed. 11th. Conf. on Southern Forest Tree Improvement*, Atlanta, 173–177 (1971). — GREGORIUS, H. R.: Some Fundamental Relationships between Genetic and Genotypic Multiplicity in Diploid Populations. *Mathematical Biosciences* 34 (1977). — GREGORIUS, H. R. and MÜLLER, G.: Genetic structure in finite, open-pollinated plant populations: A model and its application to seed orchards. *Theor. and Appl. Gen.* 46, 295–305 (1975). — GUTZ, H. and LESLIE, J. F.: Gene Conversion: A Hitherto Overlooked Parameter in Population Genetics. *Genetics* 83, 861–866 (1976). — HAGMAN, M.: Incompatibility in forest trees. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 188, 313–326 (1976). — KOSKI, V.: Embryonic lethals and empty seeds in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Comm. Inst. For. Fenn.* 75.3 1–30 (1971). — KOSKI, V.: On self-pollination, genetic load, and subsequent inbreeding in some conifers. *Comm. Inst. For. Fenn.* 78.10, 1–42 (1973). — KRAUS, J. F.: Estimates of Selfed Seedling Production from a Slash Pine Seed Orchard Based on Gene Markers. *Proceed. 13th South. For. Tree Impr. Conf. Raleigh*, 93–96 (1975). — KRIEBEL, H. B.: Inbreeding depression in eastern white pine. *Proc. 9th Central States Forest Tree Improvement Conference*, Ames, Iowa, 48–55 (1974). — LUNDKVIST, K.: Inheritance of leucine aminopeptidase isozymes in *Picea abies* K. *Hereditas* 76, 91–96 (1974). — MÜLLER, G.: Einschätzung genetischer Verwandtschafts- und Inzuchtverhältnisse anhand der Pollen- und Samenverbreitung bei Fichte (*Picea abies* (L.) KARST.) und Kiefer (*Pinus sylvestris*). *Dissertation Forstl. Fak. Univ. Göttingen* (1976 a). — MÜLLER, G.: A simple method of estimating rates of self-fertilization by analysing isozymes in tree seeds. *Silvae Gentica* 25, H. 1, 15–17 (1976 b). — MÜLLER, G.: Probabilities of self- and cross-fertilization in a Scots pine seed orchard as indicated by isozyme analyses (1978, in Vorbereitung). — POULIK, M. D.: Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180, 1477–1478 (1957). — RIEGER, R., MICHAELIS, A., and GREEN, M.: A glossary of genetics and cytogenetics. Springer, Heidelberg (1976). — RUDIN, D.: Leucine-amino-peptidase (LAP) from needles and macrogametophytes of *Pinus sylvestris* L. — a study of inheritance of allozymes. *Hereditas* (1977, in Druck). — SARVAS, R.: Investigations of the flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. *Comm. Inst. For. Fenn.* 53, 1–198 (1962). — SCANDALIOS, J. G.: Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: A review. *Biochem. Genet.* 3, 37–79 (1969). — SORENSEN, F.: Linkage between marker genes and embryonic lethal factors may cause disturbed segregation ratios. *Silvae Genet.* 16, 132–134 (1967). — SORENSEN, F. C.: Estimate of self fertility in coastal Douglas-fir from inbreeding studies. *Silvae Genet.* 20, 115–120 (1971). — SORENSEN, F. C.: Frequency of seedlings from natural self-fertilization in coastal Douglas-fir. *Silvae Genet.* 22, 20–24 (1973). — SQUILLACE, A. E. and KRAUS, J. F.: The degree of natural selfing in slash pine as estimated from albino frequencies. *Silvae Genet.* 12, 46–50 (1963).