

Charakterisierung von Fichtenklonen (*Picea abies* Karst.) mit Hilfe morphologischer, physiologischer und biochemischer Merkmale (III.)

Von J. Kleinschmit ¹⁾, J. Lunderstädt ²⁾ und J. Svolba ¹⁾.

(Eingegangen 17. September 1980)

Zusammenfassung

An 1500 Einzelpflanzen von 500 Klonen (3 Pflanzen je Klon) wurden insgesamt 99 Merkmale erfaßt. Die morphologischen, physiologischen und biochemischen Merkmale werden in dieser zusammenfassenden Auswertung für eine automatische Gruppierung der Einzelpflanzen in einer Clusteranalyse verwendet. Es zeigt sich, daß bei Einbeziehung aller Merkmale nur in 1% der Fälle fehlerhafte Zuordnungen auftraten. In allen anderen Fällen sind die 3 Pflanzen eines Klons aufgrund ihrer Ähnlichkeit in eine disjunkte Gruppe geordnet worden. Den größten Beitrag zu der Trennung haben die biochemischen Merkmale geleistet. Die morphologischen und physiologischen Merkmale allein führten in 50% der Fälle zu fehlerhaften Zuordnungen.

Auffallend ist bei den Ergebnissen der Clusteranalyse, daß die Klone der gleichen Herkünfte auf sehr unterschiedlichen Ähnlichkeitsniveaus verbunden sind und daß in sehr vielen Fällen Klone verschiedener Herkünfte untereinander ähnlicher sind als die Klone der gleichen Herkunft. Dies zeigt, daß die natürlichen Populationen von Fichte eine sehr große genetische Variation erhalten, die man als Anpassungsreserve auf eine in Raum und Zeit heterogene Umwelt interpretieren kann. Eine Spezialisierung scheint bei Fichtenherkünften im zentralen Bereich des natürlichen Verbreitungsgebietes nicht aufzutreten. Randpopulationen, die einem stärkeren Selektionsdruck unterliegen können, wurden hier nicht untersucht.

Summary

99 characteristics were evaluated for 500 clones, with 3 replications each. All morphological, physiological and biochemical characteristics were utilized in this comprehensive evaluation for automatic classification of the single plants in a cluster-analysis. The results show that only 1% incorrect allocations could be observed when using all 99 characteristics in the cluster analysis. In the remaining cases 3 plants of one clone were grouped into disjunct groups according to their similarity. Biochemical characteristics contributed more than the other characteristics to separate the groups. A cluster analysis of morphological and physiological characters alone resulted in 50% incorrect associations of the individual plants. From the results it is obvious, that clones of the same provenance can be connected on quite different similarity levels. Often clones of different provenances are more similar than clones of the same provenance.

An important conclusion is, that natural populations of Norway spruce maintain considerable genetic variation, which can be explained as adaptational potential for a heterogenous environment in time and space. Specialisation does not seem to occur in the central part of the natural range of Norway spruce. Marginal populations subjected to strong selection pressure, were not included in this study.

Key words: identification, genetic variation, adaptation, Norway spruce.

¹⁾ Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt, Abt. Forstpflanzenzüchtung, 3513 Escherode, Bundesrepublik Deutschland

²⁾ Institut für Forstzoologie der Universität Göttingen, 3400 Göttingen, Bundesrepublik Deutschland

Einleitung

Ziel der Untersuchung war es, Klone von Fichte zu identifizieren. Über Merkmalerhebung und Variation der Merkmale wurde in früheren Veröffentlichungen (A. SAUER *et al.* 1973; A. SAUER-STEGMAN *et al.* 1978) berichtet.

In dieser zusammenfassenden Auswertung sollen alle morphologischen, physiologischen, chemischen und biochemischen Merkmale, die für 1.500 Einzelpflanzen (= 3 Pflanzen von je 50 Klonen aus 10 Herkünften) erhoben wurden, zusammengefaßt betrachtet werden, um zu klären, inwieweit diese Merkmale ausreichen, die Einzelpflanzen den Klonen eindeutig zuzuordnen.

Für die Auswahl der biochemischen Merkmale waren folgende Gesichtspunkte maßgebend:

Das merkmalsstragende Gewebe sollte

1. zu jeder beliebigen Zeit während des ganzen Jahres
 2. ohne wesentliche Verletzung der Pflanze
 3. in kleiner aber dennoch repräsentativer Menge entnehmbar,
- das biochemische Merkmal sollte
1. möglichst stabil
 2. in Anbetracht zu erwartender großer Serien vorrangig mit einfachen Techniken analysierbar sein.

Sekundäre Pflanzenstoffe ließen erwarten, diesen Forderungen weitgehend entgegenzukommen. Einfache Terpene schienen trotz ihrer analytisch leichten Handhabung und ihrer bekannten Struktur aus dieser Gruppe wegen ihres hohen Dampfdruckes und der daraus folgenden leichten Flüchtigkeit weniger geeignet als ihre polymerisierten bzw. höhermolekularen Formen wie Polyphenole bzw. Sesquiterpene.

Bei der von uns angewandten Technik stellten Vertreter dieser letztgenannten Stoffklassen das zu untersuchende Merkmal. Wegen der hohen Zahl chemisch sehr nahe verwandter Formen in beiden Klassen und der daraus folgenden sehr zeit- und arbeitsaufwendigen Identifizierung der Einzelverbindungen konnte diese nicht durchgeführt werden. Vielmehr wurden unter dem Gesichtspunkt „Klonidentifizierung“ die Muster quasi als Fingerabdruck verglichen, wie sie sich nach gaschromatischer Trennung ergaben. Hauptnachteil dieser Arbeitsweise ist, daß ein peak definierter Retentionszeit aus mehreren Einzelverbindungen bestehen kann. Beobachtete Verschiedenheiten zwischen zwei Klonen können im Falle summarischer Betrachtung auf quantitative Änderungen einer, mehrerer oder aller Komponenten zurückzuführen sein. Dies kann einen mehr oder minder hohen Informationsverlust bedeuten. Der Vorteil liegt darin, daß die Nadel als Ganzes ohne Wundsetzung und die danach möglichen Verfälschungen des Spektrums ihrer Inhaltsstoffe entnommen wird; zusätzlich sind dabei keine besonderen und unter Umständen schwer reproduzierbare Techniken notwendig.

Auswertung der morphologischen, physiologischen, chemischen und biochemischen Daten

Auswertungen wurden für alle erhobenen Merkmale vorgenommen. Die Rechenarbeiten wurden auf der UNIVAC 1108 Rechenanlage der Gesellschaft für wissenschaftliche Datenverarbeitung in Göttingen ausgeführt. Die mehrstufigen Merkmale wurden transformiert und dann wie quantitative Merkmale behandelt (SACHS 1972).

Merkmale mit geringer genetischer Varianz (Schädlingbefall, Knospenzahl, Nadelform, Peaks 11, 28, 31, 32, 80) wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Für die Gruppierung wurde als geeignetes Verfahren die Automatische Klassifikation oder Clusteranalyse (Bock 1976, 1974) gewählt, welche die einzelnen Objekte ihrer größten Ähnlichkeit entsprechend einander zuordnet. Für das Ähnlichkeitsmaß werden alle Merkmale herangezogen. Für Clusteranalysen wurde das Programmpaket CLUSTAN von WISHARDT verwendet. Durch eine vorgeschaltete Hauptkomponentenanalyse wurde die Zahl der Variablen für die Peaks auf 20 Hauptkomponenten reduziert (Progr. FILE und RESULT). Von den verschiedenen Optionen zur Erstellung der Ähnlichkeitsmatrix wurde der euklidische Abstand gewählt, weil dies eine der einfachsten und plausibelsten Maßzahlen ist und weil er nach der Normierung eine Wichtung der Einzelmerkmale entsprechend ihrer genetischen Kontrolle zuließ. Für die Gruppierung selbst ist die „WARDS ERROR SUM OF SQUARES METHOD“ verwendet worden, die zu einer hierarchischen Gruppierung disjunkter Gruppen führt, die Bearbeitung großer Datenmengen zuläßt und für unser Problem am besten geeignet schien. Für weitere Einzelheiten über die Verfahren wird auf die sehr eingehenden und kritischen Arbeiten von Bock verwiesen*).

Es wurden jeweils Klongruppen mit gleichem Austriebsverhalten zusammengefaßt und in einer gesonderten Clusteranalyse bearbeitet. Zum einen ist eine solche Vorgruppierung wegen der starken genetischen Kontrolle des Austriebsverhaltens sinnvoll, zum anderen hätte die Kapazität des Rechners nicht ausgereicht, die Merkmale aller 1.500 Pflanzen auf einmal zu verarbeiten.

Die Ausgabe erfolgt in Listen und über den Plotter als Dendrogramm. Wenn eine eindeutige Zuordnung aufgrund der erhobenen Merkmale möglich ist, müssen die 3 Pflanzen eines Klones durch den Computer in eine Gruppe sortiert werden, Überschneidungen mit anderen Klonen dürfen nicht auftreten. Reichen die erhobenen Merkmale für die Zuordnung nicht aus, müssen Gruppen gebildet werden, die auch Einzelpflanzen mehrerer Klone umfassen oder es erfolgt sogar die Bildung biologisch nicht plausibler Gruppen.

Schließlich sollte durch Diskriminanzanalysen geklärt werden, welche Merkmale vorrangig zur Trennung der Gruppen beitragen. Zweck der Diskriminanzanalyse ist die Trennung verschiedener Gesamtheiten und die Zuordnung fraglicher Elemente zu einer der Gesamtheiten. Die Trennung erfolgt durch Erfassung einer Anzahl von Merkmalen an jedem einzelnen Element der Gesamtheiten und durch Aufstellen einer Trennfunktion, die über die Zuordnung der Elemente entscheidet (WEBER 1967).

*) Für die Beratung danken wir Herrn Dr. H. H. BOCK, Lehrstuhl für mathematische Stochastik, Hannover, und Herrn Prof. Dr. HÜHN, Institut für Pflanzenbau u. Pflanzenzüchtung der Universität Kiel.

Hier wurde eine schrittweise Diskriminanzanalyse verwendet (BMDP7M), bei der die Merkmale ihrem F-Wert entsprechend nacheinander zur Trennung der Gruppen verwendet werden, bis alle Probanden den jeweiligen Gruppen mit einer vorbestimmten Irrtumswahrscheinlichkeit zugeordnet sind.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Varianzanalysen zeigten für alle Merkmale, daß die Varianzkomponenten für Klone die für Herkünfte bei weitem übersteigen. Für die biochemischen Merkmale erklärt der genetisch bedingte Variationsteil meistens weit über 50% der auftretenden Streuung. In Einzelfällen macht die Streuung zwischen den Klonmitteln über 90% der Gesamtstreuung aus. Wenige peaks eignen sich gut zur Herkunftscharakterisierung (5 von 82 weisen über 20% der Variation auf dem Herkunftsniveau aus). Die Repräsentation der einzelnen peaks bei den Klonen der verschiedenen Herkünfte ist sehr unterschiedlich, d. h. durch die Häufigkeit des Auftretens bestimmter peaks sind auch die Herkünfte eindeutig zu kennzeichnen.

Der genetische Varianzanteil für Klone und Herkünfte wurde als Wichtungsfaktor für die Clusteranalyse verwendet, weil ein Merkmal für Identifikationszwecke umso besser geeignet ist, je strengerer genetischer Kontrolle es unterliegt.

Für die biochemischen Merkmale wurden sowohl auf dem Einzelpflanzenniveau als auch auf dem Klonmittelniveau sehr geringe Korrelationskoeffizienten ermittelt. Da diese Daten zusätzlich durch eine Hauptkomponentenanalyse weiter verarbeitet wurden, die Hauptkomponenten aber unkorreliert sind, sind diese Merkmale für Gruppierungen besonders gut geeignet.

Die Ergebnisse der Clusteranalyse sind beispielhaft in Abb. 1 wiedergegeben. In den Dendrogrammen sind auf der untersten Ebene immer die Einheiten zusammengefaßt, welche untereinander die größte Ähnlichkeit aufweisen. Nach oben nimmt die Ähnlichkeit der übergeordneten Einheiten ständig weiter ab. Das Ähnlichkeitsmaß ist auf der Ordinate aufgetragen. Größere Zahlen sind gleichbedeutend mit geringerer Ähnlichkeit. Da jeweils die 3 Pflanzen eines Klons die 3 aufeinanderfolgenden Ziffern haben, ist leicht zu verfolgen, inwieweit Pflanzen des gleichen Klons einander richtig zugeordnet wurden. Die einzelnen Austriebsstufen umfassen eine unterschiedliche Zahl von Klonen und repräsentieren die Herkünfte unterschiedlich stark. Das erstaunlichste Ergebnis der Clusteranalyse ist, daß die Zuordnung der Einzelpflanzen eines Klons zueinander und die Trennung von Einzelpflanzen anderer Klone mit den untersuchten Merkmalen fast ausnahmslos gelungen ist. Nur in 5 von 500 Fällen ist bei der Zuordnung ein Fehler gemacht worden. Dabei wurde jeweils 1 Pflanze nicht der richtigen 3er Gruppe zugeordnet. Die Ähnlichkeit mit Pflanzen anderer Klone setzt erst auf höheren Niveaus ein. Die Klone der gleichen Herkunft wurden jeweils in der untersten Zeile mit den gleichen Zahlen markiert. Hier zeigt sich nun, daß zwar mehrfach Klone der gleichen Herkünfte in benachbarten Gruppen größerer Ähnlichkeit auftreten, daß dies Bild aber keineswegs konsistent ist. Vielmehr verteilen sich die Klone der gleichen Herkünfte auch in deutlich unähnliche, weit voneinander entfernte Gruppen. Dieser Befund bestätigt den Schluß aus der Korrelationsanalyse und aus den Varianzanalysen, daß auf

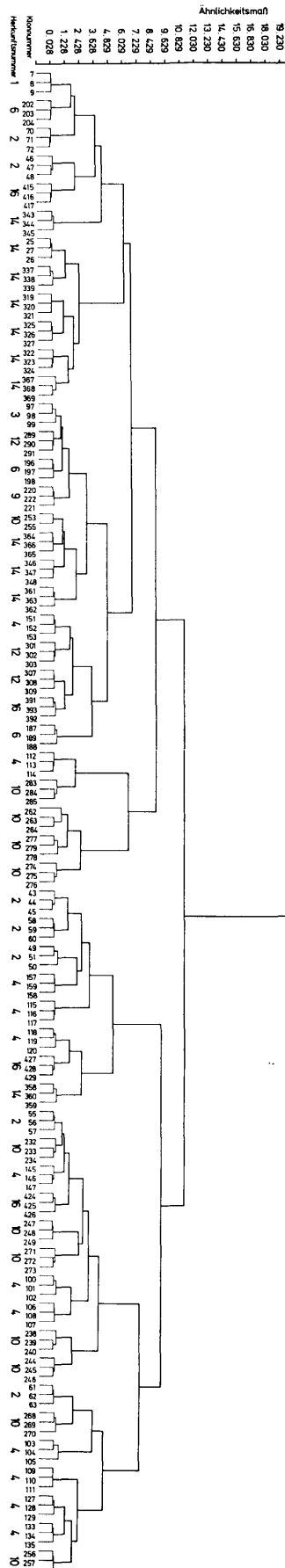


Abb. 1. — Ausschnitt aus dem Dendrogramm für Austriebstermin 21.0 (54 von 143 Klone).

Part of the dendrogram for flushing date 21.0 (54 out of 143 clones).

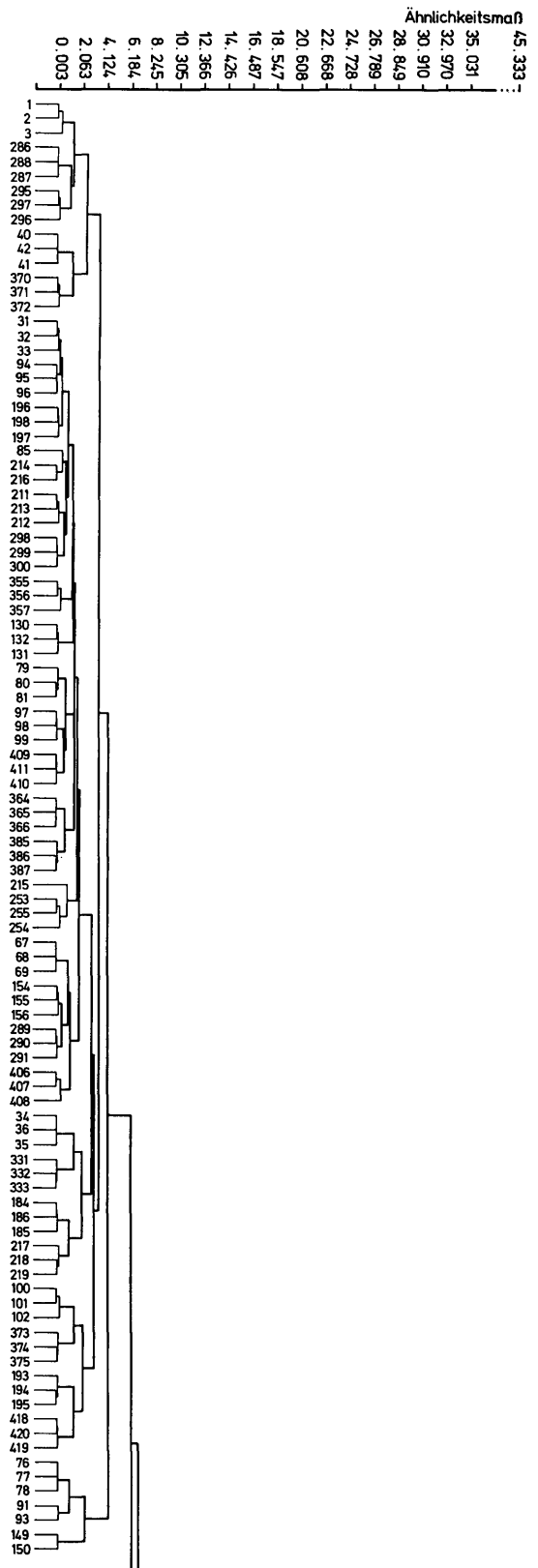


Abb. 2. — Gruppierung nur nach biochemischen Merkmalen (alle Peaks). Ausschnitt aus dem Dendrogramm.

Grouping only with biochemical characters (all single peaks). Part of the dendrogram.

dem Klonniveau die Anpassungsmuster sehr heterogen sind und daß die Ähnlichkeit von Einzelklonen sehr verschiedener Herkünfte oft größer ist als zwischen den Klonen der gleichen Herkunft.

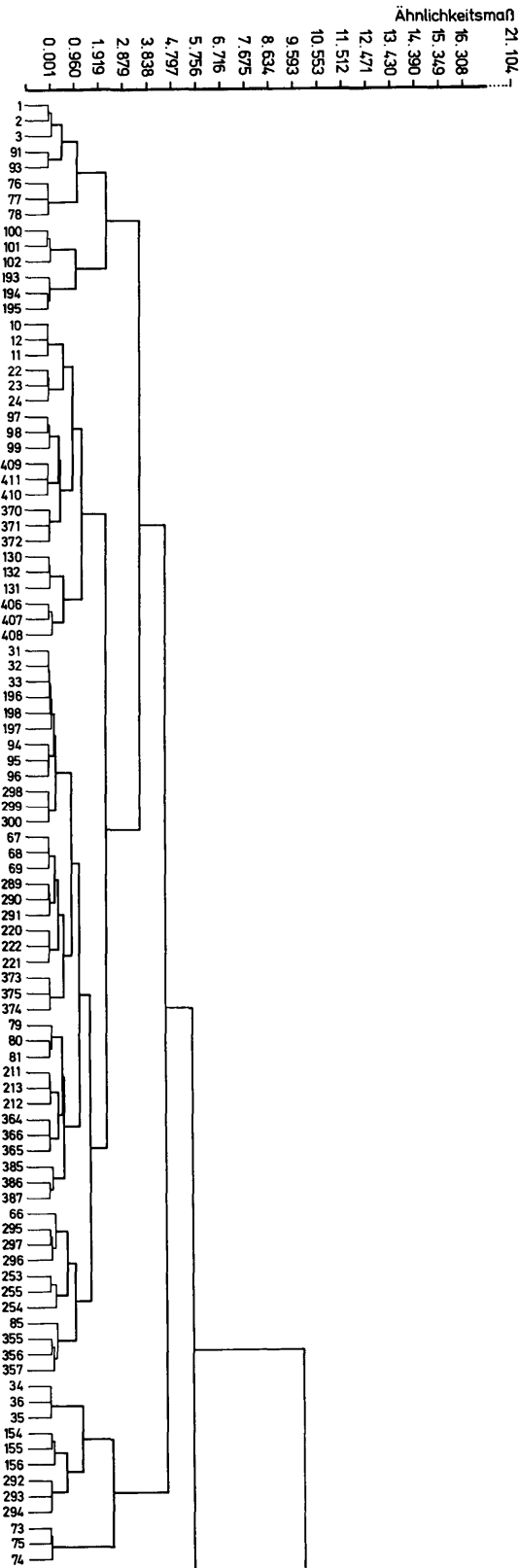


Abb. 3. — Gruppierung nur nach biochemischen Merkmalen (20 Hauptkomponenten). Ausschnitt aus dem Dendrogramm.
Grouping only with biochemical characters (20 main components). Part of the dendrogram.

Die Trennung der 500 Klone ist i. a. so gut, daß bei den untersuchten Merkmalen noch eine erhebliche Informationsreserve vorhanden ist, d. h. auch sehr viel größere Klonzahlen könnten eindeutig getrennt werden. Für die Bewertung der automatischen Gruppierung durch die Clusteranalyse schien es wichtig zu wissen, welche Merkmale bzw. Merkmalsgruppen vorrangig zur klaren Zuordnung der Einzelpflanzen zu den Klonen beigetragen haben. Zu

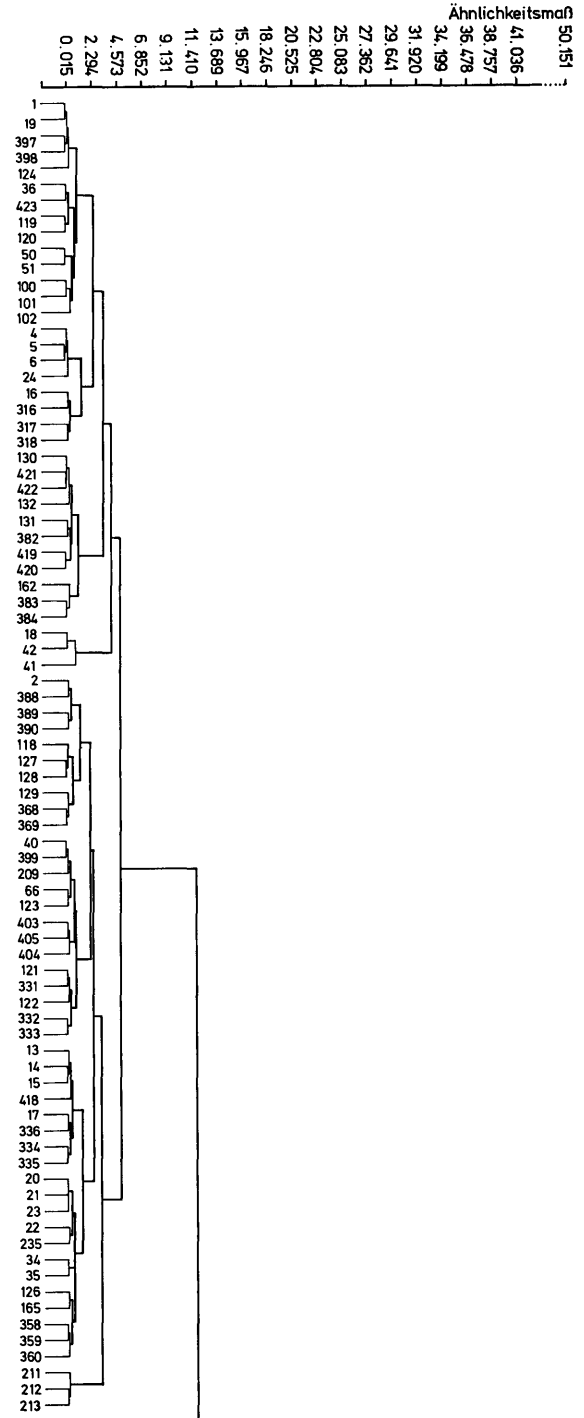


Abb. 4. — Gruppierung nach physiologischen, morphologischen und chemischen Merkmalen (ohne biochemische). Ausschnitt aus dem Dendrogramm.

Grouping with physiological, morphological and chemical characters (excluding biochemical characters). Part of the dendrogram.

diesem Zweck wurden Clusteranalysen einmal nur mit den 77 peaks (Abb. 2), dann nur mit den 20 Hauptkomponenten (Abb. 3) und schließlich nur mit den morphologischen und physiologischen Merkmalen (Abb. 4) gerechnet. Die Ergebnisse, zusammengefaßt in Abb. 2, 3 und 4, zeigen, daß sowohl die aus den 77 peaks errechneten Hauptkomponenten als auch die 77 Originalpeaks zu einer sehr guten und fast fehlerfreien Zuordnung der Einzelpflanzen eines Klones zueinander führen. Die morphologischen und physiologischen Merkmale allein jedoch bringen schon eine Vielzahl von Überschneidungen, Einzelpflanzen werden oft auch anderen Klonen oder Einzelpflanzen zugeordnet und nur in einem Teil der Fälle (rd. 50%) werden alle 3 Pflanzen in einer Gruppe zusammengefaßt. Die Spreitung der Ähnlichkeitsmaße wird hierbei deutlich größer.

Diese Ergebnisse werden durch Diskriminanzanalysen bestätigt, die aus Kapazitätsgründen im Computer nur für Austriebsdaten mit kleinen Klonzahlen gerechnet werden konnten. Hier liefern für eine 100%ige Trennung von 10 bzw. 13 Klonen bereits 4 Hauptkomponenten (= biochemische Merkmalsgruppen) ausreichend Information.

Es zeigt sich, daß die biochemischen „Fingerabdrücke“ der Klone zusammen mit den Austriebsdaten ausgereicht haben, 500 Klone einwandfrei zu trennen und daß es sehr wahrscheinlich ist, daß mit dieser Methode auch größere Klonzahlen ohne größere Überschneidungen eindeutig voneinander unterschieden werden können.

Diskussion

Ziel der Untersuchung war es,

- die Möglichkeit der Klontidentifikation bei Fichte zu untersuchen,
- die Merkmalsvariation bei den vermehrten Klonen zu erfassen, um Vorstellungen über die optimale Zusammensetzung von Zuchtsorten zu erhalten und
- für die Charakterisierung von Fichtenklonen die Möglichkeit der Entwicklung von Standardverfahren zu klären.

Die ersten beiden Fragen konnten in dieser Untersuchung klar beantwortet werden. Fichtenklone können anhand der untersuchten Merkmale eindeutig unterschieden werden. Bei zukünftigen Arbeiten kann sich die Merkmals-erhebung auf die phänologischen und biochemischen Merkmale beschränken, weil diese für eine eindeutige Zuordnung und Identifikation genügen. Die starke genetische Kontrolle solcher Merkmale, die auch in zahlreichen anderen Untersuchungen festgestellt worden ist (WELLENDORF *et al.* 1977, SQUILLACE 1977, FORREST 1977, BURLEY *et al.* 1977, BERNARD-DAGAN *et al.* 1977, v. RUDLOFF 1975, 1973, 1972 LUNDERSTÄDT 1976, CRAWFORD *et al.* 1974, BARADAT 1975), macht eine klare und wiederholbare Kennzeichnung möglich. Durch die Vielzahl der untereinander nur gering korrelierten Komponenten liefert die biochemische Analyse der Polyphenole, Sesquiterpene u. a. einen Merkmalsatz, der auch über eine weite Spanne von Umwelten und über das Jahr ziemlich konstant ist. Die Variation der untersuchten Merkmale in Herkünften und zwischen Herkünften zeigt klar, daß alle natürlichen Populationen eine erhebliche genetische Variation erhalten und daß die Einzelindividuen über sehr unterschiedliche Merkmalskombinationen verfügen. Dies kann interpretiert werden als eine Sicherung, die es natürlichen Populationen ermöglicht, in heterogener Umwelt zu überleben und eine stabilere Struk-

tur zu haben. Dies ist sicher zu einem erheblichen Teil mit verursachend für die Leistungsstabilität der höheren Einheiten, weil die Einzelkomponenten mit ihrem variablen Merkmalsmuster eine heterogene Umwelt besser nutzen können. Das kann sowohl durch natürliche Auslese der jeweils am besten angepaßten Typen als auch durch kompensatorische Wirkung bei jährlicher Klimafluktuation z. B. bedingt sein. In letzterem Fall tragen die Einzelkomponenten in den Einzeljahren unterschiedlich stark zur Produktion bei.

Aus Sicht der Populationsgenetik bedeutet dies, daß jede Herkunft durch ihre Individuen ein sehr breites Merkmalspektrum abdeckt und damit Anpassungsvorrat für sehr unterschiedliche Umweltkonstellationen bereithält. Die Auslese in heterogener Umwelt wird die jeweils am besten angepaßten Genotypen fördern und kurzfristige Umweltfluktuationen können durch die jeweils am besten geeigneten Individuen der Population aufgefangen und für eine optimale und stabile Produktion genutzt werden.

Gerade Waldbestände sind in Raum und Zeit heterogenen Umwelteinflüssen ausgesetzt, die es wahrscheinlich sein lassen, daß kein bestimmter Genotyp allen Situationen gerecht wird. Die genetische Variation als Puffer ist auch aus anderen Untersuchungen bekannt und die Risiken einer sehr starken genetischen Einengung sind aus der landwirtschaftlichen Züchtung und aus dem Pappelanbau hinreichend bekannt (ULLRICH 1976). Als Konsequenz aus diesem Sachverhalt ist für Zuchtmaterial von Waldbäumen zu fordern, daß eine ausreichend hohe genetische Variation in all den Merkmalen erhalten wird, die nicht unmittelbar mit der Leistung in Beziehung stehen. Die hierbei wichtigen Fragen wurden an anderer Stelle erörtert (KLEINSCHMIT 1979). Die Entwicklung von Standardverfahren konnte im Rahmen dieser Untersuchung noch nicht abgeschlossen werden. Grundsätzlich ist die verwendete Methodik aber für die Entwicklung von Standardverfahren geeignet, wie dies z. B. bei der Analyse von Erucasäure bei der Rapszüchtung von THIES (1971) praktiziert worden ist. Dazu ist allerdings ein vergleichsweise hoher apparativer Aufwand erforderlich, da der Gaschromatograph nach Möglichkeit direkt an eine Auswertungseinheit angeschlossen sein sollte, damit spätere manuelle Weiterverarbeitung und damit Verzögerung vermieden wird.

Die Untersuchung wurde aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, wofür auch hier Dank gesagt wird.

Literatur

- BARADAT, Ph.: Les terpènes du pin maritime. Aspects biologiques et génétiques (Biologie und Genetik der Terpene bei *Pinus pinaster*). Hérité de la teneur en myrcène. Ann.sc. forest. Paris Vol. 32, 29—54 (1975). — BOCK, H. H.: Automatische Klassifikation. Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen, 480 S. (1974). — BOCK, H. H.: Programme zur Clusteranalyse. Statistical Software Newsletter 3, 72—84 (1976). — BERNARD-DAGAN, C. und BARADAT, Ph.: Anwendung der Terpene als Hilfsmittel in der Forstgenetik. EEC Symposium on Forest Tree Biochemistry, Brüssel, 25 S. (1977). — BURLEY, J. and GREEN, C. L.: Variation of gum terpenes between provenances of *Pinus caribaea* MORELET and *P. oocarpa* SCHIEDE in Central America. EEC Symposium on Forest Tree Biochemistry, Brüssel, 36 Seiten (1977). — CRAWFORD, D. J. and DORN, R. D.: Chemotaxonomy. I. "Numerical Chemotaxonomy" and other aspects of chemosystematics. Taxon 22, 331—336 (1974). — FORREST, G. I.: Geographische Variation in den Monoterpenen von *Pinus contorta* - Harz. EEC Symposium on Forest Tree Biochemistry, Brüssel, 23 S. (1977). — KLEINSCHMIT, J. und SAUER, A.: Variation in Morphology, Phenology and Nutrient Content among *Picea abies* Clones and Provenances, and its Implications for Tree Improvement. CANNELL, M. G. R. and

Last, F. T. Academic Press, London, New York, San Francisco. 504—517 (1976). — KLEINSCHMIT, J.,: Limitations for restriction of the genetic variation. *Silv. Genetica* 28, 61—67 (1979). — LUNDERSTÄDT, J.,: Phenole and Analysis of Plant Phenolics from Foliage in Relation to Soecies Characterization and to Resistance against Insects and Pathogens. *Modern Methods in Forest Genetics*, ed. J. P. MIKSCH. Springer-Verlag; Berlin - Heidelberg, 158—164 (1976). — RUDLOFF, E. v.,: Chemosystematic Studies in the Genus *Pseudotsuga*. III: Population Differences in British Columbia as Determined by Volatile Leaf Oil Analysis. *Can. Journal of Forest Research*, Vol. 3, 443—453 (1973). — RUDLOFF, E. v.,: Geographical variation in the terpene composition of the leaf oil of Douglas-fir. Pure and applied chemistry. *Chemosystematic Studies in the genus Pseudotsuga*. Teil II. Vol. 34, 401—410 (1973). — RUDLOFF, E. v.,: Chemosystematic studies in the genus *Pseudotsuga*. I. Leaf oil analysis of the coastal and Rocky Mountain varieties of the Douglas-fir. *Can. Jour. of Botany* 5, 1025—1040 (1972). — RUDLOFF, E. v.,: Volatile Leaf Oil Analysis in Chemosystematic Studies of North American Conifers. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol. 2, S. 131—167 (1975). — SACHS, L.,: Statistische Auswertungsmethoden. Springer Verlag (1972). — SAUER,

A., KLEINSCHMIT, J. und LUNDERSTÄDT, J.,: Charakterisierung von Fichtenklonen (*Picea abies* KARST.) mit Hilfe morphologischer, physiologischer und biochemischer Methoden. *Silvae Genetica* 22, 173—182 (1973). — SAUER-STEGMANN, A., KLEINSCHMIT, J. und LUNDERSTÄDT, J.,: Methoden zur Charakterisierung von Fichtenklonen (*Picea abies* KARST.). *Silvae Genetica* 27, 109—117 (1978). — SQUILLACE, A. E.,: Monoterpenzusammensetzung des Harzes kortikalen Gewebes bei *Pinus elliottii* und die Anwendbarkeit in der genetischen Forschung. EEC Symposium on Forest Tree Biochemistry, Session I, Brüssel, 16 (1977). — THIES, W.,: Schnelle und einfache Analysen der Fettsäurezusammensetzung in einzelnen Rapskotyledonen. I. Gaschromatographische und papierchromatographische Methoden. *Z. f. Pflanzenzücht.* 65, 181—202 (1971). — ULLRICH, I.,: Epidemilogische Aspekte bei der Krankheitsresistenz von Kulturpflanzen. Paul Parey Verlag. Fortschritte der Pflanzenzüchtung 6 (1976). — WEBER, E.,: Grundriß der biologischen Statistik. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1967). — WELLENDORF, H. and KAUFMAN, U.,: Thin layer chromatography of fluorescent phenolic compounds in needles. A review of current activities in *Picea*. EEC Symposium on Forest Tree Biochemistry, Brüssel, 26 Seiten (1977).

Geographic Variation of Monoterpenes in Cortical Oleoresin of Loblolly Pine

By A. E. SQUILLACE and O. O. WELLS¹⁾

(Received 15. January 1981)

Summary

Monoterpene composition of cortical oleoresin was determined for 2,724 planted trees originating from areas throughout the range of loblolly pine. Major constituents were α -pinene, β -pinene myrcene, limonene, and β -phellandrene. Content of α -pinene, myrcene, and limonene showed strong clinal trends, although with some interruptions, in an east to west direction. β -phellandrene showed a definite disjunction — all trees west of the Mississippi River had high β -phellandrene. β -pinene showed the least variation, with no distinct geographic pattern. Some indications of a relationship between monoterpene composition and fusiform rust infection were found, but these were inconclusive and only suggest further study. Content of limonene was found to be related to some seed traits studied by others. The geographic variation in monoterpenes, together with supplemental data on seed traits reproduced here, allows judgment of the geographic origin of seed used in plantations, and could perhaps also be used to certify seed from seed orchards.

Key words: *Pinus taeda*, terpenes, turpentine, essential oils, genetic variation, *Cronartium fusiforme*.

Zusammenfassung

An 2.724 Bäumen aus dem Verbreitungsgebiet von *Pinus taeda* wurde die Zusammensetzung des Rindenharzes untersucht. Hauptkomponenten waren α -Pinen, β -Pinen, Myr-

cen, Limonen und β -Phellandren. Der Gehalt an α -Pinen, Myrcen und Limonen zeigte, abgesehen von einigen Abweichungen, einen ausgeprägten klinalen Trend in Ost-West-Richtung. β -Phellandren zeigte eine klare Disjunktion — alle Bäume westlich des Mississippi hatten einen hohen Gehalt an β -Phellandren. β -Pinen wies die geringste Variation auf, es ergab sich kein deutliches geographisches Muster. Es ergaben sich einige Anzeichen für eine Beziehung zwischen Monoterpenzusammensetzung und der Infektion durch *Cronartium fusiforme*, die jedoch noch weiterer Untersuchungen bedürfen. Der Gehalt an Limonen zeigte einige Beziehungen zu Saatgutmerkmalen aus Untersuchungen anderer Autoren. Die geographische Variation der Monoterpene gestattet zusammen mit den ergänzenden Saatgutmerkmalen eine Beurteilung der geographischen Herkunft des für die Kulturen verwendeten Saatgutes und könnte ferner zur Zertifizierung des Saatgutes aus Samenplantagen dienen.

Introduction

Loblolly pine (*Pinus taeda* L.) is the most important softwood species in the southern pine region, and forest geneticists need to learn as much as possible about patterns of genetic variation over the species range. Such knowledge is useful to delineate breeding zones and to determine seed origin of plantations. Composition of monoterpenes in cortical oleoresin is ideally suited for study of geographic variation because it is strongly inherited and not greatly affected by environment (SQUILLACE 1976). Geographic patterns of variation in monoterpene composition for loblolly pine are presented, and the relationship between monoterpene composition to fusiform rust infection and some other traits are examined.

Materials and Methods

Oleoresin samples were taken from loblolly pine trees growing in nine plantations and one natural stand (Table 1). A total of 2,724 trees were sampled from 113 prove-

¹⁾ Adjunct Professor, School of Forest Resources and Conservation, University of Florida, Gainesville, Florida, and Principal Plant Geneticist, Southern Forest Experiment Station, Forest Service USDA, Gulfport, Mississippi, respectively. Much of the work involved in this study was conducted while the senior author was employed by the Southeastern Forest Experiment Station at Olustee, Florida. The authors are grateful to Auburn University, Container Corporation of America, Crown Zellerbach Corporation, Georgia-Pacific Co., International Paper Co., Louisiana State University, and Owens-Illinois Glass Company for permission to sample trees on their lands and for assistance provided.

This article was written and prepared by U. S. Government employees on official time, and is therefore in the public domain.