

Vergleich der genetischen Struktur verschiedener Generationen zweier natürlich verjüngter Fichtenbestände des Schwarzwaldes

Von M. KONNERT

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt
Baden-Württemberg,
Abteilung Botanik und Standortskunde,
Wonnhalde 4, D W-7800 Freiburg, BRD

(Eingegangen am 17. August 1989)

Zusammenfassung

In zwei Fichtenbeständen (*Picea abies* (L.) KARST.) des östlichen Schwarzwaldes wurde die genetische Struktur fünf verschiedener Entwicklungsstadien (Altbestand, Embryonen aus Samen der Altbäume, einjährige Sämlinge, 8- bis 10jährige Naturverjüngung, 30- bis 40jährige Naturverjüngung) mit Hilfe der Isoenzymanalyse an vier polymorphen Genloci untersucht und verglichen.

Am 6-PGDH-B-Locus ergaben sich statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Allelhäufigkeiten der 8- bis 10jährigen Naturverjüngungen und der Altbestände bzw. der im Erntejahr erhaltenen Embryonalgenerationen. Die genetischen Abstände zwischen den Subpopulationen innerhalb der Bestände sind an diesem Locus unerwartet hoch. Ebenso ist die zeitliche Differenzierung der Subpopulationen stark und der von anderen Autoren gefundenen räumlichen Differenzierung bei Kiefer und Buche vergleichbar. Vergleichbare Daten für Fichte aus anderen Untersuchungen sind nicht bekannt.

Dies wird durch eine vermutete Selektion am 6-PGDH-B-Locus erklärt, die das 6-PGDH-B₁-Allel in den frühen Entwicklungsstadien (etwa bis Alter 10) bevorteilt, ab dann aber benachteiligt. Sie richtet sich sowohl gegen homozygote als auch gegen heterozygote Träger dieses Allels.

Die entgegengesetzte Selektion deutet sich auch in den Werten für die genetische Diversität an, die in der 8- bis 10jährigen Naturverjüngung beider Bestände am größten sind. Sie wirkt sich ungerichtet auch auf andere Loci aus. Es ist so durchaus möglich, daß Loci mit großer genetischer Diversität minimale zeitliche Differenzierung zeigen.

Schlagwörter: *Picea abies*, Isoenzyme, Differenzierung von Subpopulationen.

Summary

Interested in the genetic structure of two populations of *Picea abies* (L.) KARST. of the Eastern Black Forest four polymorphic loci were studied and compared in differently aged subpopulations (adult trees, embryos, 1 year old seedlings, 8 years to 10 years old and 30 years to 40 years old self sown progenies).

The comparison of allozyme frequencies showed significant differences at the 6-PGDH-B-locus between the subpopulations of 8 years to 10 years old understory and those of adult trees or embryos.

At this locus the genetic distances between the subpopulations within the same population were as unexpected high as the differentiation in time, which was similar to the differentiation in space found in genetic studies upon ponderosa pine and beach populations. Related studies on Norway spruce do not yet exist.

We assume that there is selection at the 6-PGDH-B-locus in favour of the 6-PGDH-B₁-allele in early stages of life (about until age 10) and against this allele later on.

The diversity-data confirm this hypothesis of selection: the highest values are recorded in the 8 years to 10 years old subpopulation. The selection at the 6-PGDH-B-locus has unorderd effects on other loci. So it seems to be possible that loci of high genetic diversity show little differentiation in time.

Key words: *Picea abies*, Isoenzymes, Subpopulation differentiation.

Einleitung

Durch die sexuelle Reproduktion geben die Waldbäume die in einer Generation enthaltene genetische Information weitgehend an die Folgegenerationen weiter. Das Saatgut verschiedener Erntejahre kann aber die Allele des Elternbestandes in unterschiedlichen Häufigkeiten enthalten, wie dies von HATTEMER et al. (1981) und MÜLLER-STARCK et al. (1982) für Samenplantagen gezeigt wurde. Dadurch werden Unterschiede in den genotypischen Strukturen einzelner Altersklassen eines Bestandes bedingt wie auch durch unterschiedliche Keimfähigkeit und eine durch örtlich variable Standortfaktoren (Boden, Temperatur, Feuchtigkeit) hervorgerufene Selektion, die vor allem in den frühen Entwicklungsstadien zum Ausfall eines Teils der Sämlinge führt. Es gibt einige Hinweise dafür, daß bestimmte Genotypen überlebensfähiger sind (SHAW und ALLARD, 1982; TIGERSTEDT et al., 1982), wobei vor allem ein Heterozygotenvorteil betont wird (YAZDANI et al., 1985; MÜLLER-STARCK und HATTEMER, 1989).

Im Rahmen einer größeren Nachkommenschaftsprüfung, bei der 40 Fichtenbestände des Schwarzwaldes mit Hilfe von Isoenzymanalysen auf ihre genetische Struktur hin untersucht wurden (FRANKE und KONNERT, 1990), fielen zwei Populationen aus dem Wuchsgebiet "Baar-Wutach" (Fürstliches Forstamt Donaueschingen) auf. Sie zeigten am 6-PGDH-B-Locus große genetische Abstände zu den restlichen 38 untersuchten Populationen, die allein durch Herkunftsunterschiede des bei der Begründung der Bestände verwendeten Vermehrungsgutes kaum erklärt werden konnten. Die Annahme einer gegen bestimmte Allele dieses Locus gerichteten Selektion in den beiden Populationen lag nahe.

Ein genetischer Vergleich zwischen verschiedenen Altersstadien (Embryonen, einjährige Sämlinge, 8- bis 10jährige Naturverjüngung, 30- bis 40jährige Naturverjüngung, Altbestand) sollte Aufschluß darüber geben, ob und wie sich die genetische Struktur dieser Fichtenpopulationen im Laufe der Bestandsentwicklung veränderte, bzw. ob in diesen Beständen eine gegen bestimmte Genotypen oder Gene gerichtete Selektion nachgewiesen werden kann.

Material und Methodik

In zwei Fichtenbeständen des östlichen Schwarzwaldes (FF Donaueschingen, Wuchsgebiet 5 "Baar-Wutach")

Tabelle 1. — Standortsangaben zu den untersuchten Fichtenbeständen.

	Donaueschingen 1	Donaueschingen 2
Lage:		
geographische Breite	47°59'	48°01'
geographische Länge	8°22'	8°22'
Höhe ü.NN	850 m	890 m
Temperatur:		
Jahresdurchschnitt	6,4°C	6,4°C
Niederschlag:		
Jahresdurchschnitt	1125 mm	1125 mm
Regionalgesellschaft:		
Boreal-montaner Ta-Fi-Fo-Wald	Boreal-montaner Ta-Fi-Fo-Wald	
Alter (im Mittel):		
110	110	
Boden:		
Bodenart	lehmiger Sand- sandiger Lehm	lehmiger Sand
Wasserhaushalt	frisch	frisch
Bodentypus	Braunerde	Braunerde

(Tab. 1) wurde 1987 von 20 Bäumen bzw. 17 Bäumen Saatgut geerntet und einzelbaumweise bei -5°C aufbewahrt. Die Beerntung erfolgte in einer in der Mitte des Bestandes liegenden Kernzone von etwa 1 ha, um Bestäubung durch Fremdpollen von außerhalb des Bestandes weitgehend auszuschließen. Durch Isoenzymanalyse des haploiden Endosperms von je 6 Samen pro Baum wurde der Genotyp der Saatguterbäume bestimmt. Um die Stichprobenzahl pro Bestand zu erhöhen, wurden im Februar 1989 von weiteren 12 bzw. 15 Altbäumen der Kernzone Knospen geerntet (Tab. 2) und zur Bestimmung des Genotyps dieser Bäume herangezogen.

Parallel zu den Endospermanalysen wurden auch die diploiden Embryonen analysiert. Anhand der Untersuchungsergebnisse von je 6 Embryonen pro Erntebaum erfolgte die Bestimmung der genetischen Struktur der Embryonalgeneration. In 6 bzw. 5 Fällen war wegen der schwachen Anfärbung der erhaltenen Bände eine sichere Interpretation der Isoenzymmuster an allen 4 untersuchten Genloci nicht möglich. Deshalb verringerte sich die Probenanzahl der Embryonen entsprechend auf 114 in Donaueschingen 1 bzw. 97 in Donaueschingen 2 (Tab. 2).

Für jeden Bestand wurde auch eine Saatgutmischprobe (gleiche Gewichtsanteile von jedem Sameneltern) hergestellt und im Pflanzgarten der FVA Baden-Württemberg

ausgesät. Knospenproben von je 58 bzw. 70 zufällig ausgewählten Sämlingen pro Bestand dienten zur Bestimmung der genetischen Struktur der Sämlingspopulationen durch Isoenzymanalysen. Anhand von Knospenproben wurde auch die genetische Struktur der in beiden Beständen in der ausgewählten Kernzone vorgefundenen Naturverjüngung untersucht. Diese wurde in 2 Subpopulationen unterteilt: 8- bis 10jährige Naturverjüngung und 30- bis 40jährige Naturverjüngung. Der Stichprobenumfang sowie die für die einzelnen Altersstadien eines Bestandes verwendeten Abkürzungen sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Methodik der Isoenzymanalyse

Untersucht wurden die Enzymsysteme 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH, E.C. 1.1.1.44), Isocitratdehydrogenase (IDH, E.C. 1.1.1.42), Malatdehydrogenase (MDH, E.C. 1.1.1.37), Shikimatdehydrogenase (SKDH, E.C. 1.1.1.25) und Glutamatdehydrogenase (GDH, E.C. 1.4.1.2). Nach Extraktion der salzlöslichen Proteine in einem Tris-HCl-Puffer, pH = 7, erfolgte die gelelektrophoretische Auftrennung und Identifizierung der Isoenzyme nach einer nach SHAW und PRASAD (1970) sowie CHELIAK und PTEL (1984) leicht modifizierten Methode.

Berechnung der genetischen Parameter

Von den 11 Loci die diese Enzymsysteme kontrollieren, waren vier in allen Altersklassen beider Bestände polymorph, und zwar 6-PGDH-B, 6-PGDH-C, MDH-C und SKDH-A. Die Auswertungen beschränken sich auf diese vier Loci.

Es wurden die Genotypen- und Allelhäufigkeiten für diese Loci in jeder Altersklasse beider Bestände ermittelt. Der statistische Vergleich zwischen den genetischen und genotypischen Strukturen der Subpopulationen erfolgte paarweise mit dem G-Test (mxk-Kontingenzttest, WEBER, 1978). Aufgrund der Allelhäufigkeiten wurde der genetische Abstand zwischen den Beständen und zwischen den Subpopulationen jedes Bestandes nach GREGORIUS (1974) berechnet.

Als orientierendes Differenzierungsmaß zwischen den Subpopulationen wurde der relative Anteil der Variation zwischen den Subpopulationen an der Gesamtvariation (G_{St}) nach NEI (1977) ermittelt.

Tabelle 2. — Beschreibung des untersuchten Materials.

Subpopulation Abkürzung	Donaueschingen 1			Donaueschingen 2	
	N	Bemerkungen	N	Bemerkungen	
Altbestand E	32	Samen von 20 Bäumen Knospen von 12 Bäumen	32	Samen von 17 Bäumen Knospen von 15 Bäumen	
Embryonen A	114	durchschn. 6 Embryonen je Erntebaum	97	durchschn. 6 Embryonen je Erntebaum	
1-jährige Sämlinge im Pflanzgarten B	58	Aussaat einer Mischprobe (gleiche Gew. Anteile) von 20 Bäumen; zufällige Auswahl der Sämlinge	70	Aussaat einer Mischprobe (gleiche Gew. Anteile) von 17 Bäumen; zufällige Auswahl der Sämlinge	
8- 10jährige Bäume im Bestand C	44	Naturverjüngung in der Kernzone	40	Naturverjüngung in der Kernzone	
30- 40jährige Bäume im Bestand D	27	Naturverjüngung in der Kernzone	40	Naturverjüngung in der Kernzone	

Tabelle 3. — Allelhäufigkeiten an 4 polymorphen Genloci für 5 Alterstadien zweier Fichtenbestände des Schwarzwaldes.

Locus	Allel	Donaueschingen 1					Donaueschingen 2				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
6-PGDH-B	B_1	0.152	0.242	0.363	0.222	0.141	0.150	0.228	0.300	0.213	0.125
	B_2	0.848	0.758	0.637	0.778	0.859	0.850	0.772	0.700	0.787	0.875
6-PGDH-C	C_1	0.641	0.586	0.556	0.426	0.625	0.500	0.557	0.512	0.487	0.438
	C_2	0.359	0.414	0.444	0.574	0.375	0.500	0.443	0.488	0.513	0.562
MDH-C	C_1	0.021	-	-	-	0.016	-	-	-	-	-
	C_2	0.092	0.104	0.057	0.054	0.078	0.126	0.043	0.088	0.088	0.172
	C_3	0.887	0.896	0.943	0.946	0.906	0.874	0.957	0.912	0.912	0.828
SKDH-A	A_1	-	-	-	-	0.016	0.021	0.014	0.038	0.025	0.031
	A_2	0.057	0.018	0.093	0.036	0.094	0.025	0.057	0.038	0.050	0.047
	A_3	0.886	0.909	0.885	0.964	0.843	0.917	0.807	0.850	0.824	0.844
	A_4	0.018	0.009	-	-	0.016	-	-	-	-	-
	A_5	0.039	0.064	0.022	-	0.031	0.016	0.122	0.062	0.063	0.046
	A_6	-	-	-	-	-	0.021	-	0.012	0.038	0.032

Da eine Unterteilung der genetischen Variation in "Variation innerhalb der Subpopulationen" und "zwischen den Subpopulationen" umstritten ist (GREGORIUS, 1988), wurde die Differenzierung eingehend mit Hilfe der von GREGORIUS und ROBERTS (1986) vorgeschlagenen Methode untersucht.

Zur Beschreibung der genischen Diversität wurde die "effektive Anzahl der Allele pro Locus", n_e , nach CROW und KIMURA (1970) hinzugezogen. Die Multilocus-Diversität wurde als das harmonische Mittel der Single-Locus-Diversitäten berechnet (GREGORIUS, 1987).

Ergebnisse und Diskussion

Genetische Struktur der Subpopulationen

In Tabelle 3 sind die Allelhäufigkeiten für die vier in allen Subpopulationen beider Bestände polymorphen Genloci eingetragen. Eine Erhöhung des Stichprobenumfangs von 20 Bäume bzw. 17 Bäume auf 32 Bäume pro Bestand ergab nur eine minimale Änderung der Allelhäufigkeiten an allen 4 Genloci.

Für das Erntejahr 1987 fanden sich an keinem der untersuchten Loci signifikante Unterschiede in der genetischen Struktur der Altbestände und des Saatgutes (Embryonen). Der Vergleich zwischen Embryonalgeneration und einjährigen Sämlingen ergab ebenfalls für keinen Locus gesicherte statistische Unterschiede in Genotyp- oder Allelhäufigkeiten. MUONA et al. (1987) hatten bei Kiefern (*Pinus sylvestris*) festgestellt, daß in den ersten drei Jahren der Entwicklung der Homozygotenüberschuß zurückgeht, und führten dies auf eine Ausscheidung der durch Selbstung entstandenen Homozygoten zurück. Eine Zunahme der beobachteten Heterozygoten in der einjährigen Sämlingspopulation gegenüber den Embryonen wurde auch hier an den Loci 6-PGDH-B und 6-PGDH-C für beide Bestände und am SKDH-A-Locus für Donaueschingen 1 beobachtet. Diese Feststellungen sind aber nur begrenzt aussagekräftig, da in der Embryonalprobe jeder Erntebaum aus E gleichmäßig vertreten war (6 Embryonen), während die ausgesäte Probe eine Mischung aus gleichen Gewichtsanteilen jedes Baumes war. Auch ist der direkte Vergleich der einjährigen Sämlinge mit den übrigen Altersklassen nur bedingt auswertbar, da diese unter "künstlichen" Bedingungen angezogen wurden —

also nicht im Bestand selbst keimten. Die Ergebnisse von paarweise durchgeführten Heterogenitätstests zeigen allerdings am 6-PGDH-B-Locus in beiden Beständen signifikante Unterschiede in den Allelhäufigkeiten für die Subpopulationen A und C ($\chi^2 = 11,64$ in Donaueschingen 1 und $\chi^2 = 6,45$ in Donaueschingen 2) sowie C und E ($\chi^2 = 13,07$, Donaueschingen 1 und $\chi^2 = 9,15$ Donaueschingen 2). Auffallend ist die geringe relative Häufigkeit des B_1 -Allels in den Altbeständen und den Embryonen. Sie nimmt dann bis zum Alter 10 stetig zu und ist ab Alter 30 wieder fallend (vgl. Abb. 1). Die beiden Allele des 6-PGDH-B-Locus werden vom Altbestand an die Embryonalgeneration in unveränderter Häufigkeit weitergegeben. Dabei zeigt die Häufigkeitsverteilung der beiden Allele zwischen Pollenwolke ($B_1 = 0,158$, in Donaueschingen 1 und $B_1 = 0,178$ in Donaueschingen 2), weiblichen Gameten ($B_1 = 0,153$ in Donaueschingen 1 und $B_1 = 0,120$ in Donaueschingen 2) und Altbestand keine signifikanten Unterschiede. Somit kann für diesen Locus Fertilitätsselektion mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Eine mögliche Erklärung wäre, daß in den frühen Entwicklungsstadien das B_1 -Allel selektiv im Vorteil ist. Die offensichtliche Benachteiligung des Allels ab Alter 30

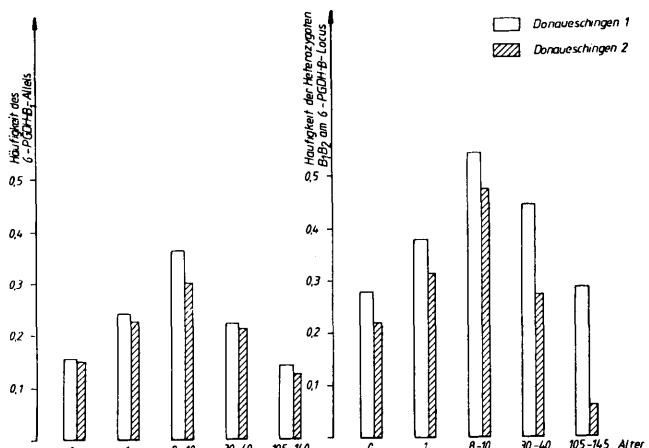


Abb. 1. — Häufigkeitsverteilung des B_1 -Allels bzw. der B_1B_2 -Heterozygoten am 6-PGDH-B-Locus in 5 Alterstufen zweier Fichtenbestände des Schwarzwaldes.

Tabelle 4. — Genetische Abstände (nach GREGORIUS, 1974) zwischen den Subpopulationen innerhalb der beiden Fichtenstände.

Donaueschingen 2	Donaueschingen 1				
	A	B	C	D	E
A	A	—	0.053	0.098	0.106
A	—	B	—	0.070	0.076
B	0.091	—	C	—	0.087
C	0.089	0.062	—	D	—
D	0.052	0.051	0.038	—	E
E	0.052	0.111	0.091	0.062	—

äußert sich in den beiden untersuchten Beständen unterschiedlich. Während in Donaueschingen 1 sowohl Homozygote B_1B_1 als auch Heterozygote B_1B_2 gleichermaßen betroffen sind (in den Subpopulationen D und E finden wir gar keine homozygoten Träger dieses Allels), nimmt in Donaueschingen 2 die relative Häufigkeit der Heterozygoten B_1B_2 stark ab (vgl. Abb. 1), so daß die genotypische Struktur von HARDY-WEINBERG signifikant abweicht. Dies könnte eventuell auch auf Hiebmaßnahmen zurückzuführen sein. In dem Bestand wurden in den letzten 10 Jahren Pflegehiebe durchgeführt, bei denen vorrangig schwächere Individuen, aber auch Bäume aus dem Herrschenden entfernt wurden (anthropogene Veränderung der genetischen Struktur).

Die Allelhäufigkeiten der anderen drei polymorphen Genloci zeigen keine gerichteten Veränderungen. Signifikante Unterschiede ergaben sich für den Locus 6-PGDH-C zwischen A und D ($\chi^2 = 9,18$), B und D ($\chi^2 = 5,25$) und D und E ($\chi^2 = 5,41$) allerdings nur in Donaueschingen 1.

Die an den Loci MDH-C und SKDH-A identifizierten seltenen Allele (MDH-C₁ und SKDH-A₄ nur in Donaueschingen 1 und SKDH-A₆ nur in Donaueschingen 2) zeigen, daß die Altbestände genetisch unterschiedlich sind.

Tatsächlich zeigten weitere Untersuchungen (FRANKE und KONNERT, 1990), daß sich die Bestände auch an anderen Loci durch seltene Allele (MDH-B₂) oder durch signifikante Unterschiede in den Allelhäufigkeiten (am G-6-PDH-A-Locus) unterscheiden. Um so bedeutsamer ist die in beiden Beständen nachgewiesene Selektion am 6-PGDH-B-Locus. Bekanntlich spielt das 6-PGDH-System im Stoffwechsel der Pflanzen (Pentose-Phosphatzzyklus) eine zentrale Rolle (KARLSSON, 1970).

Die Abwesenheit des MDH-C₁-Alleles in den Subpopulationen B, C und D ist möglicherweise auf Schwierigkeiten bei der Erkennung dieses Allels in diploidem Ge- webe zurückzuführen.

Differenzierung der Subpopulationen

Die genetischen Abstände zwischen den Subpopulationen innerhalb der Bestände sind in *Tabelle 4* angegeben.

In Donaueschingen 1 ist mit $d_0 = 0,110$ der Abstand zwischen Altbestand und 30- bis 40jähriger Naturverjüngung am größten und zwischen Embryonalgeneration und Altbestand ($d_0 = 0,025$) am kleinsten. Andererseits waren in Donaueschingen 2 mit 3,8% ($d_0 = 0,038$) die kleinsten Unterschiede in den Allelhäufigkeiten zwischen den beiden Altersstadien der Naturverjüngungen, während die Unterschiede zwischen Embryonalgeneration und einjährigen Sämlingen bei 9% lagen ($d_0 = 0,091$).

Die höchsten Abstandswerte ergaben sich am 6-PGDH-B-Locus, wobei in beiden Beständen der gleiche Trend sichtbar wurde: große Unterschiede in den Allelhäufigkeiten zwischen den Subpopulationen C und E ($d_0 = 0,222$, Donaueschingen 1 und $d_0 = 0,175$, Donaueschingen 2) bzw. A und C ($d_0 = 0,211$ Donaueschingen 1 und $d_0 = 0,150$ Donaueschingen 2), geringe Unterschiede zwischen den Subpopulationen A und E ($d_0 = 0,011$, Donaueschingen 1 und $d_0 = 0,025$, Donaueschingen 2). Bemerkenswert ist die Tat-

Tabelle 5a. — Differenzierung (%) der fünf Subpopulationen beider Fichtenbestände.

Locus	Donaueschingen 1						Donaueschingen 2							
	Dj						Dj							
	A	B	C	Subpopulation			A	B	C	Subpopulation				
				D	E	Gesamt (d)			D	E	Gesamt (d)	GST		
6-PGDH-B	9,9	3,6	18,0	0,9	8,3	8,7	3,7	7,2	4,1	12,0	1,8	8,2	6,5	7,4
6-PGDH-B	8,3	0,4	4,6	18,2	4,1	6,4	2,4	1,1	6,7	0,7	2,4	7,9	3,4	0,6
MDH-C	3,2	2,6	4,3	4,3	0,7	3,1	0,6	4,1	7,5	1,3	1,3	8,2	4,6	1,6
SKDH-A	1,6	5,5	4,3	7,8	6,3	4,1	1,6	9,8	11,2	1,8	3,7	2,9	7,3	1,4
Genpooldifferenzierung	5,8	3,0	7,8	7,8	4,8	5,6	2,1	5,5	7,4	4,0	2,3	6,8	5,5	2,2
Baumenzahl	114	58	44	27	32			97	70	40	40	32		

Tabelle 5b. — Differenzierung (%) von Naturverjüngung und Altbeständen.

Locus	Donaueschingen 1						Donaueschingen 2								
	Dj						Dj								
	C	Subpopulation			D	E	Gesamt (d)	C	Subpopulation			D	E	Gesamt (d)	GST
6-PGDH-B	18,5	4,8	16,8	14,4	4,6		12,6	0,9	19,1	8,6	3,0				
6-PGDH-C	1,7	15,6	1,8	8,6	2,8		4,8	0,8	6,3	3,8	0,4				
MDH-C	1,8	1,8	3,8	2,4	0,0		3,7	3,7	8,4	5,1	1,4				
SKDH-A	3,1	9,7	7,2	6,1	2,1		3,4	3,3	1,7	2,8	0,3				
Genpooldifferenzierung	6,3	8,0	10,0	7,9	2,4		6,1	2,2	7,4	5,1	1,3				
Baumenzahl	44	27	32				40	40	32						

Tabelle 6. — Genetische Diversität, n_e , der Subpopulationen.

	Donaueschingen 1					Donaueschingen 2				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
6-PGDH-B	1,35	1,58	1,86	1,53	1,32	1,34	1,55	1,72	1,50	1,28
6-PGDH-C	1,85	1,94	1,98	1,96	1,89	2,00	1,98	2,00	2,00	1,97
MDH-C	1,26	1,23	1,12	1,11	1,21	1,29	1,09	1,19	1,19	1,40
SKDH-A	1,27	1,21	1,26	1,08	1,39	1,18	1,55	1,37	1,46	1,39
Multilocus-Diversität	1,39	1,43	1,47	1,35	1,41	1,39	1,47	1,51	1,49	1,47

sache, daß die Abstände zwischen den Subpopulationen teilweise größer sind als die Abstände zwischen geographisch weit entfernt liegenden Fichtenpopulationen des deutschen Verbreitungsgebietes (BERGMANN, 1974; FRANKE und KONNERT, 1990).

Die G_{ST} -Werte (Tab. 5a und 5b) lassen auf einen geringen Anteil der genetischen Variationen zwischen den Subpopulationen schließen, der jedoch am 6-PGDH-B-Locus bedeutend höher ist als an den anderen drei Loci. Dennoch wird hier eine stärkere Differenzierung der Altersstadien erkennbar, als sie z. B. von ROBERDS und CONKLE (1984) für drei Altersklassen eines Bestandes von *Pinus taeda* L. anhand der den G_{ST} -Werten vergleichbaren F_{ST} -Werte gefunden wurde. ROBERDS und CONKLE (1984) fanden einen mittleren $F_{ST} = 0,010$.

Berechnet man die Differenzierung der einzelnen Subpopulationen (D_j) und die Gesamtdifferenzierung aller Subpopulationen eines Bestandes (δ) nach der von GREGORIUS und ROBERDS (1986) vorgeschlagenen Methode, so erhält man bedeutend höhere Werte. D_j und δ variieren stark, sowohl zwischen den einzelnen Populationen als auch zwischen den einzelnen Loci (Tab. 5a). Bei gemeinsamer Betrachtung aller fünf Subpopulationen ergibt sich in Donaueschingen 1 die stärkste zeitliche Differenzierung am 6-PGDH-B-Locus ($\delta = 8,7\%$). Dabei hebt sich die Subpopulation C mit $D_j = 18,0\%$ deutlich von den restlichen ab. Im Genpool sind die beiden Subpopulationen der Naturverjüngung mit 7,8% am stärksten differenziert.

In Donaueschingen 2 zeigt der SKDH-A-Locus die stärkste Differenzierung (7,3%), vor allem durch die ausgeprägte Differenzierung der Sämlingspopulation ($D_j = 11,2\%$). Überhaupt weist hier diese Subpopulation (Sämlinge) mit 7,4% die größte Differenzierung über alle Loci auf.

Vergleicht man nur die drei effektiv im Bestand wachsenden Subpopulationen C bis E (Tab. 5b), so ergibt sich vor allem am 6-PGDH-B-Locus eine deutlich höhere Differenzierung mit gleicher Tendenz in beiden Beständen und etwas niedrigeren Werten in Donaueschingen 2. Im Bestand Donaueschingen 1 unterscheidet sich jede Subpopulation von den restlichen in 14,4% ihrer Allele, in Donaueschingen 2 in 8,6%, wobei sich vor allem für die 8- bis 10jährige Naturverjüngung und den Altbestand hohe Einzel-Locus-Differenzierungswerte ergeben. Auch aufgrund der hohen Genpooldifferenzierung (10% in Donaueschingen 1 und 7,4% in Donaueschingen 2) kann das Stadium E keinesfalls als genetisch repräsentativ für den Bestand als Ganzes angesehen werden. Geht man davon aus, daß Viabilitätsselektion am 6-PGDH-B-Locus unter den gegebenen Standortsbedingungen für die starke zeitliche Differenzierung der Altersklassen verantwortlich

ist, so wirkt sich diese auf die anderen drei untersuchten Genloci in den beiden Beständen unterschiedlich aus. Während in Donaueschingen 1 die Differenzierung am 6-PGDH-C- und SKDH-A-Locus beim Vergleich der Subpopulationen C+D+E größer ist als beim Vergleich aller fünf Subpopulationen, so trifft dies in Donaueschingen 2 nur für den MDH-C-Locus zu.

Die von uns erhaltenen δ -Werte sind den nach Daten von LINHART et al. (1981) von GREGORIUS und ROBERDS (1986) berechneten Differenzierungswerten vergleichbar. Allerdings handelte es sich dort um die räumliche Differenzierung von sechs Subpopulationen eines Kiefernbestandes (*Pinus ponderosa* Laws.), und nicht um die zeitliche Differenzierung wie im vorliegenden Fall. Die größte Einzel-Locus-Differenzierung betrug 11,3% gegenüber den hier ermittelten 14,4%. Laut GREGORIUS et al. (1986) sind solche Werte auch durch unterschiedliche Viabilitätsselektion auf kleinräumig unterschiedlichen Standorten zu erklären. Teilweise niedrige Werte für δ erhielten GREGORIUS et al. (1986) bei dem Vergleich von drei räumlich getrennten Subpopulationen eines Buchenbestandes (*Fagus sylvatica*). Sie analysierten das Saatgut zweier aufeinanderfolgender Erntejahre und kamen ebenso wie LINHART et al. (1981) und ROBERDS und CONKLE (1984) zu der Schlussfolgerung, daß die räumliche Differenzierung ausgeprägter ist als die zeitliche. Im Falle der von uns untersuchten Fichtenbestände ist die zeitliche Differenzierung, zumindest an bestimmten Loci, stark. Vergleichbare Daten für Fichte aus anderen Untersuchungen sind nicht bekannt.

Genetische Diversität

Die entgegengesetzte Selektion am 6-PGDH-B-Locus in frühen und späten ontogenetischen Stadien deutet sich in beiden Beständen auch in den Werten für die genetische Diversität (Tab. 6) an. In den Subpopulationen C (8- bis 10jährige Naturverjüngung) sind die n_e -Werte an diesem Locus ungefähr 1,4 mal größer als in den Altbeständen und den Embryonen und ungefähr 1,2 mal größer als in den Sämlingen und der 30- bis 40jährigen Naturverjüngung. An den anderen Loci sind keine die Diversität betreffenden gerichteten Unterschiede zwischen den Subpopulationen festzustellen.

Die am 6-PGDH-B-Locus nachgewiesene Selektion führt aber zu keiner nennenswerten Einengung der Multilocus-Diversität im Altbestand. Diese ist zwar auch noch in Subpopulation C am größten, liegt aber nur gering über den Werten für die anderen Subpopulationen.

Laut GREGORIUS et al. (1986) ist die Differenzierung zwischen räumlich getrennten Subpopulationen vor allem an Loci mit hoher genetischer Diversität groß. Dies

trifft hier für den Bestand Donaueschingen 1 auch im Falle der zeitlichen Differenzierung zu, im Bestand Donaueschingen 2 allerdings wurde die geringste zeitliche Differenzierung am Locus 6-PGDH-C mit der höchsten genetischen Diversität beobachtet.

Schlußfolgerungen

Wie bei anderen Waldbäumen (TIGERSTEDT et al., 1982; YAZDANI et al. 1985; ROBERDS und CONKLE, 1984) kann auch bei Fichte die genetische Struktur verschiedener Generationen einer Waldbaumpopulation unterschiedlich sein. Dies kann durch die jährlich variierenden Blüh- und Bestäubungsverhältnisse und durch Unterschiede in der Keimfähigkeit des Samens bedingt sein. Wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, scheint aber vor allem Viabilitätsselektion für eine starke Differenzierung zwischen den einzelnen Altersklassen der beiden natürlich verjüngten Fichtenpopulationen verantwortlich zu sein. Anthropogene Faktoren (Ausscheidung der schwächeren Individuen bei Durchforstungsmaßnahmen) können ebenfalls zur Veränderung der genetischen Struktur der Waldbaumpopulationen beitragen. Von der nach dem Alter 10 auftretenden, gegen das B₁-Allel des 6-PGDH-B-Locus gerichteten Selektionen werden homozygote und heterozygote Träger des Allels gleichermaßen erfaßt. Sie kann sich ungerichtet auch auf andere Loci auswirken, so daß Loci mit großer genetischer Diversität durchaus minimale zeitliche Differenzierung zeigen können (z. B. Locus 6-PGDH-C in Donaueschingen 2). Die Multilocus-Diversität der Bestände ist dadurch aber nur wenig verändert.

Es sollte jedoch beachtet werden, daß die hier gefundene Überlegenheit des B₂-Allels am 6-PGDH-B-Locus nach dem Alter 10 nur für die beiden hier beschriebenen Bestände (und Standorte) erwiesen ist. SCHROEDER (unveröffentlicht) fand z. B. bei einem Vergleich zwischen Embryonen, Altbestand und 10–30jähriger Naturverjüngung eines autochthonen Fichtenbestandes aus dem Schwarzwald (Eschenmoos) zwar eine Zunahme der B₁B₂-Genotypen am 6-PGDH-B-Locus mit fortschreitendem Alter, jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Allelhäufigkeiten der drei Stadien.

Da die im Pflanzgarten der FVA angezogenen Sämlinge in den nächsten Jahren auf verschiedene Standorte in Baden-Württemberg ausgebracht werden, kann und soll in den nächsten Jahren untersucht werden, ob im Laufe der Entwicklung unter unterschiedlichen Standortbedingungen ähnliche Veränderungen in der genetischen Struktur der Populationen auftreten wie die hier beschriebenen.

Danksagung

Die Beiratung der Bestände erfolgte im Rahmen eines durch das PEF Karlsruhe geförderten Projektes. Finanzielle Förderung zur Durchführung der Isoenzymanalysen erhielt ich durch Umweltforschungsmittel des Landes Baden-Württemberg.

Frau S. SCHROEDER, Herrn A. FRANKE, FVA Freiburg und Herrn Dr. MÜLLER-STARCK und Kollegen, Universität Göttingen, danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts und die konstruktiven Kommentare.

Für gute technische Mitarbeit gilt mein Dank Frau S. KNALL.

Literatur

BERGMANN, F.: Genetischer Abstand zwischen Populationen. II. Die Bestimmung des genetischen Abstands zwischen europäischen Fichtenpopulationen (*Picea abies*) auf der Basis der Isoenzym-Genhäufigkeiten. *Silvae Genetica* 23: 1–3 (1974). — CHELIAK, W. M. und PITEL, J. A.: Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species. *Environ. Can. Forest Serv., Inf. Rep. PI-X-42*, Petawawa National Forestry Institute. 49 S. (1984). — CROW, J. F. und KIMURA, M.: An Introduction to Population Genetics Theory. Harper a. Row, New York (1970). — FRANKE, A. und KONNERT, M.: Nachkommenschaftsprüfung von Fichtenbeständen des Schwarzwaldes (Herkunftsgebiete 840 08 und 840 09) mit den Zielen: 1) Verbesserung der Immissionstoleranz, 2) Erhaltung der Genressourcen geschädigter Hochlagenbestände, ("Genbank"). Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH KfK-PEF 60, 97 S. (1990). — GREGORIUS, H. R.: Genetischer Abstand zwischen Populationen. I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica* 23: 22–27 (1974). — GREGORIUS, H. R.: The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. *Theor. Appl. Genet.* 74: 397–401 (1987). — GREGORIUS, H. R.: The Meaning of Genetic Variation within and between Subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 76: 947–951 (1988). — GREGORIUS, H. R., KRAUHAUSEN, J. und MÜLLER-STARCK, G.: Spatial and Temporal Genetic Differentiation among the Seed in a Stand of *Fagus sylvatica* L.. *Heredity* 57: 255–262 (1986). — GREGORIUS, H. R. und ROBERDS, J.: Measurement of Genetical Differentiation among Subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 71: 826–834 (1986). — HATTEMER, H. H., BERGMANN, F., KIM, Z. S., GREGORIUS, H. R. und MÜLLER-STARCK, G.: Über genetische Merkmale von Ausgangsmaterial, Saatgut und Pflanzgut von Waldbäumen. *Allg. Forstzeitschrift* 36: 190–193 (1981). — KARLSSON, P.: Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. S. 242. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1970). — LINHART, Y. B., MITTON, J. B., STURGEON, K. B. und DAVIS, M. L.: Genetic Variation in Space and Time in a Population of Ponderosa Pine. *Heredity* 46 (3): 407–426 (1981). — MÜLLER-STARCK, G. und HATTEMER, H. H.: Genetische Auswirkungen von Umweltstreß auf Altbestände und Jungwuchs der Buche. *Forstarchiv* 60: 17–22 (1989). — MÜLLER-STARCK, G., ZIEHE, M., BERGMANN, F., GREGORIUS, H. R. und HATTEMER, H. H.: Die Samenplantage als Instrument der Vermehrung von Waldbäumen. *Allg. Forst- und Jagdzeitung* 153, 220–229 (1982). — MUONA, O., YAZDANI, R. und RUDIN, D.: Genetic Change between Life Stages in *Pinus sylvestris*: Allozyme Variation in Seeds and Planted Seedlings. *Silvae Genetica* 36: 39–42 (1987). — NEI, M.: F-Statistics and Analysis of Gene Frequency in Subdivided Populations. *Ann. Human. Genet.* 41: 225–233 (1977). — ROBERDS, J. H. und CONKLE, M. T.: Genetic Structure in Loblolly Pine Stands; Allozyme Variation in Parents and Progeny. *Forest Sci.* 30 (2): 319–329 (1984). — SHAW, D. und ALLARD, R. W.: Isozyme Heterozygosity in Adult and Open-Pollinated Embryo Samples of Scots Pine. *Silvae Fennica* 16: 115–121 (1982). — SHAW, R. C. und PRASAD, R.: Starch Gel Electrophoresis of Enzymes — A Compilation of Recipes. *Biochemical Genetics* 4: 297–320 (1970). — TIGERSTEDT, P. M., RUDIN, D., NIEMELÄ, T. und TAMMISOLA, J.: Composition and Neighbouring Effect in a Naturally Regenerating Population of Scots Pine. *Silvae Fennica* 16: 122–129 (1982). — WEBER, E.: Mathematische Grundlagen der Genetik. VEB Gustav-Fischer-Verlag, Jena (1978). — WRIGHT, S.: Evolution and the Genetics of Population. Vol. 4: Variability within and among Natural Populations. Univ. Chicago Press, Chicago (1978). — YAZDANI, R., MUONA, O., RUDIN, D. und SZMIDT, A. E.: Genetic Structure of a *Pinus sylvestris* L. Seed — Tree Stand and Naturally Regenerated Understory. *Forest Sci.* 31 (2): 430–436 (1985).