

## Unterscheidung von Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Q. petraea* [Mattuschka] Liebl.) mit Hilfe von genetischen und morphologischen Merkmalen

Heike Hertel<sup>1</sup> und Bernd Degen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Eberswalder Chaussee 3, D-15377 Waldsiedersdorf  
hertel@holz.uni-hamburg.de

<sup>2</sup> INRA Station de Recherches Forestières, Campus agronomique, BP 709  
97387 - Kourou cedex, Guyane Française  
degen\_b@kourou.cirad.fr

### Abstract

#### **Distinguishing indigenous pedunculate and sessile oak (*Quercus robur* L. and *Q. petraea* [Mattuschka] Liebl.) using genetic and morphological traits**

The present study compares the species classification of pedunculate and sessile oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*) by means of leaf traits and isozyme gene loci. Principal Component Analysis is applied as a method for species classification. At the population level, the classification is identical between both kinds of traits for all analysed populations. For single individuals, 85% of all trees are classified in the same way. The use of isozyme analysis in combination with Principal Component Analysis offers new possibilities for identification of locally adapted seeds and plant material, even when leaf traits are not available. The genetic differentiation of both species is discussed in context with hybridisation and gene flow.

Keywords: *Quercus robur*, *Quercus petraea*, species classification, morphological traits, isozyme gene marker, Principal Component Analysis, genetic differentiation

#### **Unterscheidung von Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Q. petraea* [Mattuschka] Liebl.) mit Hilfe von genetischen und morphologischen Merkmalen**

Die vorliegende Untersuchung vergleicht die Artzuordnung von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Q. petraea*) auf Grund von Blattmerkmalen und Isoenzymgenorten. Die Zuordnung erfolgt mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse. Für alle untersuchten Populationen führt die Zuordnung bei beiden Merkmalsgruppen zur selben Einteilung. In 85% der Fälle werden Einzelbäume mit beiden Merkmalsgruppen derselben Art zugeordnet. Der Einsatz von Isoenzymmarkern in Verbindung mit der Hauptkomponentenanalyse bietet die Möglichkeit zur Identifizierung von lokal angepasstem Vermehrungsgut, wenn Blattmerkmale nicht zur Verfügung stehen. Die genetische Differenzierung beider Eichenarten wird im Zusammenhang mit Befunden zu Hybridisierung und Genfluss diskutiert.

Keywords: *Quercus robur*, *Quercus petraea*, Artzuordnung, Morphologische Merkmale, Isoenzymgenmarker, Hauptkomponentenanalyse, Genetische Differenzierung

## 1 Einleitung

Die in Deutschland beheimateten Stieleichen und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Q. petraea* [Mattuschka] Liebl.) kommen sowohl einzeln als auch gemischt in Beständen vor. Die Verbreitungsgebiete beider Arten überlappen sich teilweise. Die Standortansprüche unterscheiden sich jedoch, so dass bei Verjüngung auf geeignetes Vermehrungsgut der «richtigen» Art geachtet werden muss (RÖHRIG und GUSSONE 1990). Die Unterscheidung der beiden verwandten Arten erfolgt üblicherweise anhand verschiedener morphologischer Merkmale der Blätter und Früchte. Hierbei werden das Vorhandensein bzw. Fehlen von Buchtennerven und Büschelhaaren an den Blättern und die Blattstiellänge von AAS (1990) als die wichtigsten Merkmale angesehen. Zusätzlich können Rindenmerkmale einbezogen werden (nach Beobachtungen von HAASEMANN 1996 und Zaspel unveröffentlicht). Wenn mehrere Merkmale gleichzeitig betrachtet werden, ergeben Diskriminanzverfahren fast immer eine eindeutige Zuordnung (AAS 1990; ELSNER 1993; DUPOUEY und BADEAU 1993; HAASEMANN 1996; MÜLLER und SCHNECK 1997).

Die Ergebnisse genetischer Untersuchungen mit verschiedenen Markern und Kreuzungsversuche liessen jedoch Zweifel an der Trennung von Stiel- und Traubeneiche im strengen biologischen Sinn entstehen (KLEINSCHMIT *et al.* 1995a, 1995b). Im folgenden soll gezeigt werden, dass auf der Basis von multivariaten Verfahren sowohl mit morphologischen Merkmalen als auch mit Daten kodominanter Isoenzymmarker ähnliche Zuordnungen von Populationen und Individuen zu den Arten Stiel- bzw. Traubeneiche getroffen werden können.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Bestände

Von mehr als 1600 Eichen an 23 Standorten wurden genetische und phänotypische Merkmale untersucht. Die Bestände, darunter 6 Mischbestände, 10 Stieleichen- und 7 Traubeneichenbestände, waren zum Zeitpunkt der Untersuchung zwischen 63 und 190 Jahre alt. In zwei Populationen wurden dreijährige Sämlinge untersucht. Bei der getrennten Berücksichtigung von Stiel- und Traubeneichen in Mischbeständen ergaben sich insgesamt 29 Populationen. Neben eigenen Befunden wurden zusätzlich Daten von 18 Beständen aus Veröffentlichungen von ZANETTO *et al.* (1994), BACILIERI *et al.* (1995) und KLEINSCHMIT *et al.* (1995b) einbezogen.

### 2.2 Merkmale

Die Artzugehörigkeit der Bäume wurde in den Beständen Brandenburgs und Schleswig-Holsteins anhand morphologischer Blattmerkmale einzelbaumweise bestimmt. Zur Steigerung der Zuordnungssicherheit wurden bei allen Bäumen eines Mischbestandes aus Schleswig-Holstein und in einigen Zweifelsfällen bei den übrigen Beständen mindestens 10 Blätter entnommen und vermessen (Stiellänge, Buchtenerven, Büschelhaare, Öhrchen, Blattform und Buchtentiefe, nach AAS 1990). Die Ermittlung der Artzugehörigkeit wurde dann mit dem Programm EICHE 1.0 (DEGEN und REINHOLDT 1997) vorgenommen. Dabei wurde der rechnerische Unterschied zu «Durchschnittsblättern» von Stiel- und Traubeneichen als Kriterium für die Zuordnung genutzt. Bei den Beständen aus Nordrhein-Westfalen wurden die Angaben zur Art von den örtlichen Betreuern der Dauerbeobachtungsflächen übernommen (ZIEGLER 1998).

Die Isoenzymanalysen erfolgten nach bekannten Methoden an Genorten, deren kodominanter Vererbungsmodus nachgewiesen wurde (MÜLLER-STARCK *et al.* 1996; ZANETTO *et al.* 1996).

### 2.3 Übersicht zu multivariaten Verfahren

Multivariate Verfahren sind bei der Auswertung von Informationen, die in einer grösseren Anzahl von Variablen enthalten sind, besonders hilfreich. Am bekanntesten sind die Diskriminanz- und die Clusteranalyse, die jedoch in Bezug auf ihre Voraussetzungen unterschiedlich zu bewerten sind (siehe hierzu Tab. 1). Im folgenden sollen nur Verfahren zur Anwendung kommen, die keine vorherige Zuordnung von Objekten in Klassen voraussetzen, d.h. alle Gruppierungen von Objekten erfolgen auf der Basis der Variation der jeweils einbezogenen Merkmale. Die Hauptkomponenten- und Korrespondenzanalyse werden gegenüber der Clusteranalyse bevorzugt, da auch bei einer grossen Anzahl von Objekten noch eine übersichtliche graphische Darstellung möglich ist.

Alle Berechnungen wurden mit der Statistik-Software SAS (Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., USA) ausgeführt.

Tab. 1. Übersicht zu multivariaten Verfahren.  
 Table 1. Overview on multivariate methods.

Bezeichnung (SAS-Prozedur)	Daten	Verfahren	Ergebnis
Mit vorher bekannter Zuordnung			
Diskriminanzanalyse (proc discrim)	metrische Daten, (stetig oder intervallskaliert)	mit einer Datei mit bekannter Zuordnung der Objekte wird eine Zuordnungsregel erstellt	Zuordnungsregel kann auf neue Objekte mit unbekannter Klassenzugehörigkeit angewendet werden
Modellierung kategorialer Daten (proc catmod)	nominale Variablen, Merkmalsvektor	mit einer Datei mit bekannter Zuordnung der Objekte werden Zuordnungswahrscheinlichkeiten berechnet	Vergleich von neuen Objekten mit den vorhandenen, Zuordnung nach ihrer Wahrscheinlichkeit
Ohne Voraussetzungen			
Clusteranalyse (proc cluster)	metrische Daten, binäre Daten, Distanzmatrix	gruppiert Objekte (hierarchisch) nach ihren Eigenschaften in Klassen ähnlicher Objekte	Dendrogramm zeigt Gruppen ähnlicher Objekte
Hauptkomponentenanalyse (proc princomp)	metrische Daten, (stetig oder intervallskaliert, normalverteilt)	die Variation einer großen Anzahl Variablen wird durch Linearkombination in möglichst wenigen Komponenten konzentriert	mit den ersten beiden Komponenten graphische Darstellung eines wesentlichen Teils der Variation,
Korrespondenzanalyse (proc corresp)	Kontingenztafel	gewogene Hauptkomponentenanalyse von kategorialen Daten	Erkennen von Strukturen und ähnlichen Gruppen im Plot

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Bestände

Für die Arterkennung mit morphologischen Merkmalen werden nur solche Merkmale ausgewählt, die sich als besonders differenzierend erwiesen haben. Ebenso ist es sinnvoll, von den untersuchten Genorten nur solche für die Artunterscheidung heranzuziehen, die sich durch grosse genetische Abstände zwischen den Arten auszeichnen. Die grössten genetischen Abstände (GREGORIUS 1978) zwischen Stiel- und Traubeneichenpopulationen in unseren Untersuchungen bestehen für die Loci PGM-A, ACP-C und IDH-B. In den Vergleich der genetischen Strukturen von Stieleichen- und Traubeneichenbeständen werden 29 Populationen aus eigenen Untersuchungen (jeweils 2 Teilpopulationen bei Mischbeständen) und 18 Populationen nach Angaben aus der Literatur einbezogen. In die Multilocus-Auswertung im Rahmen der vorliegenden Arbeit können nur solche Publikationen einbezogen werden, die Allelhäufigkeiten an den Genorten PGM-A, ACP-C und IDH-B beinhalten. Allelfrequenzen zu diesen Loci sind von ZANETTO *et al.* (1994; 14 Populationen), KLEINSCHMIT *et al.* (1995b; 2 Populationen) und BACILIERI *et al.* (1995; 2 Populationen) veröffentlicht worden. Alle Autoren folgen in der Bezeichnung der 3 Genorte den Arbeiten von MÜLLER-STARCK *et al.* (1996) und ZANETTO *et al.* (1996). Auch die Zuordnung der Allele innerhalb jedes Genortes ist trotz unterschiedlicher Bezeichnung zweifelsfrei möglich, da die Allele einheitlich nach absteigender Wanderungstrecke geordnet werden. Unterschiede bestehen lediglich durch das Vorhandensein bzw. Fehlen einzelner seltener Allele. In der Tabelle 2 sind die Frequenzen häufiger Allele sowohl der eigenen als auch der zitierten Untersuchungen zusammengefasst. Weitere Allelfrequenzen zu einzelnen der drei hier interessierenden Loci befinden sich bei KREMER *et al.* (1991; 10 Populationen, nur ACP-C), HERZOG und MÜLLER-STARCK (1993; 9 Populationen, nur PGM-A), LÖCHELT (1994; Mittelwerte, nur IDH-B) und SAMUEL *et al.* (1995; 6 Populationen, nur IDH-B).

Von den hier verwendeten Genorten PGM-A, ACP-C und IDH-B (mittlerer genetischer Abstand 0,37) gehen die Frequenzen der häufigen Allele (2, 2 bzw. 3 Allele) als 7 Variablen in die Hauptkomponentenanalyse ein. Die Hauptkomponente 1 enthält dann 77,7% der Gesamtvariation und die Hauptkomponente 2 enthält 9,2%, die restlichen 13,1% der Variation befinden sich in den Hauptkomponenten 3 bis 7.

Die graphische Darstellung (Abb. 1) zeigt nur die ersten beiden Komponenten als x- und y-Achse, wobei jeder Punkt in der Graphik für eine Population steht. Die Lage des Punktes im Koordinatensystem hängt allein von den Allelfrequenzen an den 3 genannten Genorten ab. Alle Punkte auf der linken Seite der Graphik (negative Werte der Hauptkomponente 1) sind morphologisch den Stieleichen und alle Punkte auf der rechten Seite (positive Werte) den Traubeneichen zugeordnet worden. Dies entspricht einer völligen Übereinstimmung der unabhängig voneinander nach morphologischen und nach genetischen Merkmalen getroffenen Einteilung bei Reinbeständen.

Darüber hinaus lässt sich bei den Stieleichen eine Gruppierung nach der geographischen Lage erkennen: Bestände aus Mitteleuropa (eigene Untersuchungen) befinden sich in der Graphik weiter links, während sich Bestände hauptsächlich aus West- und Südeuropa (Literatur) mehr zum mittleren Bereich hin verschoben befinden.

Werden die untersuchten Mischbestände jedoch als eine Population aufgefasst und nicht in zwei Teilpopulationen getrennt, lägen die entsprechenden Punkte im Übergangsbereich zwischen den Werten  $-1,3$  und  $+1,2$  der Hauptkomponente 1, je nach den Mischungsanteilen. Diese untersuchten Mischbestände liessen sich dann aufgrund der geographischen Differenzierung der Stieleichen genetisch nicht mehr von den Reinbeständen West- und Südeuropas unterscheiden.

Tab. 2. Frequenzen der häufigsten Allele an den Loci PGM-A, ACP-C und IDH-B in Stiel- und Traubeneichenpopulationen, Bezeichnung der Allele nach 4), Originalbezeichnung bei zitierter Literatur 1), 2) und 3) in Klammern.

Table 2. Frequencies of common alleles at the loci PGM-A, ACP-C and IDH-B in populations of pedunculate and sessile oak, designation of alleles according to 4), original designations for cited literature 1), 2), and 3) in brackets.

<b>Stieleichenpopulation:</b>	<b>PGM-A2</b>	<b>PGM-A3</b>	<b>ACP-C1</b>	<b>ACP-C3</b>	<b>IDH-B2</b>	<b>IDH-B4</b>	<b>IDH-B6</b>	<b>Ref.</b>
Dänemark, Stockholm	0,317 (A2)	0,500 (A4)	0,667 (C2)	0,325 (C4)	0 (B1)	0,389 (B3)	0,607 (B4)	1)
Frankreich, Mont de Marsan	0,378 (A2)	0,617 (A4)	0,733 (C2)	0,263 (C4)	0 (B1)	0,271 (B3)	0,700 (B4)	1)
Serbien, Sremska	0,358 (A2)	0,600 (A4)	0,752 (C2)	0,227 (C4)	0 (B1)	0,358 (B3)	0,638 (B4)	1)
Deutschland, Stamser (Bayern)	0,270 (A2)	0,730 (A4)	0,947 (C2)	0,053 (C4)	0 (B1)	0,211 (B3)	0,790 (B4)	1)
Slovenien, Babjilozic	0,407 (A2)	0,500 (A4)	0,847 (C2)	0,153 (C4)	0,033 (B1)	0,293 (B3)	0,670 (B4)	1)
Italien, La Fagiana	0,350 (A2)	0,622 (A4)	0,752 (C2)	0,244 (C4)	0,009 (B1)	0,313 (B3)	0,674 (B4)	1)
Rumänien, Dumbrava	0,184 (A2)	0,760 (A4)	0,873 (C2)	0,119 (C4)	0,013 (B1)	0,197 (B3)	0,790 (B4)	1)
Frankreich, Petit Charnie	0,468 (A1)	0,482 (A3)	0,795 (C1)	0,200 (C2)	0,007 (B1)	0,165 (B2)	0,740 (B3)	2)
Deutschland, Abt. 66a	0,211 (A1)	0,776 (A3)	0,795 (C1)	0,141 (C2)	0,013 (B1)	0,137 (B2)	0,788 (B3)	3)
Deutschland, Rosinsee (Brandenb.)	0,534	0,466	0,892	0,108	0	0,314	0,671	4)
Deutschland, Plagefenn (Brandenb.)	0,525	0,456	0,776	0,224	0,011	0,214	0,764	4)
Deutschland, Tiefensee (Brandenb.)	0,500	0,500	0,864	0,136	0	0,455	0,500	4)
Deutschland, Blumenthal1 (Brandenb.)	0,484	0,422	0,781	0,203	0	0,313	0,688	4)
Deutschland, Blumenthal2 (Brandenb.)	0,621	0,362	0,767	0,233	0	0,207	0,784	4)
Deutschland, Schwarzberge (Brandenb.)	0,429	0,571	0,929	0,071	0	0,524	0,476	5)
Deutschland, Wucker (Brandenb.)	0,537	0,432	0,863	0,132	0,005	0,263	0,732	5)
Deutschland, Lübeck136 (Schl.-Holst.)	0,634	0,335	0,738	0,262	0,006	0,323	0,671	5)
Deutschland, Lübeck15d (Schl.-Holst.)	0,676	0,296	0,806	0,194	0	0,259	0,741	5)
Deutschland, Lübeck45a (Schl.-Holst.)	0,619	0,381	0,792	0,208	0,014	0,257	0,729	5)
Deutschland, Lübeck84f (Schl.-Holst.)	0,573	0,419	0,774	0,226	0	0,274	0,726	5)
Deutschland, Lübeck85ad (Schl.-Holst.)	0,610	0,354	0,762	0,238	0	0,286	0,714	5)
Deutschland, Schönberg (Schl.-Holst.)	0,446	0,527	0,808	0,167	0	0,346	0,654	5)
Deutschland, Borken (NRW)	0,648	0,335	0,847	0,147	0	0,182	0,818	5)
Deutschland, Viersen (NRW)	0,553	0,422	0,942	0,058	0	0,422	0,578	5)
Deutschland, Warendorf (NRW)	0,592	0,398	0,857	0,143	0,020	0,332	0,643	5)
Mittelwert (25 Populationen)	0,477	0,491	0,814	0,179	0,005	0,292	0,691	
Bereich	0,184...0,676	0,296...0,776	0,667...0,947	0,053...0,325	0...0,033	0,137...0,524	0,476...0,818	

Tab. 2. Fortsetzung.  
Table 2. Continued.

<b>Traubeneichenpopulation:</b>	PGM-A2	PGM-A3	ACP-C1	ACP-C3	IDH-B2	IDH-B4	IDH-B6	Ref.
Norwegen, Tjore	0,127 (A2)	0,853 (A4)	0,571 (C2)	0,429 (C4)	0,162 (B1)	0,046 (B3)	0,792 (B4)	1)
Frankreich, Oloron	0,042 (A2)	0,907 (A4)	0,529 (C2)	0,454 (C4)	0,071 (B1)	0,079 (B3)	0,850 (B4)	1)
Serbien, Iriski Venac	0,027 (A2)	0,969 (A4)	0,197 (C2)	0,741 (C4)	0,009 (B1)	0,144 (B3)	0,842 (B4)	1)
Österreich, Riedenburg	0,012 (A2)	0,921 (A4)	0,554 (C2)	0,446 (C4)	0,033 (B1)	0,004 (B3)	0,942 (B4)	1)
Slovenien, Kobilje	0 (A2)	1 (A4)	0,402 (C2)	0,560 (C4)	0,131 (B1)	0,029 (B3)	0,824 (B4)	1)
Frankreich, Nt.Dame du Cruet	0,102 (A2)	0,891 (A4)	0,592 (C2)	0,405 (C4)	0,063 (B1)	0,011 (B3)	0,922 (B4)	1)
Rumänien, Resinari	0,100 (A2)	0,870 (A4)	0,565 (C2)	0,409 (C4)	0,009 (B1)	0,202 (B3)	0,785 (B4)	1)
Frankreich, Petit Charnie	0,113 (A1)	0,837 (A3)	0,575 (C1)	0,409 (C2)	0,074 (B1)	0,048 (B2)	0,841 (B3)	2)
Deutschland, A bt. 66a	0,087 (A1)	0,913 (A3)	0,567 (C1)	0,433 (C2)	0,068 (B1)	0,041 (B2)	0,851 (B3)	3)
Deutschland, Rosinsee (Brandenb.)	0,182	0,795	0,483	0,483	0,100	0,067	0,833	4)
Deutschland, Plagefenn (Brandenb.)	0,132	0,868	0,583	0,417	0,132	0,026	0,842	4)
Deutschland, Tiefensee (Brandenb.)	0,088	0,868	0,515	0,485	0,103	0,044	0,853	4)
Deutschland, Rehhausen (Brandenb.)	0,043	0,914	0,471	0,529	0,029	0,014	0,957	4)
Deutschland, Schwarzberge (Brandenb.)	0,028	0,944	0,347	0,500	0,069	0,069	0,861	5)
Deutschland, Gartz2 (Brandenb.)	0,070	0,917	0,446	0,537	0,153	0,050	0,798	5)
Deutschland, Gartz3 (Brandenb.)	0,057	0,944	0,282	0,710	0,186	0,008	0,807	5)
Deutschland, Bernkastel (Rheinl.-Pfalz)	0,033	0,867	0,517	0,466	0	0,033	0,967	5)
Deutschland, Gührde (Niedersachsen)	0,050	0,950	0,574	0,412	0,014	0,057	0,886	5)
Deutschland, Lübeck45a (Schl.-Holst.)	0,250	0,732	0,517	0,467	0,071	0,036	0,893	5)
Deutschland, Lübeck85ad (Schl.-Holst.)	0,075	0,875	0,600	0,400	0,100	0,075	0,825	5)
Deutschland, Arnsberg (NRW)	0,119	0,787	0,555	0,446	0,094	0,040	0,866	5)
Deutschland, Kleve (NRW)	0,360	0,605	0,655	0,304	0,055	0,070	0,865	5)
Mittelwert (22 Populationen)	0,095	0,874	0,504	0,475	0,078	0,054	0,859	
Bereich	0...0,360	0,605...1	0,197...0,655	0,304...0,741	0...0,186	0,004...0,202	0,785...0,967	

1) ZANETTO *et al.* 1994, 2) BACILIERI *et al.* 1995, 3) KLEINSCHMIT *et al.* 1995b, 4) HERTEL und ZASPEL 1996, 5) bisher unveröffentlichte Daten

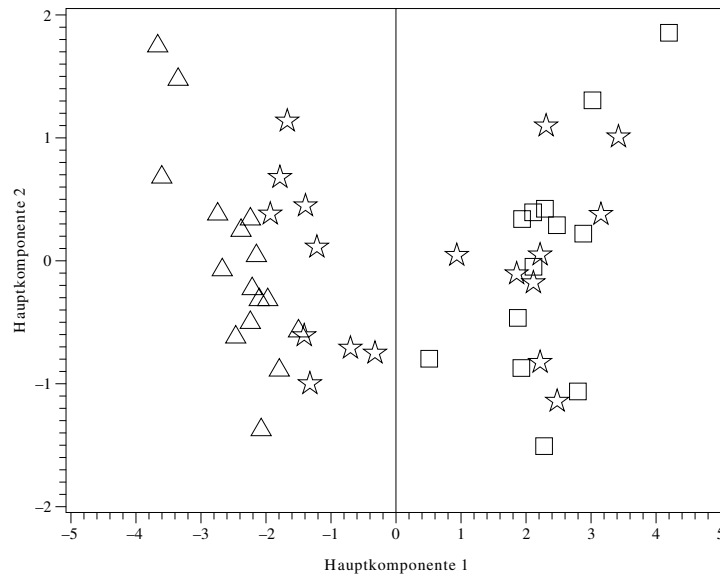


Abb. 1. Plot der ersten beiden Hauptkomponenten von 47 Eichenbeständen unter Einbeziehung von 7 Allelen der 3 Genorte PGM-A, ACP-C und IDH-B ( $\Delta$  Stieleichen,  $\square$  Traubeneichen,  $\star$  zitierte Literatur).  
 Fig. 1. Plot of the first and second principal component of 47 populations based on 7 alleles of the loci PGM-A, ACP-C and IDH-B ( $\Delta$  pedunculate oak,  $\square$  sessile oak,  $\star$  cited literature).

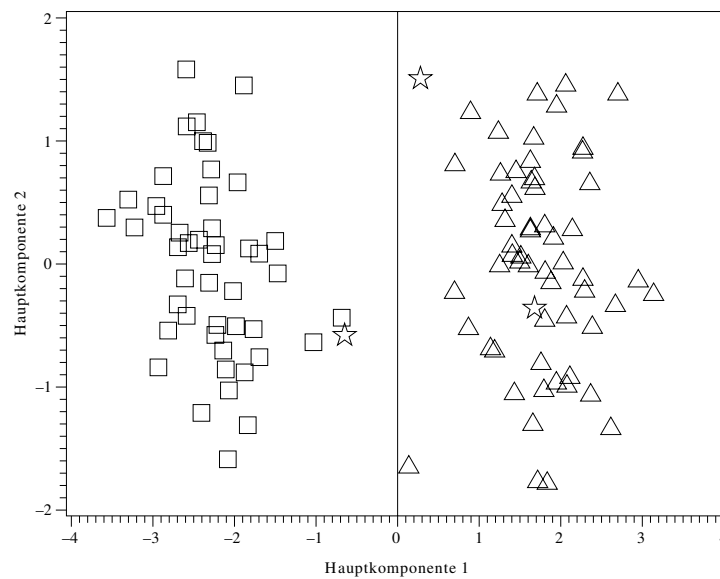


Abb. 2. Plot der ersten beiden Hauptkomponenten von 109 Bäumen eines Mischbestandes unter Einbeziehung von 6 morphologischen Merkmalen der Blätter, ( $\Delta$  Stieleichen,  $\square$  Traubeneichen,  $\star$  Intermediäre) die Symbole entsprechen der mit dem Programm EICHE 1.0 festgestellten Baumart.  
 Fig. 2. Plot of the first and second principal component of 109 individual trees of a mixed stand based on 6 morphological traits, ( $\Delta$  pedunculate oak,  $\square$  sessile oak,  $\star$  Intermediates) symbols correspond to the tree species determined with software EICHE 1.0



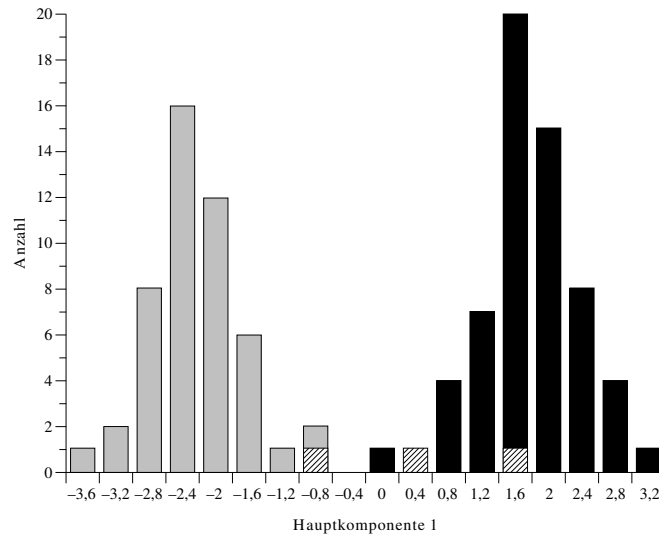


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung der Hauptkomponente 1 unter Einbeziehung von 6 blattmorphologischen Merkmalen von 109 Bäumen eines Mischbestandes (schwarz Stieleichen, grau Traubeneichen, schraffiert Intermediäre).

Fig. 3. Frequency distribution of the principal component 1 of 109 individual trees of a mixed stand based on 6 morphological traits (black pedunculate oak, gray sessile oak, hatched intermediates).

### 3.2 Einzelbäume

Am Beispiel eines Mischbestandes aus dem Forstamt Lübeck wird versucht, mit morphologischen Merkmalen und mit Multilocus-Genotypen einzelne Individuen den Arten zuzuordnen. Zunächst wurden die 6 morphologischen Merkmale Stiellänge, Buchtennerven, Büschelhaare, Öhrchen, Blattform und Buchtentiefe von 109 Bäumen an jeweils 10 Blättern erfasst und mit Hilfe des Programms EICHE 1.0 über die rechnerischen Unterschiede zu «Durchschnittsblättern» die Artzugehörigkeit bestimmt. 59 Bäume wurden damit als Stieleichen und 47 Bäume als Traubeneichen identifiziert, 3 Individuen wurden keiner der beiden Arten zugeordnet und sind als Intermediäre aufzufassen.

Dieselben morphologischen Merkmale (als Mittelwerten von jeweils 10 Blättern) ergeben auch mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse 2 deutlich getrennte Gruppen (Abb. 2 und 3; Hauptkomponente 1: 71,3%, Hauptkomponente 2: 10,8% der Gesamtvariation).

Für die Auswertung der genetischen Untersuchungen werden 5 Genloci (mittlerer genetischer Abstand 0,30) ausgewählt. Wie schon bei den Beständen werden PGM-A, ACP-C und IDH-B verwendet und zusätzlich werden AP-B und PGI-B einbezogen. Die Variablen für die einzelnen Allele nehmen die Werte «0», «1» oder «2» an, je nachdem, ob ein Allel im entsprechenden Individuum gar nicht, einmal im heterozygoten Zustand mit einem anderen Allel, oder zweimal im homozygoten Zustand vorkommt. Die Tabelle 3 zeigt einen Ausschnitt aus einer Datei für den Genlocus PGM-A mit 5 Allelen.

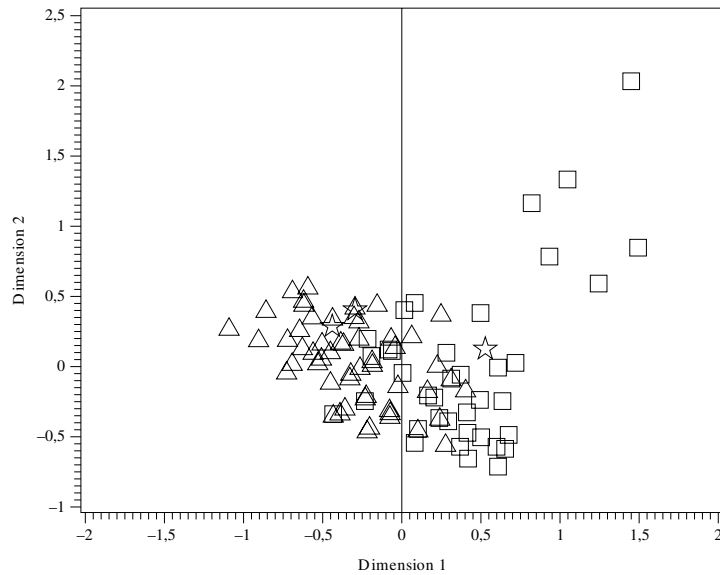


Abb. 4. Plot der ersten beiden Dimensionen nach Korrespondenzanalyse unter Einbeziehung von 5 Genorten von 109 Bäumen eines Mischbestandes ( $\Delta$  Stieleichen,  $\square$  Traubeneichen,  $\star$  Intermediäre).  
 Fig. 4. Plot of the first and second dimension of correspondence analysis of 109 individual trees of a mixed stand based on 5 gene loci ( $\Delta$  pedunculate oak,  $\square$  sessile oak,  $\star$  intermediates).

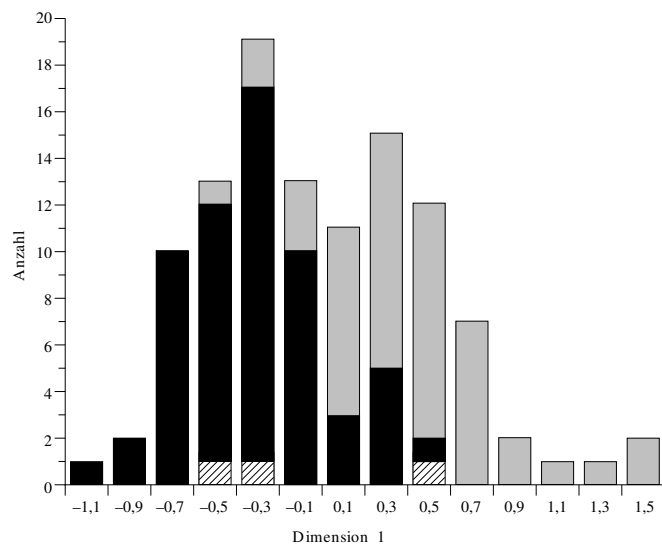


Abb. 5. Häufigkeitsverteilung der Dimension 1-Werte unter Einbeziehung von 5 Genorten von 109 Bäumen eines Mischbestandes (schwarz Stieleichen, grau Traubeneichen, schraffiert Intermediäre).  
 Fig. 5. Frequency distribution of the dimension 1-value of 109 individual trees of a mixed stand based on 5 gene loci (black pedunculate oak, gray sessile oak, hatched intermediates).

Eine Kontingenztabelle mit Variablen zu insgesamt 11 häufigen Allelen von 5 Genorten bildet die Basis für eine Korrespondenzanalyse. In der Abbildung 4 wird jeder Baum durch einen Punkt im Koordinatensystem der ersten beiden Dimensionen dargestellt (entsprechen den Hauptkomponenten, Dimension 1: 23,4% der Gesamtvariation, Dimension 2: 17,5% .). Die Lage eines Punktes ist nur von den Genotypen an den betrachteten Loci abhängig, obwohl zur besseren Veranschaulichung wieder verschiedene Symbole verwendet werden, die der morphologischen Artzuordnung entsprechen. Die Abbildung 5 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Dimension 1-Werte des untersuchten Mischbestandes als eine zweigipflige Kurve. Es handelt sich jedoch nicht um zwei voneinander getrennte Verteilungen.

Im untersuchten Mischbestand stimmen für ca. 86% der Bäume die Artzuordnung mit Hilfe von morphologischen Merkmalen und genetischen Merkmalen überein. Bei zufälliger Verteilung, d.h. wenn keine Beziehung zwischen Phänotyp und Genotyp angenommen wird, wären hingegen nur etwa 50% Übereinstimmung zu erwarten.

Bei der Anwendung derselben Methode auf alle untersuchten Bestände ergeben sich im Mittel bei 85% aller Bäume gleiche Zuordnungen von morphologischen und genetischen Merkmalen. Bei 28 Populationen liegen die Werte im Bereich zwischen 76 und 97% , bei einem als Traubeneiche bezeichneten Bestand aus Nordrhein-Westfalen dagegen aber bei nur 49%. Dies kann als Hinweis darauf aufgefasst werden, dass es sich eventuell um einen Mischbestand handeln könnte, was nun einzelbaumweise morphologisch geprüft werden soll.

Tab. 3. Beispiel für absolute Häufigkeiten für die Allele des Genortes PGM-A.  
Table 3. Example for absolute allele frequencies for the locus PGM-A.

Baum-Nr.	Genotyp	pgm_a1	pgm_a2	pgm_a3	pgm_a4	pgm_a5
1	A3A3	0	0	2	0	0
2	A2A3	0	1	1	0	0
3	A2A2	0	2	0	0	0
4	A2A4	0	1	0	1	0
5	A3A3	0	0	2	0	0
6	A2A2	0	2	0	0	0
7	A2A2	0	2	0	0	0
8	A2A3	0	1	1	0	0

## 4 Diskussion

Zahlreiche populationsgenetische Untersuchungen mit Isoenzymmarkern bei Forstgehölzen haben ergeben, dass sich der grössere Teil der genetischen Variation zwischen den Individuen innerhalb von Populationen befindet und der kleinere Teil zwischen Populationen (z.B. HAMRICK *et al.* 1992; LOVELESS 1992). Die vorgestellte Art der Datenauswertung, d.h. die Auswahl bestimmter, für die jeweilige Fragestellung informativer Genorte und die Anwendung multivariater Verfahren, geht über die übliche Berechnung von mittleren genetischen Abständen über alle untersuchten Genloci hinaus. An den ausgewählten Genloci PGM-A, ACP-C und IDH-B haben nicht nur in unseren Untersuchungen, sondern auch in denen anderer Autoren Stiel- und Traubeneiche überdurchschnittlich grosse genetische Abstände (KREMER *et al.* 1991; ZANETTO *et al.* 1994; KLEINSCHMIT *et al.* 1995b, BACILIERI *et al.* 1995). Multivariate Verfahren für Isoenzymmarker wurden u.a. von KONNERT (1992, 1997), BACILIERI *et al.* (1995) und HERTEL und KOHLSTOCK (1996) und für molekulare Marker von BODENES *et al.* (1997) eingesetzt.

Beim Vergleich von Resultaten, die sich auf morphologische Merkmale beziehen, mit denen, die auf genetischen Untersuchungen mit Isoenzymmarkern basieren, müssen die unterschiedlichen Eigenschaften der jeweiligen Merkmale berücksichtigt werden. Morphologische Merkmale werden meistens nicht nur von einem, sondern von mehreren Genen kodiert (FALCONER 1984). Ausserdem können sie sowohl einen kodominanten als auch einen dominant-rezessiven Erbgang haben oder mütterlich vererbt werden. Für die verwendeten Isoenzymmarker dagegen ist eine kodominante Vererbung nachgewiesen.

Trotz der verschiedenen Eigenschaften der verwendeten morphologischen und genetischen Merkmale bestehen in der vorliegenden Untersuchung nur geringe Unterschiede zwischen den mit verschiedenen Methoden gefundenen Zuordnungen von Beständen oder Einzelbäumen zu Stiel- und Traubeneichen.

Die Ergebnisse, die mit Literaturdaten und eigenen Untersuchungen erhalten wurden, sprechen für einen engen Zusammenhang zwischen genetischen und phänotypischen Merkmalen. Beide Methoden können zur Artbestimmung eingesetzt werden und führen nach den bisherigen Erfahrungen bei artreinen Populationen in allen und bei Einzelbäumen in ca. 85% der Fälle zum selben Ergebnis. Bei Altbeständen ist der Einsatz morphologischer Methoden sicher effektiver, bei Saatgut und Jungpflanzen aber nicht in jedem Fall anwendbar (LIESEBACH und STEPHAN 1998). In diesen Fällen erbringt die Artbestimmung mit Genmarkern eine zusätzliche wichtige Information.

Die unterschiedliche Zuordnung in 15% der Fälle könnte u.a. durch den unterschiedlichen Vererbungsmodus von morphologischen Merkmalen und Isoenzym-Genmarkern erklärt werden. Bei morphologischen Merkmalen mit einer dominanten oder mütterlichen Vererbung wird der Anteil an Hybriden unterschätzt (BACILIERI *et al.* 1996). Bei kodominanten Genmarkern jedoch, mit deutlich unterschiedlichen Allelhäufigkeiten bei den beiden Arten, fallen Hybriden durch ihren seltenen Genotyp auf. Auf das Vorhandensein von Hybriden deutet die Häufigkeitsverteilung der ersten Komponente bei der Korrespondenzanalyse hin (siehe Abb. 5). Dort zeigt sich eine zweigipflige Verteilung und nicht zwei völlig getrennte Verteilungen.

Im Gegensatz zu der hier beschriebenen deutlichen genetischen Differenzierung wird in der Literatur häufig nur von geringen genetischen Unterschieden zwischen Stiel- und Traubeneichen berichtet (ZANETTO *et al.* 1994; SAMUEL *et al.* 1995). Diese Ergebnisse werden mit einem effektiven Genfluss (BACILIERI *et al.* 1993; BACILIERI *et al.* 1996) zwischen den beiden Arten erklärt. In diesem Zusammenhang werden Kreuzungsexperimente aufgeführt.

Eine Erklärung für die gegensätzlichen Befunde der vorliegenden Arbeit ist die Beschränkung auf Genorte mit deutlichen genetischen Abständen zwischen den Arten und die Verwendung multivariater Verfahren.

Der Einsatz sensiblerer statistischer Methoden ergab auch eine grössere genetische Differenzierung zwischen den beiden Arten in den untersuchten Beständen Mitteleuropas im Vergleich zu den Beständen West- und Südeuropas (ZANETTO *et al.* 1994; BACILIERI *et al.* 1995). Dies zeigt sich in der Hauptkomponentenanalyse, bei der die Stieleichen aus West- und Südeuropa schwächer von den Traubeneichen unterschieden werden (Abb. 1). Es gibt also offensichtlich regional in Europa eine unterschiedlich starke genetische Differenzierung an den Isoenzymgenorten zwischen den Arten.

Daraus ergibt sich die Frage, wie sich die genetische Differenzierung in Mitteleuropa etablieren bzw. erhalten kann. Ein von Südwest nach Nordost zunehmender Selektionsdruck gegen Hybriden wäre eine Erklärung. Die standortabhängige unterschiedliche Fitness der beiden Arten, und vermutlich auch ihrer Hybriden, kommt in der sehr unterschiedlichen Verbreitungsgrenze im Osten zum Ausdruck. Stieleichen kommen bis zum Südrural vor, während die Verbreitung der Traubeneichen mehr als 2000 km westlich endet (RÖHRIG und BARTSCH 1992).

Elternschaftsanalysen im Saatgut eines Mischbestandes im Nordwesten Frankreichs ergaben unter natürlichen Bedingungen nur sehr geringe Anteile von Hybriden (STREIFF 1998). Auch unter künstlichen Bedingungen ist die Kreuzbarkeit in der einen Richtung (SEi x TEi) eingeschränkt und in der anderen Richtung (TEi x SEi) wenig erfolgreich (RUSHTON 1977; AAS 1991; STEINHOFF 1993; KREMER *et al.* 1994; SCHÜTE 1995). Dies muss als Indiz dafür angesehen werden, dass es eine Abgrenzung gibt, wenn auch der Mechanismus nicht bekannt ist (AAS 1991).

Selbst wenn angenommen wird, dass Hybridisierungen über Generationen hinweg in grösserem Umfang stattfinden, muss der Anteil morphologisch intermediärer Formen durch mütterliche oder dominante Vererbung einiger Merkmale nicht unbedingt gross sein. Die genetischen Unterschiede bei kodominanten Markern zwischen den nach morphologischen Kriterien gebildeten Gruppen wären dann aber nicht mehr vorhanden. Die trotzdem nachweisbaren deutlichen genetischen Unterschiede bei Allelfrequenzen an einigen Genloci sind also eher noch unterschätzt. Sie zeigen, dass die Eigenständigkeit der Arten trotz Genaustausches erhalten bleibt. Auch BACILIERI *et al.* (1995) stellen fest, dass die Koexistenz der beiden Arten und der Genfluss zwischen ihnen nicht zu einer Verringerung der genetischen Differenzierung zwischen den Arten zu führen scheint. Ein Genfluss ist zwar nachweisbar, muss aber unter natürlichen Bedingungen in Mitteleuropa als so gering eingeschätzt werden, dass es gerechtfertigt ist, Stiel- und Traubeneiche als zwei Arten zu betrachten.

## 5 Literatur

- AAS, G., 1990: Kreuzbarkeit und Unterscheidung von Stiel- und Traubeneiche. *AFZ/Wald* 45: 219–221.
- AAS, G., 1991: Kreuzungsversuche mit Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Q. petraea* [Matt.] Liebl.). *Allg. Forst- Jagdztg.* 162: 141–145.
- BACILIERI, R.; ROUSSEL, G.; DUCOUSSO, A., 1993: Hybridization and mating system in a mixed stand of sessile and pedunculate oak. *Ann. sci. for.* 50 Suppl. 1: 122–127.
- BACILIERI, R.; DUCOUSSO, A.; KREMER, A., 1995: Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest of France. *Silvae Genet.* 44: 1–10.
- BACILIERI, R.; DUCOUSSO, A.; KREMER, A., 1996: Comparison of morphological characters and molecular markers for the analysis of hybridization in sessile and pedunculate oak. *Ann. sci. for.* 53: 79–91.
- BODENES, C.; JOANDET, S.; LAIGRET, F.; KREMER, A., 1997: Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. *J. Hered.* 78: 433–444.
- DEGEN, B.; REINHOLDT, B., 1997: EICHE 1.0 – Programm zur Unterscheidung von Stiel- und Traubeneichen anhand blattmorphologischer Merkmale. URL: <http://www.uni-hamburg.de/OekoGenetik/software.htm>
- DUPOUEY, J.L.; BADEAU, V., 1993: Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* [Matt.] Liebl, *Quercus pubescens* Willd.) in northeastern France: preliminary results. In: KREMER, A. (Hrsg.) *Genetics of oaks.* *Ann. sci. for.* 50: 35–40.
- ELSNER, G., 1993: Morphological variability of oak stands (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) in northern Germany. In: KREMER, A. (Hrsg.): *Genetics of oaks.* *Ann. sci. for.* 50: 228–232.
- FALCONER, D.S., 1984: Einführung in die quantitative Genetik. Stuttgart, Ulmer. 472 S.
- GREGORIUS, H.-R., 1978: The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Math. Biosciences* 41: 253–271.
- HAASEMANN, W., 1996: Vorkommen von Traubeneiche und Stieleiche in Sachsen. *AFZ/Wald* 51: 993–996.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W.; SHERMAN-BROYLES, S.L., 1992: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For.* 6: 95–124.
- HERTEL, H.; KOHLSTOCK, N., 1996: Genetische Variation und geographische Struktur von Eibenvorkommen (*Taxus baccata* L.) in Mecklenburg-Vorpommern. *Silvae Genet.* 45: 290–294.
- HERTEL, H.; ZASPEL, I., 1996: Investigations on vitality and genetic structure in oak stands. *Ann. sci. for.* 53: 761–773.
- HERZOG, S.; MÜLLER-STARCK, G., 1993: Untersuchungen zur genetischen Differenzierung bei Stieleiche (*Quercus robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* Liebl.): Konsequenzen für die Erhaltung genetischer Ressourcen. *Forstarchiv* 64: 88–92.
- KLEINSCHMIT, J.R.G.; KREMER, A.; ROLOFF, A., 1995a: Sind Stieleiche und Traubeneiche zwei getrennte Arten? *AFZ/Wald* 50: 1453–1456.
- KLEINSCHMIT, J.R.G.; BACILIERI, R.; KREMER, A.; ROLOFF, A., 1995b: Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* [Matt.] Liebl.). *Silvae Genet.* 44: 256–269.
- KONNERT, M., 1992: Genetische Untersuchungen in geschädigten Weisstannenbeständen (*Abies alba* Mill.) Südwestdeutschlands. Dissertation, Forstliche Fakultät der Universität Göttingen.
- KONNERT, M., 1997: Untersuchungen zur genetischen Variation der Buche in Bayern. Abschlussbericht zum Kuratoriumsprojekt P25 (unveröffentlicht).
- KREMER, A.; PETIT, R.; ZANETTO, A.; FOUGERE, V.; DUCOUSSO, A.; WAGNER, D.; CHAUVIN, C., 1991: Nuclear and Organelle Gene Diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea*. In: MÜLLER-STARCK, G.; ZIEHE, M. (Hrsg.) *Genetic Variation in European Populations of Forest Trees.* Frankfurt a.M., Sauerländer. 141–166.

- KREMER, A.; FAVRE, J.M.; SCHIRONE, B.; HERZOG, S.; KLEINSCHMIT, J.; STEPHAN, R.; DEANS, J.D., 1994: Description of genetic variation in oak populations by means of molecular markers and adaptive traits. Summary of the final technical report. Contract N° MA 2B-CT 91-0022.
- LIESEBACH, M.; STEPHAN, R., 1998: Correlation between types of acorns and developing plants of two European white oak species until age four. In: STEINER, K.C. (Hrsg.) Diversity and adaptation in oak species, Proceedings 12.–17.9.97, State University Pennsylvania U.S.A. 109–120.
- LÖCHELT, S., 1994: Bestimmung der genetischen Konstitution heimischer Eichen mittels Isoenzymanalysen. Forst Holz 49: 98–100.
- LOVELESS, M.D., 1992: Isozyme variation in tropical trees: Patterns of genetic organisation. New For. 6: 67–94.
- MÜLLER, M.; SCHNECK, D., 1997: Mischung von Stiel- und Traubeneiche in zugelassenen Erntebeständen. AFZ/Wald 52: 266–268.
- MÜLLER-STARCK, G.; ZANETTO, A.; KREMER, A.; HERZOG, S., 1996: Inheritance of isoenzymes in sessile oak (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl.) and offspring from interspecific crosses. For. Genet. 3: 1–12.
- RÖHRIG, E.; BARTSCH, N., 1992: Der Wald als Vegetationsform und seine Bedeutung für den Menschen. 6. Aufl. von Denglers Waldbau auf ökologischer Grundlage Bd. 1. Hamburg und Berlin, Parey. 350 S.
- RÖHRIG, E.; GUSSONE, H.A., 1990: Baumartenwahl, Bestandesgründung und Bestandespflege. 6. Aufl. von Denglers Waldbau auf ökologischer Grundlage Bd. 2. Hamburg und Berlin, Parey. 314 S.
- RUSHTON, B.S., 1977: Artificial hybridisation between *Quercus robur* L. und *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Watsonia 11: 229–236.
- SAMUEL, R.; PINSKER, W.; EHRENDORFER, F., 1995: Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from Eastern Austria. Bot. Acta 108: 290–299.
- SCHÜTE, G., 1995: Kontrollierte Kreuzungen und Entwicklung der Hybriden von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* [Matt.] Liebl.). In: MAURER, W.; TABEL, U. Genetik und Waldbau unter besonderer Berücksichtigung der heimischen Eichenarten. Mitteilungen der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz 34: 38–49.
- STEINHOFF, S., 1993: Results of species hybridization with *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. In: KREMER, A. (Hrsg.) Genetics of oaks. Ann. sci. for. 50: 137–143.
- STREIFF, R., 1998: Structure genetique spatiale et flux polliniques dans une chenaie mixte: *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus robur* L. These Université Montpellier.
- ZANETTO, A.; ROUSSEL, G.; KREMER, A., 1994: Geographic variation of inter-specific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. For. Genet. 1: 111–123.
- ZANETTO, A.; KREMER, A.; MÜLLER-STARCK, G.; HATTEMER, H.H., 1996: Inheritance of isozymes in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). J. Hered. 87: 364–370.
- ZIEGLER, C., 1998: Absterbeprozesse auf Eichen-Dauerbeobachtungsflächen. In: Die Situation der Eiche in Nordrhein-Westfalen und angrenzenden Gebieten. Statusbericht zu einem Workshop am 19. Mai 1998 in Arnsberg. Recklinghausen, Landesanstalt für Ökologie, Bodenordnung und Forsten/Landesamt für Agrarordnung, Nordrhein-Westfalen. 20–24.