

Forschungsbericht FZKA-BWPLUS

**Genetische und ökophysiologische Untersuchungen zur  
Überflutungstoleranz der Esche  
(*Fraxinus excelsior* L.) in der Rheinaue**

von

Dacasa-Rüdinger, M.-C., Dounavi, K. D., Hebel, I., Karopka M. und Aldinger, E.

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg  
Abt. Waldökologie

Förderkennzeichen: BWR 22016

Die Arbeiten des Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung werden mit Mitteln des  
Landes Baden-Württemberg gefördert

April 2007

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	7
Summary .....	8
1 Einleitung .....	9
2 Material und Methoden .....	13
2.1 Prüfung der Überflutungstoleranz.....	13
2.1.1 Genetische Struktur am Enzym-Genort ADH.....	13
2.1.2 Physiologische Untersuchungen .....	16
2.1.3 Keimungsexperiment .....	25
2.1.4 Nachkommenschaftsprüfung.....	26
2.2 Herkunftsidentifizierung .....	27
2.2.1 Nukleare-Mikrosatelliten .....	28
2.2.2 Chloroplasten-Mikrosatelliten.....	29
2.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen .....	29
2.4 Art-Bestimmung.....	30
2.4.1 Biochemische Analyse .....	30
2.4.2 Molekularanalyse .....	31
3 Ergebnisse .....	31
3.1 Prüfung der Überflutungstoleranz.....	31
3.1.1 Genetische Struktur am Enzym-Genort ADH.....	31
3.1.2 Physiologische Untersuchungen .....	33
3.1.3 Keimungsexperiment .....	42
3.1.4 Nachkommenschaftsprüfung.....	43
3.2 Herkunftsidentifizierung .....	44
3.2.1 Nukleare-Mikrosatelliten .....	44
3.2.2 Chloroplasten-Mikrosatelliten.....	46
3.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen .....	47
3.4 Art-Bestimmung.....	48
3.4.1 Biochemischeanalyse .....	48
3.4.2 Molekularanalyse .....	48
4 Diskussion .....	49
4.1 Prüfung der Überflutungstoleranz.....	49
4.2 Herkunftsidentifizierung .....	62
4.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen .....	64
4.4 Art-Bestimmung.....	65
5 Schlussfolgerungen .....	66

5.1	Zur Überflutungstoleranz bei Esche.....	66
5.2	Eignung des Saatgutes der Eschen-Samenplantage Zähringen.....	68
6	Literatur.....	69
7	Danksagung.....	82
8	Anhang.....	83
8.1	Tabellen.....	83
8.1.1	Tabelle 1: Untersuchungsgebiete und Herkunfts-Bezeichnung.....	83
8.1.2	Tabelle 2: Standortbedingungen am Ort der Saatgut-Gewinnung.....	83
8.1.3	Tabelle 3: Anzahl auf der Fläche Rastatt aufgebracht Pflanzen pro Herkunftsgebiet.....	84
8.1.4	Tabelle 4: Angewandte Kern- und cpDNA-Mikrosatelliten-Primern.....	84
8.1.5	Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Enzymsysteme für die Artbestimmung verschiedener Eschenarten.....	85
8.1.6	Tabelle 6: Genotypen Verteilung am Genort ADH-B in Prozent für jedes der untersuchten Transekte an der Rhein- und Elbeauen.....	85
8.1.7	Tabelle 7: Vergleich der hierarchischen F-Statistik in Rhein- und Elbeauen.....	85
8.1.8	Tabelle 8: Mittelwerte der Keimungsprozente am Ende des Keimungsprozesses (KP) und Keimungswert (KW) für die drei Herkunftsgebiete.....	86
8.1.9	Tabelle 9: Varianz-Analyse der Variable GV mit Herkünfte (Her) und Behandlungen (Beh) als Einflussfaktoren.....	86
8.1.10	Tabelle 10: Allelische Diversität an den Mikrosatelliten-Loci in Süddeutschland und Vogesen.....	86
8.1.11	Tabelle 11: Parameter der genetischen Diversität von allen untersuchten Populationen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat14, Femsat18, Femsat12 und Femsat16.....	87
8.1.12	Tabelle 12: F-Satistik zwischen Populationen und zwischen Herkunftsgebieten in Süddeutschland an den Mikrosatelliten-Loci Femsat14, Femsat18, Femsat12 und Femsat16.....	88
8.1.13	Tabelle 13: Populationsgenetische Parameter der Elbeaue basierend auf vier nuklearen Mikrosatelliten-Loci.....	88
8.1.14	Tabelle 14: Hierarchische F-Statistiken der sechs untersuchten Populationen in der Elbeaue. Die Ergebnisse beruhen auf der AMOVA Analyse der vier nuklearen Mikrosatelliten-Loci (Permutationstest der F-Statistiks: n.s nicht signifikant, *** P< 0.001).....	89
8.1.15	Tabelle 15: Beobachtete Haplotypen in den fünf untersuchten Herkunftsgebieten basierend auf den fünf cpDNA Markers.....	89
8.1.16	Tabelle 16: Chloroplast-Haplotypen, die innerhalb der Elbepopulationen beobachten wurden.....	90
8.1.17	Tabelle 17: Genetische Diversität im Klonkollektiv (K) und in der Samenpopulation (S).....	90
8.1.18	Tabelle 18: Hierarhische F-Werte für das Klonkollektiv (K) und die Samenpopulation (S), wie auch für das Klonkollektiv (K) und die Einzelbaumnachkommenschaft (SE).....	91
8.1.19	Tabelle 19: Beobachtete Haplotypen bei den vier untersuchten Eschenarten, basierend auf den fünf cpDNA Markers.....	91
8.2	Abbildungen.....	92
8.2.1	Abbildung 1: Geographische Verteilung der untersuchten Populationen.....	92
8.2.2	Abbildung 2. Gewächshaus mit Überschwemmungsbecken.....	92
8.2.3	Abbildung 3: Flache Behälter mit Saatgut vor der Stratifizierung.....	93
8.2.4	Abbildung 4: Verteilung der verschiedenen Nachkommenschaften über die Fläche „Rastatt“... ..	93
8.2.5	Abbildung 5: Zymogramm für das Enzymsystem Alkoholdehydrogenase (ADH) im Kambium.....	93
8.2.6	Abbildung 6: Mosaik-Diagramm mit Prozenten der Allele 3 und 4 am Genort ADH-B..... und deren relativer Beitrag für jedes untersuchte Herkunftsgebiet.....	94
8.2.7	Abbildung 7: Allele-Verteilung am Genort ADH-B in jedem untersuchten Herkunftsgebiet.....	94

8.2.8	Abbildung 8: Anzahl effektiver Allele ( $n_e$ ) und Verteilung der beobachteten Genotypen am Genort ADH-B in jedem untersuchten Herkunftsgebiet.....	95
8.2.9	Abbildung 9: Allele Verteilung am Genort ADH-B in den überfluteten Transekten (Ü) und nicht überfluteten Transekten (NÜ) der Rhein- und Elbeauen .....	95
8.2.10	Abbildung 10: Genotypen-Verteilung am Genort ADH-B in den überfluteten Transekten (Ü) und nicht überfluteten Transekten (NÜ) der Rhein- und Elbeauen .....	96
8.2.11	Abbildung 11: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für den Genort ADH-B und die sechs untersuchten Herkunftsgebiete.....	96
8.2.12	Abbildung 12: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für den Genort ADH-B und die 28 untersuchten Populationen.....	97
8.2.13	Abbildung 13: Ergebnis der Bonitierug der Stammhöhe (oben) und des Stammdurchmessers an der Stamm-Basis (unten) für alle untersuchte Herkunftsgebiete und beide Behandlungen .....	98
8.2.14	Abbildung 14: Allgemeiner Zustand der Pflanzen nach der vier Klassen-Bewertung für alle untersuchten Herkunftsgebiete und beide Behandlungen .....	98
8.2.15	Abbildung 15: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt.....	99
8.2.16	Abbildung 16: Verlauf der Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beide Überflutungsperiode des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt.....	99
8.2.17	Abbildung 17: Stomatäre Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt.....	100
8.2.18	Abbildung 18: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb.....	100
8.2.19	Abbildung 19: Verlauf der Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb.....	101
8.2.20	Abbildung 20: Stomatäre Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb.....	101
8.2.21	Abbildung 21: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald.....	102
8.2.22	Abbildung 22: Verlauf der Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald.....	102
8.2.23	Abbildung 23: Stomatäre Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald.....	103
8.2.24	Abbildung 24: Verlauf der relative Werte der Assimilation (links), Transpiration (Mitte) und stomatären Öffnung (rechts) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für jedes Herkunftsgebiet .....	103
8.2.25	Abbildung 25: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Herkunft Rastatt nach drei und zehn Tagen Behandlung .....	104
8.2.26	Abbildung 26: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Herkunft Schwäbisch Alb nach drei und zehn Tagen Behandlung und nach einer Woche „Erholungs-Phase“.....	105
8.2.27	Abbildung 27: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Art <i>F. angustifolia</i> nach drei und zehn Tagen Behandlung.....	106
8.2.28	Abbildung 28: Verlauf der relativen Werte der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (links), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und Stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (rechts) während des Versuchs 2005 für die drei untersuchten Pflanzengruppen (A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, Ang: <i>F. angustifolia</i> ) nach drei und zehn Tagen Behandlung .....	107
8.2.29	Abbildung 29: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute ( $(F_m' - F_m)/F_m'$ ) von jeweils zwei Eschen aus Rastatt (obere Linie) und von der Schwäbischen Alb (untere Linie) während 40 Tagen Überflutung.....	107
8.2.30	Abbildung 30: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute ( $(F_m' - F_m)/F_m'$ ) von nicht überfluteten (A1) und überfluteten Eschen (RA, BU, SW) bei $1000 \mu\text{mol}/\text{qm} \text{ s}$ PAR im Frühsommer 2004	108
8.2.31	Abbildung 31: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute ( $(F_m' - F_m)/F_m'$ ) von überfluteten Eschen (BU-135 und RA-17) und nicht überfluteten (RA-16 und BU-143) bei $1000 \mu\text{mol}/\text{qm} \text{ s}$ PAR in der Zeit von 08.09.04 zu 04.10.04.....	108

8.2.32	Abbildung 32: Verlauf der Nettoassimilationsrate (A) von Eschenblättern bei 1000 $\mu\text{mol}/\text{qm s}$ PAR in Herbst 2004.....	109
8.2.33	Abbildung 33: Verlauf der Nettoassimilationsrate (A) eines Eschenblattes bei 1000 $\mu\text{mol}/\text{qm s}$ PAR	109
8.2.34	Abbildung 34: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute $((F_m' - F_m)/F_m')$ bei überfluteten Eschen (U) und Kontrolle (NU) an den verschiedenen Messtagen (Dauer der Behandlung) bei 1000 $\mu\text{mol}/\text{qm s}$ PAR für jede Pflanzengruppe.....	110
8.2.35	Abbildung 35: Verlauf der relativen photochemischen Quantenausbeute $((F_m' - F_m)/F_m')$ an den verschiedenen Messtagen (Dauer der Behandlung) bei 1000 $\mu\text{mol}/\text{qm s}$ PAR für jede Pflanzengruppe	110
8.2.36	Abbildung 36: Gehalt am Blattpigment Chlorophyll a (Ca) ( $\mu\text{g}/\text{g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe	111
8.2.37	Abbildung 37: Gehalt am Blattpigment Chlorophyll b (Cb) ( $\mu\text{g}/\text{g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe	111
8.2.38	Abbildung 38: Gehalt am Blattpigment Cr ( $\mu\text{g}/\text{g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe.....	112
8.2.39	Abbildung 39: Verlauf der Saccharose-Konzentration im Phloem (links), ADH-Aktivität im Wurzelgewebe (Mitte) und Ethanol-Konzentration im Xylem (rechts), als Mittelwert aller drei Herkünfte unter überfluteten und Kontroll-Bedingungen während des Versuch 2004.....	112
8.2.40	Abbildung 40: Verlauf der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe der Herkünfte Rastatt (oben), Schwäbische Alb (mitte), und Schwarzwald (unten) unter der Behandlungen Kontrolle (NU) und überflutet (U) während beider Überflutungsperioden des Versuch 2004.....	113
8.2.41	Abbildung 41: Verlauf der relativen Werte der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für alle drei Herkunftsgebiete.....	114
8.2.42	Abbildung 42: Verlauf der ADH-Aktivität während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für alle drei Pflanzengruppen.....	114
8.2.43	Abbildung 43: Verlauf der relativen Werte der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe während der Überflutung 2005 für alle drei untersuchten Pflanzengruppen.....	115
8.2.44	Abbildung 44: Vergleich der ADH-Aktivität in den Wurzeln von <i>F. excelsior</i> L. an überfluteten (U) und nicht überfluteten (NU) Pflanzen nach 42 Tage Behandlung aus den Herkunftsgebieten Rastatt, Schwarzwald und Schwäbische Alb.....	115
8.2.45	Abbildung 45: Vergleich der ADH-Aktivität in den Wurzeln der Kontrollpflanzen der Arten <i>F. angustifolia</i> L. und <i>F. excelsior</i> L.....	115
8.2.46	Abbildung 46: Vergleich der ADH-Aktivität in Wurzeln von überfluteten Pflanzen (U) und Kontrollpflanzen (NU) der Art <i>F. angustifolia</i> L.....	115
8.2.47	Abbildung 47: Veränderung der Ethanolkonzentration im Xylem unter beiden Behandlungen (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) während des Versuchs 2004 bei allen drei untersuchten Pflanzengruppen.....	116
8.2.48	Abbildung 48: Veränderung der Ethanolkonzentration im Xylem während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) für alle drei untersuchten Pflanzengruppen.....	116
8.2.49	Abbildung 49: Veränderung der Zuckerkonzentration im Wurzelgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet) für die drei untersuchten Herkünfte.....	117
8.2.50	Abbildung 50: Veränderung der Zuckerkonzentration im Phloem während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet, NA: keine Daten vorhanden) für die drei untersuchten Herkünfte.....	118
8.2.51	Abbildung 51: Veränderung der Zuckerkonzentration im Blattgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet, NA: keine Daten vorhanden) für die drei untersuchten Herkünfte.....	119
8.2.52	Abbildung 52: Veränderung der Zuckerkonzentration in Wurzeln (oben), Phloem (mitte) und Blatt (unten) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen der Behandlung (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) für alle drei untersuchten Pflanzengruppen.....	120

8.2.53	Abbildung 53: Veränderung der relativen Zuckerkonzentration in Wurzeln (oben), Phloem (unten links) und Blatt (unten rechts) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für alle drei untersuchten Pflanzengruppen .....	121
8.2.54	Abbildung 54: Veränderung der relativen Werte der Zuckerkonzentration in Wurzel (oben links), Phloem (oben rechts) und Blatt (unten) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tage der Behandlung für alle drei untersuchten Pflanzengruppen .....	122
8.2.55	Abbildung 55: Unterschiede in der Anzahl von Signalen zwischen überfluteten und Kontrollpflanzen. ....	123
8.2.56	Abbildung 56: Licht-Off-Signale (links) und atypische „action Potential“ Signale (rechts) beobachtet an überfluteten Pflanzen .....	123
8.2.57	Abbildung 57: (a) Gekeimte Samen unter aerobischen (links) und anaerobischen Bedingungen (rechts). (b) Gekeimte Sämlinge in der Torf-Erde Mischung .....	124
8.2.58	Abbildung 58: Keimungsverlauf der drei Herkunftsgebiete über 48 Beobachtungstage .....	124
8.2.59	Abbildung 59: Aktueller Stand der Fläche in Rastatt (Forstbezirk Rastatt, Revier Bietigheim) nach zwei Hochwasserereignisse (September 2005 und Juli 2006) .....	125
8.2.60	Abbildung 60: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für die Mikrosatellite Genorte Femsat14, Femst18, Femsat12 und Femsat16 (links) und räumliche Verteilung der untersuchten Populationen (rechts) .....	126
8.2.61	Abbildung 61: : Genetische Strukturen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat4 und Femsat12 für die Herkunftsgebiete Rheintal, Schwäbische Alb (Schw. Alb), Schwarzwald und Vogesen .....	127
8.2.62	Abbildung 62: Genetische Strukturen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat18 und Femsat16 für die Herkunftsgebiete Rheintal, Schwäbische Alb (Schw. Alb), Schwarzwald und Vogesen .....	128
8.2.63	Abbildung 63: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für die Mikrosatellite Genorte Femsat14, Femst12 und Femsat16 für die sechs untersuchten Herkunftsgebiete .....	129
8.2.64	Abbildung 64: Verteilung der Haplotypen in Süddeutschland und Vogesen .....	129
8.2.65	Abbildung 65: Dendrogram basierend auf den genetischen Abständen (Nei, 1972) nach der UPGMA-Methode für die Einzelbaumnachkommen der Gesamtklonpopulation (Elternbäume) .....	130
8.2.66	Abbildung 66: Zymogramm für das Enzymsystem ADH im Kambium der Arten <i>F. angustifolia</i> L., <i>F. ornus</i> L., <i>F. excelsior</i> L., <i>F. americana</i> L. und <i>F. pennsylvannica</i> Marsh.....	130
8.2.67	Abbildung 67: Zymogramm für das Enzymsystem PGI im Kambium der Art <i>F. pennsylvannica</i> Marsh .....	130
8.2.68	Abbildung 68: Zymogramm für das Enzymsystem PGM im Kambium der Arten <i>F. angustifolia</i> L. und <i>F. excelsior</i> L. ....	131
8.2.69	Abbildung 69: Fragmentgröße der cpDNA-Mikrosatelliten ccmp3 und ccmp6 für <i>F. americana</i> L., <i>F. angustifolia</i> L., <i>F. ornus</i> L. und <i>F. excelsior</i> L. (Bayern, Rhein, Schw. Alb, Schwarzwald, Vogesen). 131	
8.2.70	Abbildung 70: Fragmentgröße der cpDNA-Mikrosatelliten ccmp7, ccmp10 und $\mu$ kk3 für <i>F. americana</i> L., <i>F. angustifolia</i> L., <i>F. ornus</i> L. und <i>F. excelsior</i> L. (Bayern, Rhein, Schw. Alb, Schwarzwald, Vogesen). 131	
8.3	Publikationen.....	132

## **Zusammenfassung**

Durch die Maßnahmen des Integrierten Rheinprogrammes kommen in Zukunft neue Standortsänderungen auf die Wälder in der Aue am Oberrhein zu. Nach bisherigen Überflutungsereignissen hat sich gezeigt, dass dort vor allem Eschen sehr unterschiedlich auf diese Standortsänderungen, insbesondere auf Überflutungen, reagieren. Da diese Art von großer Bedeutung für die Waldwirtschaft ist, soll abgeklärt werden, ob diverse überflutungstolerante Ökotypen vorhanden sind, um später auf standortgerechtes Saatgut zugreifen zu können.

Frühere Isoenzymanalysen haben ergeben, dass sich Eschenpopulationen in der Rheinaue von denen trockener Standorte vor allem bezüglich des Enzyms Alkohol-Dehydrogenase unterscheiden. Dieses Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der alkoholischen Gärung, die unter Sauerstoffmangel in der Wurzel der Pflanzen stattfindet. Hiermit stellt sich die Frage, ob bei der Esche in der Rheinaue eine Selektion überflutungstoleranter Ökotypen stattgefunden hat. Anhand einer Verknüpfung von weiteren genetischen Untersuchungen mit ökophysiologischen Experimenten wurde im Projekt überprüft, in wie weit die Unterschiede in der Überflutungstoleranz genetisch bedingt sind und ob sich genetische Marker (Isoenzym- und DNA-Marker) dazu eignen, die Herkünfte der in der Rheinaue gepflanzten Eschen zu bestimmen um überflutungstolerante Eschenvorkommen für die Gewinnung von angepasstem Vermehrungsgut zu identifizieren. Ferner wurden geographisch-genetische Variationsmuster zwischen Eschenvorkommen aus verschiedenen Herkunftsgebieten untersucht, um Vorschläge für Maßnahmen zur Erhaltung der genetischen Vielfalt bei der Esche formulieren zu können.

Die Esche hat sich bei den unterschiedlichen Untersuchungen als eine hoch anpassungsfähige Art gezeigt. Dennoch konnte die Existenz von Eschen-Ökotypen nicht sicher belegt werden. Aus diesem Grund wird empfohlen, sich weiter nach dem Forstvermehrungsgutgesetz und den Herkunftsempfehlungen für die Auswahl von qualifiziertem und genetisch geprüftem Vermehrungsgut zu richten.

## **Summary**

The Rhine Program and its related planned actions to protect properties and land against flooding will cause site changes in the future for the forests that thrive along the Rhine floodplain. After several flooding events, ash trees have proved to be able to react in very different ways against environmental fluctuations and specially against waterlogging.

Isozyme analyses have previously shown that ash populations along the Rhine bottomland differ from populations at sites with seasonally restricted water supply. The differences were especially conspicuous regarding the Enzyme Alcohol-Dehydrogenase. This enzyme plays an important role for the ethanolic fermentation that occurs in roots under anoxia. The question that arises is if at the Rhine floodplain a selection of flooding tolerant ecotypes have occurred. By means of a combination of further genetic investigations and several experiments at the physiology level will be attempt to find out if the flooding tolerance have a genetic base. Furthermore, it will be analyzed if genetic markers (Isoenzym- and DNA-Marker) are appropriated to characterize the provenances that are planted at the Rhine bottomland and to determinate flooding tolerant ash occurrences to delimitate appropriated places for the collection of adapted seed. Moreover, geographic-genetic variation pattern between ash stands from several provenances will be studied to find proposals for the conservation of the genetic diversity of ash populations.

Results have shown that ash trees possess a high capacity for adaptation to very different stand conditions. Nevertheless, it has not been possible to ensure the existence of ash ecotypes. Hence, it is recommended to follow the advice regarding the German seed provenances system as well as to plant qualified and genetic proved forest reproductive material.

## 1 Einleitung

Die Esche (*Fraxinus excelsior* L.) kann auf sehr feuchten wie auch auf sehr trockenen Standorten gedeihen: bei hohem Wasserangebot bachbegleitend und in Auwäldern, bei geringer Wasserversorgung in Seggen-Buchenwäldern, trockenen Eichenwäldern und an steilen Kalkfelsen (Hulden, 1941; Oberdorfer, 1992; Marigo *et al.*, 2000). Es stellt sich somit die Frage nach der genetischen Differenzierung in Ökotypen, die so genannten „Wassereschen“ und „Kalkeschen“ (Münch, 1925; Bovet, 1958; Weiser, 1964). Die Antwort drängt aufgrund der praktischen Konsequenzen, welche die Existenz von Eschen-Ökotypen für den Waldbesitzer haben würden.

Waldbau erfordert immer eine bedachte Wahl des Pflanzmaterials, welches bestens an die standörtlichen Bedingungen adaptiert sein sollte. Im Bereich der Überflutungsaue des Oberrheins lässt die Ausweisung von Polderflächen im Rahmen des Integrierten Rheinprogramms (Pfarr, 2000) zusammen mit denen vom letzten IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) angekündigten Änderungen der Klimabedingungen, zukünftig verstärkt Hochwasserereignisse erwarten. Hochwasserresistente Populationen wären demzufolge in diesen Flächen waldbaulich von großem Nutzen.

Die Esche ist eine der häufigsten Baumarten der europäischen Hartholzaue (Ward *et al.*, 2002). Außerdem ist diese Art nach der Buche und der Eiche eine der wichtigsten einheimischen Laubnutzholz- und eine der wertvollsten Edellaubbaumarten Deutschlands (Rittershofer, 2001). Aus diesem Grunde und um den Waldbesitzer bei der Wahl von geeignetem Pflanzen-Material zu unterstützen, werden erstmals im Projekt verschiedene Eschenherkünfte auf ihre Überflutungstoleranz hin untersucht.

Mit Hilfe biochemisch-genetischer Methoden wurde in einer Pilotstudie an der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg (FVA) untersucht, ob sich Eschen aus dem Bereich der unteren Hartholzaue, die bereits mehrere Hochwasser überstanden haben, von Eschen nicht überfluteter Standorte in ihren genetischen Strukturen unterscheiden (Hussendörfer, 2002).

Einer der am häufigsten benutzten biochemischen Marker sind die Isoenzyme. Dabei handelt es sich um Proteine, die von bestimmten Genorten (Loci) kodiert werden und die trotz geringer struktureller Unterschiede, die gleiche chemische Reaktion katalysieren können (Scandalios, 1969). Die verschiedenen Isoenzym-Varianten können mit Hilfe enzymatischer Farbreaktionen sichtbar gemacht werden und u. a. für populationsgenetische Studien und

Artbestimmungen eingesetzt werden (Vallejos, 1986; Millar *et al.*, 1992; Janßen, 1997; Starke, 1993). Die von Hussendörfer (2002) ermittelten Unterschiede in den genetischen Strukturen von Eschepopulationen anhand von Isoenzymanalysen waren so hoch, wie sie bisher bei keiner anderen Baumart in Baden-Württemberg bekannt sind.

Der größte Unterschied zwischen den Kollektiven wurde an einem Enzymgenort der Alkohol-Dehydrogenase (ADH) gefunden. Dieses glycolitische Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der Überflutungstoleranz von Waldbäumen, da es durch die alkoholische Gärung, die unter Anoxistress (Sauerstoffmangel-Stress) entsteht, an der anaerobischen Atmung beteiligt ist (Davies, 1980). Es katalysiert die Umwandlung von Acetaldehyd zu Ethanol und wurde mehrmals im Zusammenhang mit der Überflutungstoleranz von Pflanzen untersucht (Good *et al.*, 1987; Schmull *et al.*, 2000; Kolb *et al.*, 2002; Yamanoshita *et al.*, 2005), da Hypoxie und Anoxie zu den ersten Konsequenzen einer Überflutung zählen. Aufgrund der genetischen Befunde stellt sich die Frage, ob zwischen den unterschiedlichen Vorkommen der Genotypen am Enzymsystem ADH und der Anpassung an Überflutungen ein Zusammenhang besteht (Harry *et al.*, 2003).

Um diese ersten Ergebnisse zu überprüfen und zu erweitern, wurden im Projekt die Isoenzym-Analysen am Locus ADH an einer höheren Anzahl von Eschenpopulationen verschiedener Herkünfte durchgeführt.

Die Hypoxie, die während eines bestimmten Zeitraums einer Überschwemmung verursacht wird, löst in einer Pflanze verschiedene Reaktionen aus, welche sich auf mehreren Ebenen ihrer Vital-Funktionen bemerkbar machen.

So wird bei den meisten der untersuchten Arten die Photosynthese-Kapazität unter Anoxie reduziert (Davies *et al.*, 1986; Dreyer *et al.*, 1991; Gravatt *et al.*, 1998), was eine veränderte Chlorophyllfluoreszenz bewirkt (Karukstis, 1991; Bolhär-Nordenkampf *et al.*, 1993).

Wie schon erwähnt, spielt das Enzym ADH eine wichtige Rolle bei der alkoholischen Gärung unter Sauerstoffmangel. Dieses Enzym ist eines der so genannten „anaerobischen Proteine“ (ANP) und wird zusammen mit anderen ANP-Proteinen unter Sauerstoffmangel exprimiert (Ricard, *et al.*, 1994; Blom *et al.*, 1996; Vartapetian *et al.*, 1997).

Der Stoffwechsel der Kohlenhydrate wird ebenfalls durch anaerobe Bedingungen gestört; dabei wird u. a. der Transport der Kohlenhydrate vom Spross in die Wurzel gehemmt (Dongen *et al.*, 2003) und die Menge an löslichen Zuckern verringert (Perata *et al.*, 1996; Mustroph *et al.*, 2003).

Ethanol und Acetaldehyd sind weitere Metabolite, die häufig mit anaeroben Prozessen assoziiert werden (Davies, 1980; MacDonald *et al.*, 1991; Kreuzwieser *et al.*, 2001).

Weiterhin wird der Hormonhaushalt unter Sauerstoffmangel modifiziert, das Wachstum verschiedener Gewebe entweder angeregt oder verlangsamt, die Aufnahme von Mikronährstoffen verändert, sowie strukturelle Veränderungen ausgelöst (Armstrong *et al.*, 1994; Blom *et al.*, 1994; Kozłowski, 1997; Blom, 1999; Dennis *et al.*, 2000; Voeselek *et al.*, 2006).

Alle physiologischen Aktivitäten der Pflanzen bringen Veränderungen des elektrischen Potentials auf den Oberflächen der Pflanzen mit sich (Fromm *et al.*, 1993; Wagner, *et al.*, 2004). Diese elektrischen Signale sind Teil der inter- und intrazellulären Kommunikation der Pflanzen (Davies, 1987) und werden durch verschiedene Reize, Licht, Wärme, Kälte oder Verwundungen ausgelöst (Pickard, 1973; Gradmann *et al.*, 1980; Simons, 1981).

Dieses Vorhaben, die Analyse wichtiger Parameter des anaerobischen Pflanzenstoffwechsels, soll die genetische Analyse unterstützen und eine eventuelle Verknüpfung zwischen den genetischen Strukturen am Locus ADH und den physiologischen Reaktionen der verschiedenen Herkünfte zeigen. Dafür werden einige der erwähnten „physiologischen Stress-Symptome“ sowie die elektrischen Signale an verschiedenen Eschen-Herkünften in einem kontrollierten Überflutungsexperiment untersucht.

Die Anpassung einer Art an gegebene Umweltbedingungen beginnt bereits im Stadium der Keimung. Ein nachhaltiger Waldbau benötigt daher keimfähiges Saatgut, welches den Aufbau dauerhafter Populationen ermöglicht. Es ist bekannt, dass manche Baumarten unterschiedliche Keimungs-Ökotypen in Zusammenhang mit ihrer Position entlang bestimmter Umweltgradienten aufweisen (Habeck, 1958; Hook *et al.*, 1967; Stromberg *et al.*, 1990; Tremblay *et al.*, 1996). Deswegen wird in diesem Projekt überprüft, ob den potentiellen Eschen-Ökotypen auch unterschiedliche Keimungs-Ökotypen entsprechen.

Angenommen, die Eschen-Ökotypen würden sich tatsächlich in ihrer Überflutungstoleranz unterscheiden, so würde die Wahl der richtigen Herkunft zu einer Voraussetzung, um stabile Wälder in der Rheinaue zu etablieren und damit eine naturnahe und nachhaltige Forstwirtschaft zu ermöglichen. Deswegen ist es für die forstliche Praxis sehr

wichtig, über ausgewählte Saatguterntebestände und Samenplantagen gesicherter Herkunft zu verfügen.

Für eine sichere Identifizierung der Saatgutherkunft bieten sich heutzutage insbesondere bestimmte genetische Marker an; für die Untersuchung genetischer Variation innerhalb und zwischen Populationen wurden bisher bei der Esche in Europa erfolgreich cpDNA-Mikrosatelliten und nukleare-DNA-Mikrosatelliten als molekulare Marker eingesetzt (Heuertz *et al.*, 2001). Auch die Identifizierung verschiedener irischer Eschenklone erfolgte anhand von Mikrosatelliten-Loci (Lefort *et al.*, 2000).

Als Mikrosatelliten-DNA-Marker werden hochrepetitive DNA-Komponenten definiert, deren Anteil und DNA-Sequenz für einzelne Arten oder Gattungen charakteristisch ist. Sie sind sowohl im Zellkern als auch in den Chloroplasten lokalisiert und mit Hilfe der PCR-Methode nachweisbar (Braford, *et al.*, 1993; Glaubitz, *et al.*, 2000). Auf Grund ihrer hohen Variabilität und ihres unterschiedlichen Vererbungsmodus sowie ihrer Selektionsneutralität sind sie von großer Bedeutung für die Identifizierung verschiedener Herkunftsgebiete (Deguilloux *et al.*, 2004; Boys *et al.*, 2005). Für die Baumart Esche liegen solche Mikrosatelliten-Marker bereits vor (Lefort *et al.*, 1999; Lefort *et al.*, 2000), so dass sie in diesem Projekt sofort eingesetzt werden konnten um die verschiedenen Eschen Herkünfte zu charakterisieren.

In der erwähnte Samenplantagen werden in der Regel mindestens 20 Klone oder Sämlinge speziell ausgewählter, gradchaftiger und besonders wüchsiger Bäume zusammen ausgepflanzt, um hochwertiges Saatgut zu erzeugen. Klon-Samenplantagen werden aus vegetativ vermehrten Pfropflingen selektierter Plusbäume aufgebaut, Sämlings-Samenplantagen hingegen aus generativ vermehrten Nachkommen selektierter Plusbäume. Um die hohe Qualität des Saatgutes zu erhalten, muss eine Fremdbestäubung weitgehend ausgeschlossen werden. Samenplantagen werden so angelegt, dass sie sich möglichst vielfältig untereinander kreuzen können. Damit wird sichergestellt, dass die genetische Diversität von den Elternklonen an ihre Nachkommen weitergegeben wird. In diesem Vorhaben soll daher auch die genetische Variation in einer Eschen-Samenplantage mit Klonen aus dem Rheintal durch DNA-Marker überprüft werden und die Frage, in welchem Ausmaß diese Plantage die am Rhein vorhandene Diversität repräsentiert, geklärt werden.

*F. excelsior* ist nicht die einzige Art die an der Rheinaue zu finden ist; es wurde auch über die Existenz anderer Arten wie *F. angustifolia* Vahl., *F. americana* L., *F. pennsylvanica* Marsh. und *F. ornus* L. berichtet (Boeuf, 2003; Hebel *et al.*, eingereicht). Dabei weisen die

unterschiedlichen Arten auch unterschiedliche Überflutungstoleranzen auf (Hosner, 1958; Scheller, 1977; Kennedy, 2005; Glenz *et al.*, 2006; Vreugdenhil, 2006) In Fall von *F. excelsior* und *F. angustifolia* kann es außerdem zur Hybridisierungen kommen (Raquin *et al.*, 2002; Fernández-Manjarres, *et al.*, 2006) die die morphologische Charakterisierung der Arten erschweren und wahrscheinlich die Überflutungstoleranz modifizieren. Daher wurde in diesem Projekt ein Versuch unternommen, zu prüfen, ob die verschiedenen Eschenarten genetisch von einander zu trennen sind und ob die eventuelle Hybriden zwischen *F. excelsior* und *F. angustifolia* zu erkennen sind.

Um die erworbenen Kenntnisse über die Überflutungstoleranz der verschiedene Eschen-Herkünfte auf das Verhalten der Pflanzen in freier Natur übertragen zu können, wurde eine Nachkommenschaftsprüfungs-Reihe angelegt. Diese Art von Feld-Versuchen ist in der forstlichen Forschung praxisüblich (Jensen, 1993; Ruetz *et al.* 1998; Metzler, *et al.* 2002; Liesebach, *et al.*, 2005) und wurde für die Baumart Esche in Zusammenhang mit anderen Umwelt-Parametern bereits mehrfach begründet ((Kleinschmit *et al.* , 2001 ; Schönborn , 1967)).

Mit diesem Projekt startet ein Versuch, in dem die Reaktion verschiedener Eschen-Herkünfte auf zukünftige, stetig wiederkehrende Hochwasserereignisse langfristig beobachtet werden kann.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Prüfung der Überflutungstoleranz**

#### **2.1.1 Genetische Struktur am Enzym-Genort ADH**

Mit der Analyse und dem Vergleich der genetischen Struktur von insgesamt 28 Eschenpopulationen am Genort ADH-B des Enzymsystems Alkoholdehydrogenase (ADH E. C. 1.1.1.1) wurde untersucht, ob sich in der aktuellen Genotypenverteilung dieses Enzymsystems Spuren der natürlichen Selektion durch Überflutungsereignisse finden lassen. Insgesamt wurden 28 Populationen aus Baden-Württemberg, Sachsen Anhalt, Bayern und Frankreich untersucht ([Abb. 1a](#)). Zur Erfassung kleinräumiger genetischer Variationsmuster innerhalb der Rheinaue (Herkunftsgebiet Oberrheingraben) wurden in der freien Fließstrecke nördlich der Staustufe Iffezheim zwei Transekte angelegt, eines östlich (Altaue) (NÜ) und

eines westlich des ÜD (Überflutungsau) (Ü) ([Abb. 1b](#)). Die Auswahl der Transekte erfolgte unter der Annahme, dass in der Altaue (östlich des ÜD) und in der Überflutungsau (westlich des ÜD) unterschiedliche Überflutungsregime herrschen. In jedem Transekt wurden 7 Bestände in einem Abstand von ca. 100 km nach den folgenden Kriterien ausgesucht:

- a. standörtlich homogene Flächen,
- b. hoher Eschenanteil (>80%),
- c. möglichst hohes Bestandesalter (mindestens 60 Jahre alt)
- d. gleichmäßige geographische Verteilung auf die Transekte.

Als „Kontroll-Populationen“ (die nie überflutet wurden) dienten solche aus den folgenden trockenen Herkunftsgebieten: Süddeutsches Hügel- und Bergland (5 Populationen), Alpen und Alpenvorland (2 Populationen) und Vogesen (1 Population) ([Abb. 1a](#)).

Im August 2003 wurden in den jeweiligen Beständen von je 50 Bäumen, die mit einer Aluminiumplatte am Stamm markiert wurden, Zweige mit frischen Blättern geerntet und bis zur Protein-Extraktion bei 4 °C in Wasser gelagert.

In Januar 2006 erfolgte eine zusätzliche Beprobung an weiteren Eschenpopulationen. Ziel war die Überprüfung der genetischen Differenzierung von Eschen in überfluteten und nicht überfluteten Auenbereichen der Elbe, um damit die Untersuchungen 2003/2004 auf die genetische Struktur der Esche in der Rheinaue unterstützen zu können.

Die Beprobung wurde im Biosphärenreservat „Mittel-Elbe“ durchgeführt. Ein Teil des Untersuchungsgebiets („Lödderitzer Forst“) befindet sich in der Zone II (NSG) des Reservates. Die Untersuchungsgebiete „Diebziger Busch“ und „Wörlitzer Bereich“ gehörten zur Zone III (LSG). Als Untersuchungsbestände wurden Populationen ausgewählt, die älter als sechzig Jahre waren, so dass sie vermutlich mehrere Überflutungsereignisse erlebt haben und somit mit einer Anpassung an Anoxiestress zu rechnen ist. Um einen Vergleich zwischen überfluteten und nicht überfluteten Auenbereichen zu erhalten, wurden zwei Transekte über ca. 150 km angelegt. Drei Populationen wurden innerhalb des Überflutungsbereiches der Elbe und weitere drei Populationen außerhalb dieses Bereiches, im nicht-überfluteten Bereich, beprobt ([Abb. 1c](#)).

Das Material stammt von fünfzig Bäumen pro Population.

Alle beprobten Bäume wurden nach dem Zufallsprinzip ausgewählt und mit einer kleinen Aluminiumplatte am Stamm (auf einer Höhe von ca. 10 cm) markiert. Die

Untersuchungsgebiete mit ihren Herkunfts-Bezeichnungen und der Anzahl an beprobten Bäumen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Für die Enzym-Extraktion wurde ein Zentimeter Kambium-Streifen von frischen Eschen-Zweigen geraspelt und anschließend in Tris-HCl pH 8.0 Puffer homogenisiert (Schmidt *et al.* 2001). Die Elektrophorese fand auf einem horizontalen und kontinuierlichen Medium (tris-citric Puffer pH 7.5 and 11, 5 % w/vol Stärke-Gel) unter 190 mA während einer Dauer von 5.5 Stunden statt. Das Enzymsystem ADH wurde mittels der „Dehydrogenase-Reaktion“ (Schmidt *et al.* 2001) im Dunklen bei Raumtemperatur für 30 Minuten sichtbar gemacht. Die genetische Auswertung der so erzeugten Zymogramme basierte auf bekannten Strukturen, welche häufig bei anderen Pflanzenarten beobachtet wurden (Scandalios, 1969; Soltis *et al.*, 1989; Kephart, 1990).

Die genetische Diversität innerhalb der untersuchten Populationen wurde mit dem Computer-Programm POPGENE v. 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) ermittelt; folgende genetische Parameter wurden dabei berechnet: Anzahl beobachteter Allele ( $n_a$ ), Anzahl effektiver Allele ( $n_e$ ), beobachtete Heterozygotie ( $H_o$ ) und erwartete Heterozygotie ( $H_e$ ). Der Test auf Neutralität der genetischen Strukturen, der „Ewens-Watson's Test for Neutrality“, wurde ebenso mit Hilfe des obengenannten Programms durchgeführt. Die Genotypen-Frequenzen wurden mit der Software GSED (Gillet, 2002) berechnet. Zur Schätzung des Heterozygoten-Defizites bzw. -Überschusses wurde der „Wright's fixation index ( $F_{IS}$ )“ mit der Software GENEPOP v. 3.1 (Raymond *et al.*, 1995) nach der Formel von Weir and Cockerham (1984) kalkuliert. Die Signifikanz der Abweichung der beobachteten Heterozygotie von der Heterozygotie unter Hardy-Weinberg equilibrium wurde ebenfalls mit GENEPOP v. 3.1 berechnet. Von dieser Software wurde der Fisher Exact Test gewählt, um die Signifikanz der genetischen und genotypischen Differenzen zu testen.

Die hierarchische Struktur der genetischen Variation zwischen den Populationen wurde mittels einer „Analyse der Molekularvarianz“ (analysis of molecular variance- AMOVA) durchgeführt. Dafür wurde die Software ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) angewendet. Der Inzuchts-Koeffizient ( $F_{IT}$ ) wurde ermittelt sowie der Anteil der genetischen Variation zwischen den „gepoolten“ Populationen ( $F_{ST}$ ), zwischen den Populationen innerhalb der Transekte ( $F_{St}$ ) und zwischen den Transekten ( $F_{IT}$ ). Die nicht-parametrische Permutation Prozedur von Excoffier *et al.* (1992) wurde angewendet, um die Signifikanz der F-Statistik zu

testen. Die „Isolation durch Distanz“ wurde mit der Software SPAGeDi (Hardy *et al.*, 2002) berechnet. Dabei wurden “Ort-Permutationen” durchgeführt was gleichbedeutend zu einem Mantel Test für die paarweise Matrix von  $F_{ST}/(1 - F_{ST})$  und die Matrix des natürlichen Logarithmus der geographischen Distanzen ist. Die Dendrogramme wurden auf der Basis der genetische Abstände von Nei (Nei, 1972) und der Methode UPGMA mit Hilfe der Software MEGA v. 3.1 erzeugt (Kumar *et al.*, 2004).

### 2.1.2 Physiologische Untersuchungen

Um die Überflutungstoleranz der Esche zu bestimmen, wurde im Sommer 2004 zusätzlich zu den Isoenzmanalysen des Genortes ADH ein Experiment in einem Überschwemmungsbecken im Gewächshaus der FVA durchgeführt ([Abb. 2a](#)).

Im Überflutungsexperiment wurden je 80 2-jährige Eschensämlinge aus den Herkunftsgebieten Rastatt, Schwäbische Alb und Schwarzwald verwendet. Die Hälfte der Pflanzen wurde in einem Becken kontrolliert überflutet. Das Wasser im Becken wurde über eine Pumpe permanent umgewälzt, um homogene Bedingungen in allen Bereichen des Beckens zu erreichen. Das Wasser überstaute die Pflanzen bis 2 cm über den Wurzelhals ([Abb. 2aa](#)). Die andere Hälfte der Sämlinge wurde als Kontrolle neben dem Becken unter sonst gleichen Umweltbedingungen kultiviert.

Die Überflutungsphase von 14-tägiger Dauer begann am 18. Mai 2004. Die verschiedenen Messungen, sowie das Gewinnen des Materials für die Stoffwechseluntersuchungen wurden nach dem 1., 3., 7. und 14. Überflutungstag durchgeführt. Es wurden 5 Pflanzen pro Messtag und Herkunft bearbeitet ( $n = 5$ ). Danach wurde das Wasser für eine einwöchige Regenerationsphase abgepumpt. Nach dieser Pause wurden die Pflanzen erneut überflutet und die Messungen und Materialbeprobungen nach dem gleichen Zeitschema wiederholt. An den Kontrollpflanzen wurden entsprechend einen Tag vor den überfluteten Pflanzen die gleichen Parameter gemessen und das gleiche Material gewonnen.

In Sommer 2005 wurde das Experiment zur Überflutungstoleranz der Esche am Institut für Baumphysiologie der Universität für Forst- und Umweltwissenschaften wiederholt ([Abb. 2b](#)). Die Überflutungsphase von 10-tägiger Dauer begann am 15. Juni 2004. Dabei wurden einige Variationen vorgenommen.

Für dieses zweite Experiment wurden Pflanzen von *F. excelsior* L. der Herkunft Rastatt und

Schwäbische Alb sowie Pflanzen der Art *F. angustifolia* L. ausgewählt. Letztere sollten als Vergleich gegenüber den Ersteren dienen, da die Art in der Literatur (Marigo *et al.*, 2000; FRAXIGEN, 2005) als besonders überflutungstolerant angegeben wird.

Es wurden 30 Pflanzen pro Herkunft und 30 Pflanzen der Art *F. angustifolia* L. für das Experiment ausgewählt. Alle wurden in das klimatisierte Gewächshaus des Instituts gestellt. Die Raumtemperatur wurde auf 25 °C und das Licht auf 500 µE an der Spitze der Pflanzen eingestellt (Tageslänge 16 h). Nach einem Monat Anpassungszeit an die Gewächshausbedingungen wurde die Hälfte der Pflanzen 10 Tage lang 5 cm über dem Wurzelhals überflutet. Dabei befanden sich je fünf Pflanzen in einem Becken ([Abb. 2bb](#)).

Die verschiedenen Messungen sowie das Gewinnen des Materials für die Stoffwechseluntersuchungen wurden am 3. und 10. Tag der Überflutung durchgeführt. Die Kontrollpflanzen wurden immer einen Tag vor den überfluteten Pflanzen gemessen und beprobt.

Alle Ergebnisse wurden mit den Programmen R und SAS statistisch abgesichert. Um die relativen Werte der verschiedenen Parameter zu berechnen, wurde für jede Behandlung und jeden Messtag der Mittelwert aller Parameter der Kontrollpflanzen kalkuliert. Jeder Wert der überfluteten Pflanzen wurde dann durch den entsprechenden Mittelwert dividiert.

#### **2.1.2.1 Biometrische Charakterisierung des untersuchten Materials**

Bei allen untersuchten Pflanzen beider Behandlungen wurden Höhe und Stammdurchmesser (an der Basis des letzten Jahrestriebs sowie an der Basis des Stamms) erhoben. Der Zustand der Pflanzen 2004 wurde erfasst und einem bestimmten Vitalitäts-Niveau zugeordnet (1: gesund, 2: leicht geschädigt, 3: schwer geschädigt, 4: fast abgestorben oder gestorben).

#### **2.1.2.2 Messung der Photosynthese**

Im Jahr 2004 wurden Assimilation (Photosyntheserate, A) und Transpiration (Transpirationsrate, E) an jeweils drei verschiedenen Blättern pro Pflanze mit Hilfe eines tragbaren Porometers „LC-4 Leaf Gas Exchange Measuring Kit“ der Fa. ADC (BioScientific Ltd. Hoddeston, Herts, UK) gemessen. Die Messungen wurden an allen Pflanzen durchgeführt bevor das Material für die Stoffwechsellmessungen entnommen wurde.

2005 wurden Assimilation und Transpiration jeweils an drei verschiedenen Blättern jeder Pflanze mit dem Porometer „Portable Gas Exchange Fluorescence System GFS-3000“ der Fa. Walz (Effeltrich, Deutschland) gemessen. Dabei wurden zehn Pflanzen der Herkunft Rastatt ausgewählt, wovon die Hälfte überflutet wurde. Die andere Hälfte diente als Kontrolle. Es wurde immer an den selben Pflanzen am 3. und 10. Tag der Überflutung gemessen.

Die Assimilation (A) und Transpiration (E) wird jeweils durch die Differenz der CO<sub>2</sub>-Konzentration bzw. der Wasserdampfkonzentration in der Messküvette des Porometers (wo die Blätter angespannt werden) berechnet:

$$A(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) = \text{CO}_2(\text{ein}) - \text{CO}_2(\text{aus})$$

$$E(\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}) = \text{H}_2\text{O}(\text{ein}) - \text{H}_2\text{O}(\text{aus})$$

Mit:

(ein) Konzentration von CO<sub>2</sub> / H<sub>2</sub>O am Küvetteneingang

(aus) Konzentration von CO<sub>2</sub> / H<sub>2</sub>O am Küvettenausgang

Die Flussangaben beziehen sich auf m<sup>2</sup> Blattfläche.

Die Messung beruht auf der Infrarotabsorption von CO<sub>2</sub> bzw. Wasserdampf.

### 2.1.2.3 Messung der Chlorophyllfluoreszenz

In Sommer 2003 wurde ein Vorversuch unternommen, in dem die Chlorophyllfluoreszenz von zwei Pflanzen, einer aus Rastatt und einer von der Schwäbischen Alb nach 40 Tagen Überflutung untersucht wurde. Die Pflanzen wurden in einen mit Wasser gefüllten Behälter gestellt. Das Wasser reichte bis zur Mitte der Stämme. An den Blättern wurde nun periodisch die photochemische Effektivität [(Fm-F)/Fm] gemessen. Die Messungen wurden nach Einbruch der Dunkelheit (30 min. Dunkeladaptation) mit einem „MINIPAM“-Fluorometer der Fa. Walz (Effeltrich, Deutschland) durchgeführt.

Im Sommer 2004 wurde die Messung der Chlorophyllfluoreszenz an drei überfluteten und drei nicht überfluteten Pflanzen aller drei Herkünfte (Rastatt, Schwäbische Alb,

Schwarzwald) durchgeführt. Dabei wurden jeweils drei Blätter pro Pflanze untersucht. Das Experiment fand bei Tageslicht im Gewächshaus statt.

Bei dem Versuch in Herbst 2004 handelt es sich um eine Wiederholung des Versuchs 2003, allerdings unter den Bedingungen der vorwiegend kühlen Witterung in der Zeit vom 8. September bis 4. Oktober. Es wurden dabei 2 überflutete und 2 nicht überflutete Versuchspflanzen verglichen. Das Experiment fand unter freiem Himmel nach Einbruch der Dunkelheit statt. Hierbei kam neben dem MINIPAM-Fluorometer auch das Photosynthese-Messgerät Li-6400 zur Gaswechselformung (Assimilation) zum Einsatz. Da die photochemische Effektivität und die Assimilation zwei Aspekte desselben photosynthetischen Prozesses sind, wurde durch die Vergleichsmessungen versucht herauszufinden, inwieweit die Ergebnisse beider Methoden übereinstimmen.

In Versuch von 2005 wurde die Chlorophyllfluoreszenz an jeweils 10 Pflanzen (drei Blätter pro Pflanze) der Herkunft Rastatt und Schwäbische Alb und 10 Pflanzen der Art *F. angustifolia* gemessen. Dabei wurde immer eine Hälfte der Pflanzen überflutet und die andere als Kontrolle gehalten. Die Messung erfolgte am 3. und am 10. Tag der Überflutung (bzw. der Kontrolle) mit dem MINIPAM-Fluorometer.

Die Quantenausbeute (Y, yield), auch photochemische Effektivität genannt, des Photosystems II wurde aus der folgenden Formel abgeleitet:

$$Y = \frac{F_m - F}{F_m}$$

wobei „F“ die zum gegebenen Zeitpunkt an einem Blatt messbare Fluoreszenz und „Fm“ die durch einen im Messgerät erzeugten (Sättigungs-)Lichtpuls induzierte, maximal mögliche Fluoreszenz ist.

#### **2.1.2.4 Messung des Chlorophyllgehalts**

2005 wurde der Chlorophyllgehalt von allen Pflanzen des Experiments bestimmt. Dafür wurde Blattmaterial jeder Pflanze in flüssigen Stickstoff eingefroren.

Die Blattpigmente Chlorophyll a ( $C_a$ ), Chlorophyll b ( $C_b$ ) und Carotenoide  $C_r$  wurden aus 15 mg in flüssigem Stickstoff gemörsertem Blattmaterial mit einer 80%-igen Aceton-Lösung extrahiert. Das Extrakt wurde in Plastikkuvetten gefüllt. Die Lichtextinktion der Extraktlösungen wurde mit einem Spektrophotometer bei den Wellenlängen 663, 646 und 470 nm bestimmt. Der Chlorophyllgehalt wurde aus den folgenden Formeln nach Lichtenthaler (1987) abgeleitet:

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 12.21 * A_{663} - 2.81 * A_{646}$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 20.13 * A_{646} - 5.03 * A_{663}$$

$$C_r (\mu\text{g/ml}) = \frac{1000 * A_{470} - 3.27 * C_a - 104 * C_b}{229}$$

wobei A die Absorption bei der jeweiligen Wellenlänge ist. Die Ergebnisse wurden anschließend auf das Trockengewicht bezogen.

### 2.1.2.5 Messung der Acetaldehydsemission

2004 wurde die Acetaldehyd-Emission an allen Pflanzen des Experiments gemessen. Dafür wurde jeweils ein Fiederblatt pro Pflanze in ein Küvetten-System (Kreuzwiesser *et al.*, 1999) eingespannt. Die Küvetten waren dabei an eine LpDNPH („Low pressure“ 2,4-Dinitrophenylhydrazin) Kartusche (Sigma-Aldrich, Supelco, Bellenfonte, PA, USA) angeschlossen. Acetaldehyd wird dabei in der Matrix der Kartusche fixiert: Acetaldehyd reagiert mit DNPH zu einem Hydrazon-Derivat.

Die Hydrazon-Derivate wurden aus der Matrix der Kartusche mit 2 mL Acetonitril-Aliquoten eluiert und anschließend mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (Beckman, Munich, Germany) aufgetrennt. Hierfür wurde ein 100  $\mu\text{L}$  Aliquot des Eluates in das HPLC-System injiziert. Die Hydrazon-Derivate wurden mittels RP-HPLC (Reversed Phase-HPLC) auf einer Octa-Decyl-Silicium-Säule (C-18, 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4.6 mm, Ultrasphere™, Beckman, Munich, Germany) Getrennt. Als Elutionsmittel wurde ein

Acetonitril (ACN)/Wasser-Gradient verwendet (20-80% ACN, 0-20 min) bei einem Durchfluss von 1 mL/min.

Acetaldehyd-Hydrason erschien nach 16 min und wurde mit einem Diodenarray-Detektor (Module 168, Beckman, Munich, Germany) bei 354 nm quantifiziert.

In 2005 wurde die Acetaldehydemission an den Pflanzen der Gruppe Rastatt untersucht. Dafür wurden die LpDNPH-Kartuschen direkt an die Küvette des Walz-Porometers (s.o.) angeschlossen, wodurch parallel mit den Photosynthese-Messungen der Acetaldehyd fixiert wurde.

Der Acetaldehyd wurde wie in 2004 als Hydrason-Derivat aus der Matrix eluiert und wie beschrieben mittels HPLC quantifiziert.

## **2.1.2.6 Untersuchung der Alkoholdehydrogenase-Aktivität**

### **2.1.2.6.1 Enzymatische Bestimmung**

Im Sommer 2004 und 2005 wurden alle Pflanzen auf Alkoholdehydrogenase-Aktivität in Blatt- und Wurzelmaterial untersucht.

Dafür wurden Blatt- und Wurzel-Proben entnommen und anschließend bei 4 °C in 5 ml Homogenisierung-Puffer gemörsert (Kreuzwieser *et al.*, 1999). Der Proteinextrakt wurde unmittelbar photometrisch (Photometer der Fa. Beckman, Munich, Germany) untersucht.

Ethanol oxidiert in Gegenwart des Enzyms Alkoholdehydrogenase und des Koenzyms NAD zu Acetaldehyd:



Die NADH-Zunahme wird bei dieser Methode bei 340 nm photometrisch detektiert. Die Messung der Extinktionszunahme von NADH beruht auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Dabei ist die NADH-Konzentration „c“ (µmol) zu einem gegebenen Zeitpunkt durch folgende Formel gegeben:

$$c(\mu\text{M}) = \frac{\Delta E \cdot V}{d \cdot \epsilon \cdot v}$$

wobei V das Gesamtvolumen des Ansatzes (ml),  $\epsilon$  der Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm, d die Schichtdicke der Küvette (cm), v das Probevolumen (ml) und  $\Delta E$  die Netto-Extinktion (Extinktion abzüglich Nullwert) sind.

Die Extinktionabnahme ( $\mu\text{mol NADH oxidiert min}^{-1}$ ) entspricht der ADH-Aktivität (U). Die Aktivität wurde auf das Frischgewicht bezogen ( $\text{U g}^{-1} \text{Fg}$ ).

#### 2.1.2.6.2 Isoenzymatische Untersuchung

In den Jahren 2004 und 2005 wurden alle Pflanzen vor und nach der Überflutung auf das Enzym-System ADH (Alkoholdehydrogenase) isoenzymatisch untersucht. Dafür wurde Wurzelmaterial beprobt und wie in Abschnitt 3.1.1 beschrieben untersucht.

#### 2.1.2.7 Untersuchung der Ethanol-Transport

In 2004 und 2005 wurden alle Pflanzen der Experimente auf Ethanolgehalt im Xylemsaft untersucht.

Dafür wurde nach einem modifizierten Protokoll (Rennenberg *et al.*, 1996) der Druck-Technik von Scholander *et al.* (1965) Xylemsaft von jeder Pflanze mit Hilfe einer Scholander-Bombe gewonnen und anschließend in Stickstoff eingefroren.

Das Ethanolgehalt wurde photometrisch bestimmt. Hierfür wurden 100  $\mu\text{l}$  einer geeigneten Verdünnung in Einweg-Küvetten (Schichtdicke 1 cm) gegeben und mit Hilfe des „Ethanol-enzymatischer UV-Test“ von Boehringer (R-Biopharm, Mannheim, Germany) analysiert.

Bei dieser Methode wird Ethanol in Gegenwart des Enzyms Alkoholdehydrogenase und des Coenzym NAD zu Acetaldehyd oxidiert:



Das dabei entstehende NADH wird bei dieser Methode bei 340 nm photometrisch bestimmt. Die Messung der Extinktionszunahme von NADH beruht auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Die Ethanol-Konzentration „c“ ergibt sich dabei aus der Formel:

$$c(\text{g Ethanol/l Probelösung}) = \frac{V \cdot MG}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 2 \cdot 1000} \cdot \Delta E$$

wobei V das Testvolumen (ml) ist, MG das Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz (g/mol),  $\epsilon$  das Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm, d die Schichtdicke (cm), v das Probevolumen (ml) und  $\Delta E$  die Extinktionsänderung die wie folgt berechnet wird:

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Leertüte}}$$

Wobei:

$E_1$  die Extinktion vor der Zugabe von ADH ist.

$E_2$  die Extinktion nach Zugabe von ADH und Ablauf der Reaktion (10 min) ist.

### 2.1.2.8 Untersuchung von Blatt-, Wurzel- und Phloemzuckern

In Sommer 2004 und 2005 wurde die Konzentration von löslichen Kohlenhydraten (Glukose, Fruktose, Sacharose, Inositol und Mannitol) in Blatt- und Wurzelgewebe sowie im Phloemsaft untersucht.

Dafür wurden Blatt- und Wurzelproben entnommen und unmittelbar in flüssigem Stickstoff eingefroren. Phloemsaft-Exudat wurde ebenso gewonnen: Rindenstücke wurden vorsichtig mit einer Klinge vom Stamm entfernt und in Reaktionsgefäße mit 20 mM EDTA pH 7,0 gelegt. Die Exudation fand 5 h auf Eis (dunkel) statt.

Die Blatt- und Wurzelproben wurden in flüssigem Stickstoff gemörsert. Die Extraktion erfolgte aus 50  $\mu\text{g}$  gemörsertem Material in 1 ml destilliertem Wasser. Für die Analyse der

Phloem-Zucker, wurden 20 mg von PVP zusammen mit 25 µl der Phloem-Exudate in 975 µl destiliertem Wasser vorbereitet.

Der Gehalt an löslichen Kohlenhydraten wurde mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) gemessen.

Mannitol war der erste Zucker der ausgeschieden wurde (nach ca. 2 min.), gefolgt von Glukose (5 min.), Fruktose (6 min.) und Saccharose (11 min.).

### **2.1.2.9 Elektrophysiologie-Untersuchungen**

2004 wurden Elektropotenzialmessungen an vier Eschen-Pflanzen durchgeführt. Dafür wurden die Herkünfte Rastatt und Schwäbische Alb ausgewählt.

In diesem Experiment wurden die Änderungen des elektrischen Oberflächenpotenzials der Pflanzen aufgezeichnet.

Die Pflanzen wurden unter zwei Behandlungen gemessen. Bei der überfluteten Behandlung wurden die Pflanzen 5 cm über dem Wurzelhals für zwei Wochen überflutet. Die elektrophysiologischen Messungen erfolgten während dieser Zeit ohne Unterbrechung. Anschließend wurden die Pflanzen aus dem Wasser geholt und für eine weitere Woche gemessen. Die entsprechende Kontrolle wurde parallel dazu gemessen.

Für die Messung wurden vier Platin-Elektroden jeweils an der Oberfläche eines Blattes angebracht. Diese bipolaren Oberflächenelektroden wurden von Lehner (2002) entwickelt und ermöglichen eine verletzungsfreie elektrische Ableitung bei gleichzeitig geringsten mechanischen Belastungen der Pflanze.

Wie in Lehner (2002) beschrieben, erfolgt die Kopplung der aus den positiven und negativen Polen der Elektroden stammenden Signale in den nachgeschalteten Differenzverstärkern. Dort wird aus der Differenz der beiden Eingangssignale die elektrische Potenzialänderung (mV) berechnet, die zwischen den beiden Kontaktelektroden im Verhältnis zum Bezugspotential besteht. Nach der 10-fachen Verstärkung des Eingangssignals wird dieses über metallgeschirmte Koaxkabel (RG 58) der A/D-Wandlerkarte (32-Kanal 32 bit) (BMC Messsysteme, Olching, Germany) zugeführt. In den nachgeschalteten Rechneinheiten

erfolgt die weitere Datenverarbeitung mit Hilfe der Software Chart (AD instruments, Spechbach, Germany) und NextView/NT (BMC Messsysteme, Olching, Germany).

### 2.1.3 Keimungsexperiment

Im September 2004 wurde ein Keimversuch mit Saatgut von drei Populationen der Herkünfte Rheintal (Fbz. Rastatt), Schwäbische Alb und Schwarzwald begonnen, um zu prüfen, ob Unterschiede bei der Keimfähigkeit unter Wasserstress bzw. unter normalen Bedingungen bestehen. Die Standortbedingungen am Ort der Saatgutbeprobung sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Da die Saatgutquelle einen Einfluss auf die Ergebnisse haben kann (Preece *et al.*, 1995), wurden die Früchte in jeder Population von drei gut verteilten Mutterbäumen gesammelt. Die Eschensamen unterliegen mehrfacher Keimhemmung, die nach dem Klassifikationssystem von Baskin *et al.* (2004) zur Gruppe der „morphophysiologischen Keimhemmung“ (MP-dormancy) zugeordnet werden kann (Finch-Savage *et al.*, 2006). Um die Keimung anzuregen, wurde das Saatgut daher nach Suszka *et al.* (1996) stratifiziert: 200 Samen pro Baum wurden in eine Torf-Erde-Mischung (1:1) in einem flachen Behälter eingebettet ([Abb. 3](#)) und 16 Wochen bei 20 °C plus 16 Wochen bei 3 °C in einem Brutschrank eingelagert. Während dieses Zeitraums wurden die Behälter alle zwei Wochen angefeuchtet und einmal im Monat mit einem systemischen Fungizid gesprüht.

Nach der Stratifizierungsphase wurden die Samen am 13.05.05 in Petrischalen gestellt. Pro Herkunft und Behandlung (überflutet, nicht überflutet) wurden drei Wiederholungen mit je 50 Samen pro Wiederholung vorbereitet. Die Samen wurden so überflutet, dass sie 4 cm hoch mit Wasser bedeckt waren. Die nicht überfluteten Samen wurden auf einem Filterpapier auf Bentonit gehalten, regelmäßig angefeuchtet und mit einer Glasabdeckung vor Austrocknung geschützt. Das Saatgut wurde bei wechselnden Temperaturen (5 °C bei 14 Stunden Dunkelheit und 15 °C bei 10 Stunden Licht) (Suszka *et al.*, 1996) in einem Brutschrank zur Keimung gebracht.

Während der ersten 22 Tage wurden die gekeimten Samen an jedem fünften Tag gezählt. Danach wurde in größeren Abständen gezählt. An jedem Zähltag wurde die Keimungsprozent (GP) sowie das „Keimungswert“ (GV) berechnet und der Mittelwert der drei Mutterbäume jeder Herkunft und pro Behandlung kalkuliert. Sobald die Spitze der Wurzel zu sehen war,

wurde der Same als gekeimt gezählt (Van de Walle, 1987). Der Keimvorgang wurde 48 Tage beobachtet.

Die signifikanten Unterschiede zwischen Behandlungen innerhalb jeder Herkunft und für jeden Zähltag wurden an der arcsin quadrat Wurzel transformierten GP mittels T-Test geprüft. Das "Keimungswert" (GV) ist ein Parameter welcher die Vollständigkeit der Keimung mit Geschwindigkeit kombiniert. Es wurde nach Djavanshir *et al.* (1976) berechnet. Nach diesen Autoren ist

$$GV = \frac{\sum DGS}{N} * GP * 10$$

wobei DGS die tägliche Keimungsgeschwindigkeit (daily germination speed) ist, berechnet durch die Division des kumulativen Keimungsprozents durch die Tageanzahl seit dem Anfang des Experiments, GP das Keimungsprozent am Ende des Experiments (germination percentage) und N die Anzahl der Zählungen sind. Um zu testen, welchen Einfluss die Faktoren Herkunft, Behandlung und die Wechselwirkung dieser Faktoren auf die Keimungsprozente haben, wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) der GV- Werte durchgeführt. Für diese Analyse wurde die GLM ANOVA Prozedur des SAS statistischer Software angewendet (SAS, 2000).

#### **2.1.4 Nachkommenschaftsprüfung**

Bei diesem Versuch sollen langfristig familien- und provenienzspezifische Unterschiede mehrerer Eschen-Nachkommenschaften bezüglich ihrer Überflutungstoleranz untersucht werden und somit die Ergebnisse der bereits unter kontrollierten Bedingungen durchgeführten physiologischen Überflutungstoleranz-Versuche unterstützen. Es wurden insgesamt 5 Versuchsflächen im Bereich der Überflutungsauae angelegt (LRA Emmendingen, Weisweil; LRA Ortenaukreis, Schwanau; LRA Rastatt, Wintersdorf und Bietigheim; LRA Karlsruhe, Gemeindewald Phillippsburg). Alle 5 Flächen beinhalten Nachkommenschaften von Einzelbäumen aus der Rheinaue (Kommunalwald Wintersdorf) sowie Bestandesabsaaten von nicht überfluteten Provenienzen (Schwäbische Alb, Schwarzwald-Hochlagen, Vogesen-

Hochlagen). Sie wurden im Versuchsdesign der Blockanlage mit dreifacher Wiederholung angelegt ([Abb. 4](#), [Tab. 3](#)).

Die Pflanzen werden regelmäßig nach Überflutungen auf Schäden bonitiert. Dabei werden Schadensmerkmale wie Blattabwurf, Blattverbrennungen, Risse am Stamm und Absterben der Haupttriebachse berücksichtigt. Die Vitalitätsbonitur unterscheidet drei Niveaus, die den Schadstufen „abgestorben“, „kränkelnd“ und „vital“ entsprechen. Die Bildung neuer Triebe und das Wachstum werden ebenfalls in regelmäßigen Abständen und insbesondere nach Hochwasser-Ereignissen aufgenommen.

Die Auswertung der Wachstums-Erhebung wurde mit dem statistischen Programm SAS 8.1 durchgeführt. Die negativen Wachstumswerte wurden nicht berücksichtigt, da diese auf kleinräumige Standortunterschiede der Bodenhöhe oder Messfehler zurückzuführen sein können. Alle Pflanzen mit Symptomen von Wildverbiss wurden ebenso aus dem Datensatz entfernt. Da sich unterschiedliche Anzahlen von Pflanzen je nach Klassen (Parzellen oder Blöcke) im Datensatz ergeben, wird die Varianzanalyse mit dem für unbalancierte Datensätze besser geeignetem SAS-Prozedur GLM-Verfahren (Generalized Linear Model) berechnet.

## **2.2 Herkunftsidentifizierung**

Die genetische Variation auf DNA-Ebene kann anhand von verschiedenen DNA-Markern untersucht werden. Zur Herkunftsidentifizierung werden am besten sowohl nukleare Marker (biparental vererbt) als auch cpDNA-Marker (maternal vererbt) eingesetzt. Diese DNA-Marker sind auf Grund ihres Vererbungsmodus, ihrer hohen Variabilität und Selektionsneutralität für die Feststellung verschiedener Herkünfte am besten geeignet.

Da bei den meisten bisher untersuchten Angiospermen die cpDNA-Marker maternal vererbt werden (Sears, 1980; Chiu *et al.*, 1988), erlauben sie mit großer Wahrscheinlichkeit die Identifizierung von Herkünften. Auf Grund der relativ geringen Variation ist die Identifizierung von Herkünften und Saatgut-Importen allerdings nur großräumig möglich. Dies gilt auch für die Überprüfung der Identität einzelner Bäume in gepflanzten Populationen. AFLP-Marker (Amplified Fragment Length Polymorphisms) wurden zur Frage der Herkunftsidentifizierung etabliert und bei der Esche zum ersten Mal eingesetzt. Als AFLPs

werden DNA-Sequenzen bezeichnet, die nach der Restriktion mit Restriktions-Endonukleasen auf das ganze Genom verteilt sind.

Die Herkunftsidentifizierung erfolgte durch die Untersuchung geographisch-genetischer Variationsmuster von den oben beschriebene Eschenpopulationen aus Baden-Württemberg, Sachsen-Anhalt, Bayern und den Vogesen (siehe Punkt 3.1.1). Es wurden jeweils Eschen aus zugelassenen Saatguterntebeständen der 6 verschiedenen Herkunftsgebiete mittels DNA-Analyse untersucht.

### 2.2.1 Nukleare-Mikrosatelliten

Die DNA-Extraktion von Bäumen der verschiedenen Herkunft erfolgte von gefriergetrockneten, frischen oder eingefrorenen Blättern nach dem Protokoll von Qiagen (QIAGEN Plant DNAsy Mini Kit). Die DNA wurde fluorometrisch quantifiziert (DyNA Quant 200, Hoefer Pharmacia Biotec) oder nach einer visuellen Quantifizierung auf Agarose-Gel auf 2ng/µl verdünnt.

Mittels der PCR-Reaktion 4 nuklearer Mikrosatelliten-Loci wurden untersucht: Femsat14, Femsat112, Femsat116 und Femsat111 (Lefort *et al.*, 1999) ([Tabelle 4](#)). Die PCR-Reaktionen wurden mit Fluorescent-gelabelten Primern in 25 µl Gesamtvolumen mit 1x Reaktionspuffer (Eppendorf), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM dNTP; 0.2µM je Primer, 0.8 Unit HotMaster Taq Polymerase (Eppendorf) und 5-50 ng Template-DNA durchgeführt. Nach Initialdenaturierung (2 Min bei 94°C) erfolgte die Amplifikation in 35 Zyklen mit 94°C für 1 Min, 52°C (Femsat111, Femsat112, Femsat116) oder 55°C (Femsat14) für 1 Min und 72°C für 1 Min. Die Schlusselongation erfolgte bei 72°C für 10 Min. Die PCR-Reaktionen wurden mit einem Gradienten-PCR-Gerät (MJ-Research PTC-200) durchgeführt. Die Qualität der PCR-Produkte wurde in einem 1.5% Agarose-Gel überprüft.

Die Fragmentgröße der amplifizierten DNA-Sequenzen wurde mittels eines automatischen DNA-Sequenzers (ABI-3100 Avant) analysiert. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe der Software GeneScan der Firma Applied Biosystems.

Die genetische Diversität innerhalb der untersuchten Populationen wurde mit dem Computer-Programm POPGENE v. 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) ermittelt. Dabei wurden folgende genetische Parameter berechnet: Anzahl beobachteter Allele ( $n_a$ ), Anzahl effektiver Allele ( $n_e$ ), Anzahl

Allele pro Locus (A/L), beobachtete Heterozygotie ( $H_o$ ) und erwartete Heterozygotie ( $H_e$ ). Zur Schätzung des Heterozygoten-Defizites bzw. -Überschusses wurde der „Wright’s fixation index ( $F_{IS}$ )“ benutzt. Zusätzlich wurde die genetische Differenzierung ( $F_{ST}$ ) (Wright, 1978) und der Genfluss zwischen den Populationen ( $N_m$ ) (Slatkin *et al.*, 1989) kalkuliert.

Als „Privatallele“ werden die Allele bezeichnet, die nur in einer Population vorkommen und in allen anderen nicht vorhanden sind. Diese Allele, falls vorhanden, werden für die Differenzierung der Populationen benutzt.

### 2.2.2 Chloroplasten-Mikrosatelliten

Die DNA-Extraktion von Bäumen der verschiedenen Herkunft erfolgte wie bei den nuklearen Mikrosatelliten von gefriergetrockneten, frischen oder eingefrorenen Blättern nach dem Protokoll von Qiagen (QIAGEN Plant DNAsy Mini Kit).

Mittels der PCR-Reaktion wurden 5 cpDNA-Mikrosatelliten untersucht: ccmp3, ccmp6, ccmp7, ccmp10 und  $\mu$ kk3 (Deguilloux *et al.*, 2003) ([Tabelle 4](#)). Die PCR-Reaktionen erfolgten wie folgend: 2 min. Initialdenaturierung bei 94 °C, 30 Zyklen Amplifikation: 1 min. bei 94 °C, 1 min. bei 57 °C und 1 min. bei 72 °C. Schlusselongation erfolgte bei 72 °C für 10 min..

Die Fragmentgröße der amplifizierten DNA-Sequenzen wurde wie in Abschnitt 3.3.1 geschrieben durchgeführt.

## 2.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen

Die Eschen-Samenplantage in Zähringen bei Freiburg wurde 1975 als Klon-Samenplantage angelegt. Alle Klone bzw. Ausgangsplusbäume wurden im Herkunftsgebiet 81105, Oberrheingraben selektiert. Die Klone stammen aus den Auewäldern unmittelbar im Überflutungsbereich des Rheins, aus der angrenzenden Hartholzau außerhalb des Überflutungsbereiches sowie aus der Vorbergzone. Die Samenplantage enthält 64 Klone mit verschiedener Anzahl von Ramets pro Klon (insgesamt 500 Bäume).

Die DNA wurde aus 10-20 mg gefriergetrockneten Blättern oder Samen mit Dneasy Plant Mini Kit extrahiert (Qiagen, Hilden).

Mit Hilfe der PCR-Reaktion wurden die vier nuklearen Mikrosatelliten-Loci Femsat14, Femsat12, Femsat16 und Femsat11 wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben untersucht.

Folgende genetische Parameter wurden mit dem Computer-Programm POPGENE v. 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) berechnet: Anzahl beobachteter Allele ( $n_a$ ), Anzahl effektiver Allele ( $n_e$ ), beobachtete Heterozygotie ( $H_o$ ) und erwartete Heterozygotie ( $H_e$ ). Zusätzlich wurde die genetische Differenzierung ( $F_{ST}$ ) zwischen den Kollektiven berechnet (Wright, 1978). Die genetische Distanz zwischen den Klonen wurde nach Nei (1972) berechnet und mittels der UPGMA-Methode wurde ein Dendrogramm mit Hilfe der Software Popgene 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) erzeugt.

## 2.4 Art-Bestimmung

Bei der Beerntung der Bestände in den Rhein- und Elbeauen wurden neben *F. excelsior* auch weitere *Fraxinus*-Arten gefunden. Anhand der morphologischen Merkmale konnten mehrere Proben mit hoher Wahrscheinlichkeit den Arten *F. angustifolia*, *F. ornus*, *F. americana* und *F. pennsylvanica* zugeordnet werden. Um diese morphologische Klassifizierung zu überprüfen, wurden biochemische und molekulare Marker angewendet.

### 2.4.1 Biochemische Analyse

Referenz-Proben von *F. angustifolia*, *F. ornus*, *F. americana* und *F. pennsylvanica* wurden aus der Esche-Klon-Plantage des forstliches Versuchsgeländes „Liliental“ der FVA gewonnen. Die Isoenzymanalyse erfolgte wie schon in Abschnitt 3.1.1 beschrieben an zehn Enzymsystemen, die in [Tabelle 5](#) aufgelistet sind.

## 2.4.2 Molekularanalyse

Für die Artbestimmung mittels DNA-Analyse wurden frische Blätter von jeweils 26 potentiellen *F. angustifolia*-, 12 *F. ornus*- und 4 *F. americana*-Individuen beerntet.

Folgende Kern-Mikrosatelliten-Loci wurden verwendet: Femsat14, Femsat18, Femsat12 und Femsat16 (Brachet *et al.*, 1999; Lefort *et al.*, 1999; Lefort *et al.*, 2000). Folgende Chloroplasten-Mikrosatelliten wurden untersucht: ccmp3, ccmp6, ccmp7, ccmp10 und  $\mu$ kk3 (Deguilloux *et al.*, 2003; Weising *et al.*, 1999).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Prüfung der Überflutungstoleranz

#### 3.1.1 Genetische Struktur am Enzym-Genort ADH

Die Isoenzymanalyse des Isoenzym-Systems ADH zeigte zwei Aktivitätszonen, die als Genort ADH-A und Genort ADH-B ([Abb. 5](#)) benannt wurden. Die genetischen Strukturen wurden nur am Locus ADH-B untersucht, da lediglich an diesem Genort genetische Unterschiede beobachtet wurden (Hussendorfer, 2002).

Genort ADH-B besitzt drei Allele, bezeichnet als 3, 4 und 5. Nr 5 wurde nur in zwei Populationen der Elb-Aue beobachtet, dort mit einer Häufigkeit unter 5 %.

Ein leichter räumlicher Trend konnte zwischen den Frequenzen der Allele 3 und 4 beobachtet werden: die Präsenz des Allels 3 in den südlichen Regionen nahm in westlicher Richtung bis zum Rhein zu, während die Frequenz des Allels 4 abnahm ([Abb. 6](#)). Die Frequenzen der Allele für alle untersuchten Herkunftsgebiete sind in [Abbildung 7](#) dargestellt.

Aus der Kombination der Allele ergaben sich die vier unterschiedlichen Genotypen 33, 34, 44 und 55. Die Genotypfrequenzen für jedes Untersuchungsgebiet und die Anzahl effektiver Allele ist in [Abbildung 8](#) dargestellt.

Die Verteilung der Allele in den Transekten beider untersuchten Auen ist in [Abbildung 9](#) dargestellt. In beiden Auen waren die Frequenzen der Genotypen 33 und 34 auf der überfluteten (Ü) Seite des Dammes niedriger als im nicht überfluteten Bereich (NÜ) ([Tab. 6](#), [Abb. 10](#)).

Beide Transekte entlang des Rhein-Dammes waren in der Allel- und Genotypenverteilung signifikant unterschiedlich ( $P < 0.05$ ). Die signifikanten Unterschiede sind mit den Analyseergebnissen von Fläche A (Ü) zu begründen. Wenn Fläche A aus der Gesamtberechnung herausgenommen wird, sind die Unterschied zwischen den Transekten nicht mehr signifikant war ( $P = 0.288$ ).

Beide Transekte entlang des Elbe-Dammes waren bei der Allel- als auch bei der Genotypenverteilung signifikant unterschiedlich, auch wenn das Allel 5 bei der Berechnung nicht einbezogen wurde ( $P < 0.001$ ). Alle „NÜ“-Flächen in Lödderitz unterschieden sich signifikant von den „Ü“-Flächen in Wörlitz, jedoch nicht von der „Ü“-Fläche in Lödderitz. Dennoch konnte zwischen den sechs Populationen keine IBD beobachtet werden. Nachdem die zwei Wörlitzer Populationen aus den Berechnungen herausgenommen wurden, waren die Transekte nicht mehr signifikant unterschiedlich.

[Tabelle 7](#) zeigt einen Vergleich der hierarchischen F-Statistiken, berechnet für den Genort ADH-B und die Mikrosatelliten-Genorte (siehe Abschnitt 4.3.1) für beide Auen.

Die Summe der Quadrate der Allel-Frequenzen (F) am Genort ADH-B in jedem der untersuchten Transekte, berechnet mit der "Ewens-Watson's Test" für Neutralität, lag innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls der „F-Null-Verteilung“.

Die UPGMA-Analyse der sechs untersuchten Herkunftsgebiete ergab zwei Gruppen. Eine umfasste die Rheinaue und die Vogesen, die andere umfasste die restlichen Regionen ([Abb. 11](#)). Der genetische Abstand zwischen den Regionen war  $F_{ST} = 0.084$  ( $P < 0.001$ ).

Die UPGMA-Analyse der 28 untersuchten Populationen zeigt, dass die überfluteten Populationen innerhalb jeder Aue dazu tendieren, zusammen eine Gruppe zu bilden. Die nicht überfluteten tendieren ebenso dazu eine Gruppe zu bilden. ([Abb. 12](#)).

### 3.1.2 Physiologische Untersuchungen

#### 3.1.2.1 Biometrische Charakterisierung des untersuchten Materials

Bei der Aufnahme 2004 war die Höhe der Kontrollpflanzen nicht signifikant unterschiedlich zu der Höhe der überfluteten Pflanzen. Bei den Pflanzen der Herkunft Rastatt, war der Sprossdurchmesser über dem Wurzelhals der überfluteten Pflanzen signifikant erhöht ([Abb. 13](#)). Der Durchmesser an der Basis des letzten Jahrestriebs war ebenfalls signifikant erhöht (Daten nicht gezeigt).

Die Erfassung des Zustandes der Pflanzen mit Hilfe des Vier-Klassen-Systems zeigte, dass die Pflanzen der Herkunft Schwäbische Alb an der Überflutung litten, während die Pflanzen der Herkunft Rastatt, keine große Schädigung zeigten. Die überfluteten Pflanzen der Herkunft „Schwarzwald“ zeigten vergleichbare Schäden wie die überfluteten Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“. Dennoch können die Schäden nicht gesichert mit dem Einfluss der Überflutung begründet werden, da der Zustand der nicht überfluteten Schwarzwald-Kontrollpflanzen auch vergleichbare Schäden aufwies ([Abb. 14](#)).

#### 3.1.2.2 Messung der Photosynthese

Bei den Aufnahmen 2004 konnte ein deutlicher Unterschied zwischen den zwei Behandlungsperioden festgestellt werden. Die Photosynthesewerte der überfluteten Pflanzen als auch der Kontrollpflanzen waren für alle untersuchten Herkunftsgebiete in der ersten Periode der Behandlung deutlich höher als in der zweiten. Das Herkunftsgebiet Rastatt zeigte im Vergleich zu den Kontrollpflanzen nach einem Tag der Überflutung ( $P = 0.095$ ) einen signifikant höheren Assimilationswert ([Abb. 15](#)). Im Vergleich zur Kontrolle nach dem 14. Tag der Überflutung war die Transpiration signifikant niedriger ([Abb. 16](#)). Beim Messwert der stomatären Öffnung wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt ([Abb. 17](#)).

Die Herkunft „Schwäbische Alb“ zeigte einen signifikant erhöhten Assimilationswert nach einem Tag Überflutung und einen signifikant niedrigeren Wert nach dem 14. Tag der Überflutung ([Abb. 18](#)). Während der zweiten Behandlungsperiode war der Assimilationswert bereits nach dem 3. Tag der Überflutung signifikant niedriger. Die Transpiration war nach der „Erholungsphase“ (Tag 14+7) und nach dem 14. Tag der Überflutung in der zweiten Behandlungsperiode ([Abb. 19](#)) signifikant niedriger. Bei dem Messwert der Stomatären Öffnung konnte ein signifikanter Einfluss der Überflutung nach der „Erholungsphase“ nachgewiesen werden ([Abb. 20](#)).

Die Herkunft „Schwarzwald“ zeigte einen signifikant erhöhten Assimilationswert nach dem ersten Tag der Überflutung und ein signifikant niedrigeren Wert nach drei Tagen Überflutung ([Abb. 21](#)). Die Transpiration war nach dem ersten Tag der Überflutung signifikant erhöht, aber signifikant niedriger nach der „Erholungsphase“ sowie nach dem 14. Tag der Überflutung während der zweiten Behandlungsperiode ([Abb. 22](#)). Beim Wert der Stomatären Öffnung konnte kein signifikanter Einfluss der Überflutung an den Pflanzen festgestellt werden ([Abb. 23](#)).

Die relativen Werte des Verlaufes der Assimilation, der Transpiration und der Stomatären Öffnung sind in [Abbildung 24](#) dargestellt.

Bei den Aufnahmen 2005 zeigten die Pflanzen der Herkunft Rastatt eine deutliche Senkung der Photosynthese-Werte, wobei der Unterschied zu den Kontrollpflanzen erst nach dem 10. Tag der Überflutung als signifikant nachgewiesen wurde ([Abb. 25](#)).

Die Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“ zeigten erst ab dem 10. Tag eine deutliche Senkung des Photosynthese-Wertes ([Abb. 26](#)), wobei der Unterschied zu den Kontrollen erst nach der „Erholungs-Phase“ signifikant war. Dabei wurde eine sehr leichte Erhöhung der Photosynthese-Werte bei den überfluteten Pflanzen beobachtet.

Bei der Art *F. angustifolia* konnten signifikant höhere Werte für Assimilation, Transpiration und Stomatäre Öffnung während der ganzen Behandlungsperiode, sowohl an den überfluteten als auch an den Kontrollpflanzen festgestellt werden ([Abb.27](#)). Dabei wurde eine deutliche Senkung der Photosynthese-Werte bei den überfluteten Pflanzen festgestellt. Der Vergleich zur Kontrolle nach dem 10. Tag der Überflutung war dennoch nicht signifikant.

Die relativen Werte für den Verlauf von Assimilation, Transpiration und Stomatärer Öffnung sind in [Abbildung. 28](#) dargestellt.

### **3.1.2.3 Messung der Chlorophyllfluoreszenz**

Die Werte der photochemischen Effektivität aus dem Vorversuch im Sommer 2003 der beiden gefluteten Pflanzen (Herkünfte Rastatt und Schwäbische Alb) nahmen mit der Zeit

deutlich ab ([Abb. 29](#)). Nach 40 Tagen starb die Esche „Schwäbische Alb“ ab und der Versuch wurde beendet.

Bei dem Versuch im Frühsommer 2004 zeigte der Verlauf der photochemischen Effektivität der überfluteten Pflanzen (Herkünfte Rastatt, Schwäbische Alb und Schwarzwald) eine leichte abnehmende Tendenz ([Abb. 30](#)), wobei kein signifikanter Unterschied in der Reaktion der einzelnen Herkünfte zu beobachten war. Die Quantenausbeute der Kontrollpflanze war, außer am ersten und zweiten Messtag, immer höher als die der überfluteten Pflanzen und verlief relativ konstant.

Bei dem Versuch in Herbst 2004 nahm die photochemische Effektivität in den Blättern der überfluteten Pflanzen nach 28 Tagen nicht ab ([Abb. 31](#)). Die zwei untersuchten Herkünfte (Rastatt und Schwäbische Alb) reagierten nicht signifikant unterschiedlich auf die Überflutung.

Eine immerhin schwach abnehmende Tendenz zeigten dagegen die Ergebnisse der Gaswechselformenmessungen (Nettophotosynthese), die parallel zu den Fluoreszenzmessungen durchgeführt wurden ([Abb. 32](#)).

Am Beispiel der Versuchspflanze BU-143 (Schwäbische Alb) konnte gezeigt werden, dass es etwa eine Stunde dauert, bis sich die Nettophotosynthese eines dunkel-adaptierten Blattes nach der Einschaltung des Lichts voll entfaltet ([Abb. 33](#)).

Bei den Aufnahmen 2005 steigerte sich die Quantenausbeute der Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“ nach dem 3. Tag der Überflutung ([Abb. 34](#)). Danach senkte sie sich, um sich nach der „Erholungs-Phase“ wieder zu steigern. Die Quantenausbeute der Kontrolle steigerte sich ebenso nach dem 3. Tag, blieb aber ab diesem Zeitpunkt relativ konstant. Nur nach dem 10. Tag der Behandlung war die Quantenausbeute bei den überfluteten Pflanzen signifikant niedriger.

Bei dem Herkunftsgebiet Rastatt zeigten die Kontrollpflanzen außer am 10. Tag der Behandlung niedrigere Werte der Quantenausbeute ([Abb. 34](#)). Die Werte der überfluteten Pflanzen zeigten einen sehr konstanten Verlauf, während die der Kontroll-Variante nach dem 10. Tag der Behandlung stiegen.

Die zwei Behandlungsgruppen der Art *F. angustifolia* zeigten ein ähnliches Verhalten, wobei sich die Quantenausbeute der überfluteten Pflanzen leicht senkte ([Abb. 34](#)). Die Unterschiede zwischen beide Behandlungen waren nicht signifikant.

Der Verlauf der relativen Werte der Quantenausbeute der Aufnahmen 2005 ist in [Abbildung 35](#) dargestellt. Dabei zeigt Herkunft „Rastatt“ bei jedem Messtag immer höhere relative Werte der Quantenausbeute. Die Herkunft Schwäbische Alb und die Gruppe der Art *F. angustifolia* besitzen ähnliche Werte.

Aus den ANOVA Analyse der relativen Werte für jedes Herkunftsgebiet während der gesamten Dauer der Überflutung ergab sich, dass keine signifikante Veränderung der Quantenausbeute bei „Schwäbische Alb“ und bei *F. angustifolia* stattfindet. Eine signifikante Senkung der Quantenausbeute von Tag 0 auf Tag 10 (Post Hoc Test: Tukey HSD,  $P = 0.034$ ) wurde für das Herkunftsgebiet Rastatt gemessen. Weiterhin ergab sich für diese Herkunft ein signifikant höherer Wert der Quantenausbeute am letzten Messtag (14+7) im Vergleich mit den Werten am 10. Tag (Tukey HSD,  $P < 0.001$ ) und am 3. Tag (Tukey HSD,  $P = 0.45$ ).

#### **3.1.2.4 Messung des Chlorophyllgehaltes**

Lediglich an der Herkunft „Schwäbische Alb“ wurde eine signifikante Senkung des Blattpigments  $C_a$  nach dem 10. Tag der Überflutung beobachtet ([Abb. 36](#), [Abb. 37](#), [Abb. 38](#)).

Hinsichtlich des relativen Gehaltes an Pigmenten  $C_a$ ,  $C_b$  und  $C_r$ , wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den drei untersuchten Pflanzengruppen, weder nach drei noch nach zehn Tagen Überflutung festgestellt.

#### **3.1.2.5 Messung der Acetaldehydsemission**

In beiden Versuchsjahren schwankten die Werte der Acetaldehydemission der überfluteten Pflanzen, vergleichbar mit der Schwankungsspreite der Emissionswerte der Kontrollpflanzen.

#### **3.1.2.6 Untersuchung der Alkoholdehydrogenase-Aktivität**

### 3.1.2.6.1 Enzymatische Untersuchung

Im Aufnahmejahr 2004 zeigte die photometrische Bestimmung des Enzyms ADH in den Extrakten aus frischen Wurzeln während der Überflutung eine signifikante Erhöhung seiner Aktivität im Vergleich zu den Kontrollpflanzen der Art *F. excelsior* ([Abb. 39](#) Mitte). Ebenso war die Erhöhung für jede einzelne Herkunft signifikant ([Abb. 40](#)). Während der ersten Überflutungsperiode zeigte die Herkunft Schwäbische Alb nach dem 7. Tag der Überflutung die stärkste Erhöhung der ADH-Aktivität. Danach sank die Aktivität. Während der zweiten Periode bestätigte sich die stärkste Erhöhung auch nach dem 7. Tag der Überflutung. Die Herkünfte Rastatt und Schwarzwald zeigten die stärkste Erhöhung nach dem 14. Tag der Überflutung während der ersten Überflutungsperiode. In der zweiten Periode reagierte die Herkunft Rastatt am stärksten nach dem 7. Tag, während die Herkunft Schwarzwald am stärksten nach dem 14. Tag reagierte ([Abb. 40](#)). Die ANOVA Analyse über die relativen Werte der ADH-Aktivität ist für jeden Messungstag in [Abbildung 41](#) zusammengefasst.

Im Aufnahmejahr 2005 war die Erhöhung der ADH-Aktivität gegenüber den Kontrollwerten signifikant für beide untersuchte Arten, *F. excelsior* und *F. angustifolia* und zwar immer während zehn Tagen Überflutungsdauer ([Abb. 42](#)). Die Herkunft „Schwäbische Alb“ zeigte mit einer Erhöhung nach drei Tagen die schnellste Reaktion. Nach dieser Erhöhung sank die ADH-Aktivität wieder; im Gegenteil zu der Herkunft „Rastatt“ und der Art *F. angustifolia*, bei denen die Aktivität weiter anstieg ([Abb. 42](#)). Die ANOVA Analyse bestätigt eine signifikante Interaktion zwischen Herkunft und Dauer der Überflutung ( $P = 0.024$ ).

Die ANOVA Analyse über die relativen Werte der ADH-Aktivität zeigte, dass die Herkünfte weder nach dem 3. Tag noch nach dem 10. Tag der Überflutung signifikant unterschiedlich waren. ([Abb. 43](#)).

### 3.1.2.6.2 Isoenzymatische Untersuchung

Die Isoenzymatische Analyse des Proteinhomogenats aus Wurzelmaterial wies eine deutliche Aktivitäts-Zone bei der Höhe des Genorts ADH-B auf. Gelegentlich waren zusätzliche Elektromorphe von schwächerer Intensität zu beobachten, die bis auf die Höhe des Genorts ADH-A wanderten. Aus dem Homogenat überfluteter Pflanzen ergaben sich viel intensiver gefärbte Elektromorphe, aber keine neuen Isoenzym-Varianten ([Abb. 44](#)). Im Typ der

isoenzymatischen Varianten von Kontroll- oder überfluteten Pflanzen war zwischen den drei untersuchten Herkünften kein Unterschied zu beobachten.

Bei *F. angustifolia* konnte die gleiche Aktivitäts-Zone bei der Höhe des Genorts ADH-B beobachtet werden. Zusätzlich trat eine Variante bei der Höhe des Genorts ADH-A bei jeder Probe auf und in mehreren Fällen war ein drittes Elektromorph zu beobachten ([Abb. 45](#)). Bei *F. angustifolia* war auch eine stärkere Färbung der Elektromorphe an den überfluteten Pflanzen zu beobachten. Es traten aber keine neuen Varianten auf, wie es auch im Fall von *F. excelsior* festgestellt werden konnte ([Abb. 46](#)).

### **3.1.2.7 Untersuchung des Ethanol-Transportes**

In Aufnahmejahr 2004 war die Ethanolkonzentration im Xylem während der ersten Flutungsperiode im Vergleich zur Kontrolle an allen Herkünften signifikant erhöht. Dieser Effekt trat während der zweiten Flutungsphase nicht auf ([Abb. 47](#)).

Im Aufnahmejahr 2005 war die Ethanolkonzentration nach der Überflutung bei allen Pflanzengruppen signifikant erhöht ([Abb. 48](#)).

Nach dem 3. Tag war ein Gradient in den Konzentrationen zu beobachten. Dieser war bei der Herkunft „Schwäbische Alb“ am höchsten und bei der Art *F. angustifolia* am niedrigsten. Dennoch sind diese Unterschiede nicht signifikant ( $P = 0.14$ ). Nach dem 10. Tag war es aufgrund des hohen Wasserpotentials der Pflanzen nicht mehr möglich Xylemsaft aus den Pflanzen „Schwäbische Alb“ auszupressen. Die Ethanolkonzentration der Herkunft Rastatt war signifikant höher als die der *F. angustifolia* Gruppe.

### **3.1.2.8 Untersuchung der Kohlenhydrates-Haushalt**

#### **Zucker-Gehalt der Wurzel**

Im Aufnahmejahr 2004 war eine signifikante Akkumulation des gesamten Zuckers im Wurzelgewebe ( $P = 0.01$ ) der Herkünften „Schwäbische Alb“ und „Rastatt“ am 7. Tag der Überflutung zu beobachten ([Abb. 49](#)).

Diese Akkumulation ist auf die Erhöhung der Konzentrationen von Inositol, Mannitol und Sucrose im Fall Schwäbische Alb und auch zusätzlich von Glukose im Fall Rastatt zurückzuführen.

Bei Schwäbische Alb sank die Konzentration von Inositol am 14. Tag drastisch, was bei Rastatt nicht der Fall war. Hier blieb die Konzentration von Inositol ähnlich und die von der Sucrose erhöhte sich signifikant. Zur Zeit der Überflutung weist die Herkunft Schwarzwald eine signifikante höhere Konzentration von Mannitol, Fruktose und Sucrose auf. Hier bleibt die Konzentration von Fruktose nach der ersten „Erholungs-Phase“ signifikant erhöht (Tag 14 + 7).

Nach der ersten „Erholungs-Phase“ (Tag 14 + 7) ist die Konzentration von Inositol bei allen Herkunftsgebieten nahezu gleich Null. Die gesamte Zucker-Konzentration der überfluteten Pflanzen ist mit einer Wahrscheinlichkeit  $P = 0.05$  höher als die der Kontrollpflanzen nach der ersten „Erholungs-Phase“ bei Schwäbische Alb. Bei Rastatt und Schwarzwald ist die Erhöhung nicht signifikant. Nach der zweiten „Erholungs-Phase“ ist die Konzentration des gesamten Zuckerspektrums für Schwäbisch Alb und Rastatt unter der anoxischen Behandlung signifikant erhöht.

Im Aufnahmejahr 2005 war bei allen drei untersuchten Pflanzengruppen nach dem 3. Tag der Überflutung eine Akkumulation des gesamten Zuckers in der überfluteten Pflanzen zu beobachten, die hauptsächlich auf die Mannitol-Konzentration zurückzuführen war. Im Fall von *F. angustifolia* spielte dabei die Sucrose auch eine Rolle.

Am 10. Tag der Überflutung war die Mannitol-Konzentration bei allen überfluteten Pflanzen noch in vergleichbarem Maße erhöht. Schwäbische Alb und Rastatt zeigten zu diesem Zeitpunkt eine Senkung der Glukose-Konzentration in Vergleich zu ihrer Konzentration am Tag 3. Dies traf bei *F. angustifolia* nicht zu.

### **Zucker-Gehalt des Phloems**

Im Aufnahmejahr 2004 und während der ersten drei Tage der Überflutung war die Zucker-Konzentration im Phloem der überfluteten Pflanzen immer niedriger als in dem der Kontrollpflanzen für alle Herkunftsgebiete, wobei die Unterschiede nicht signifikant waren.

Am 14. Tag der Überflutung war die gesamte Zucker-Konzentration in den überfluteten Pflanzen höher, wobei der Unterschied nur für das Herkunftsgebiet Rastatt signifikant war.

Während der zweiten Überflutungsperiode war die Konzentrationen von Glukose und Sucrose bei den überfluteten Pflanzen aus dem Herkunftsgebiet Schwäbische Alb am 3. Tag signifikant erhöht, die Konzentration von Mannitol und Sucrose am 3. Tag und von Mannitol

am 7. Tag signifikant höher. Bei den Pflanzen aus dem Herkunftsgebiet Schwarzwald waren am 3. Tag Inositol und Sucrose signifikant erhöht.

2005 war ein signifikanter Effekt der Überflutung am 10. Tag der Behandlung für alle Herkunftsgebiete zu beobachten, wobei sich Mannitol- und Sucrosekonzentration signifikant erhöhten [Abb. 52](#). Die Akkumulation von Sucrose war besonders stark beim Herkunftsgebiet Schwäbische Alb (47 % der gesamten Erhöhung gegenüber jeweils 19 % und 27 % bei Rastatt und *F. angustifolia*).

Bei der Art *F. angustifolia* erhöhte sich die Konzentration des Mannitols schon nach dem 3. Tag der Überflutung.

### **Zucker-Gehalt im Blatt**

Die Zucker-Konzentration im Blatt war am 3. Tag der zweiten Überflutungsperiode für das Herkunftsgebiet S. Alb ( $P = 0.02$ ) signifikant niedriger. Dabei ist die Senkung der Glukose besonders auffällig ([Abb. 50](#)).

Bei Rastatt konnte am 7. Tag der Überflutung eine signifikante Senkung der Glukose beobachtet werden ( $P = 0.01$ ). Nach der ersten Erholungsphase (Tag 14 + 7) konnte eine signifikante niedrigere Konzentration von Mannitol bei den überfluteten Pflanzen beobachtet werden ( $P = 0.01$ ). Bei Inositol war eine signifikant niedrigere Konzentration nach der zweiten „Erholungs-Phase“ vorhanden.

Die Konzentration von Sucrose war bei den überfluteten Pflanzen nach dem 14. Tag der Überflutung beim Herkunftsgebiet Schwarzwald signifikant niedriger. Am 3. Tag der zweiten Überflutungsperiode war die Konzentration von Inositol dagegen leicht signifikant erhöht.

Bei den Aufnahmen 2005 konnte innerhalb der Herkunft „Rastatt“ und bei der Art *F. angustifolia* eine schnelle Reaktion der Pflanzen gegenüber den anoxischen Bedingungen beobachtet werden, wobei sich die gesamte Zucker-Konzentration schon nach dem 3. Tag der Überflutung signifikant erhöhte (jeweils  $P < 0.05$  und  $P < 0.001$ ) ([Abb. 53](#)). Bei den Pflanzen aus Rastatt war das auf die Erhöhung der Mannitol-Konzentration zurückzuführen. Bei *F. angustifolia* steigerte sich zudem die Konzentration von Sucrose und Glukose signifikant.

Die Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“ zeigten erst nach dem 10. Tag der Überflutung eine Erhöhung der Zucker-Konzentration, die lediglich auf die Erhöhung der Mannitol-Konzentration zurückzuführen war ( $P < 0.05$ ). Zu diesem Zeitpunkt war die gesamte Zucker-

Konzentration der überfluteten Pflanzen der Herkunft Rastatt leicht höher als nach dem 3. Tag der Überflutung. Die Pflanzen von *F. angustifolia* zeigten gegenteilige Werte die wieder auf dem Niveau der Kontrollpflanzen lagen.

### **Relative Werte des Zucker-Gehaltes**

Der Verlauf der relativen Werte der Zucker-Konzentration in Wurzelgewebe, Phloem und Blattgewebe für die Aufnahmejahre 2004 und 2005 ist jeweils in den Abbildungen [Abb. 51](#) und [Abb. 54](#) dargestellt. Die Fälle in denen die Herkünfte ein signifikant unterschiedliches Verhalten besitzen sind dabei detailliert dargestellt.

2004 erhöhte sich im Wurzelgewebe der Pflanzen „Schwäbische Alb“ während der ersten 7 Tage der Überflutung die gesamte Zucker-Konzentration und sank am 14. Tag. Dieser Effekt wurde bei den Messungen 2005 bestätigt. Anschließend stieg, mit Ausnahme des 3. Tages der zweiten Überflutungsperiode, die gesamte Zucker-Konzentration weiter an.

Die Pflanzen aus Rastatt zeigten bis zum Tag 14. der Überflutung einen ähnlichen Verlauf. Danach schwankte die Konzentration des gesamten Zuckerspektrums ohne eine klare Tendenz. Eine leichte Senkung der Konzentration war während des Versuchs 2005 zu beobachten.

Bei den Pflanzen „Schwarzwald“ erhöhte sich die gesamte Zucker-Konzentration bis einschließlich dem 14 Tag der Überflutung und sank danach.

Die Pflanzen der Art *F. angustifolia* zeigten kaum eine Veränderung der Zuckerwerte zwischen dem 3. und 10. Tag der Überflutung in 2005. Mannitol stellte dabei mit einer Senkung der Konzentration eine Ausnahme dar.

Am ersten Tag der Überflutung waren die relativen Werte der Zucker-Konzentration für die Herkunft „Schwäbische Alb“ im Vergleich mit den Werten der Pflanzen „Rastatt“ und „Schwarzwald“ signifikant höher. Letztere zwei Gebiete bildeten zusammen eine homogene Gruppe.

Bei allen drei Herkünften stiegen die Werte der gesamten Zucker-Konzentration im Phloem zwischen dem 3. und 14. Tag der Überflutung an, was auch während des Versuchs 2005 beobachten werden konnte. Die Erhöhung war hauptsächlich auf die Veränderung der Mannitol-Konzentration zurückzuführen.

Zwischen dem 14. Tag und der ersten Erholungs-Phase, sank die gesamte relative Zucker-Konzentration bei allen Herkünften. Danach stieg sie bis zum 7. Tag der zweiten Überflutungsphase wieder an, um danach wieder zu sinken.

In Blattgewebe war eine leichte Erhöhung der gesamten Zucker-Konzentration von Tag 1 bis Tag 7 der Überflutung bei der Herkunft Schwäbische Alb zu beobachten, während eine deutliche Senkung bei „Rastatt“ stattfand.

Die gesamte Zucker-Konzentration sank bei den Pflanzen aus Rastatt ab dem 14. Tag der Überflutung bis zum Ende der Erholungs-Phase. Im Gegensatz dazu stiegen die Werte für die Herkünfte „Schwäbische Alb“ und „Schwarzwald“ während dieser Zeitspanne an.

Bei der Aufnahmereihe 2005, stieg die gesamte Zucker-Konzentration im Blatt bei der Pflanzen „Schwäbische Alb“ und „Rastatt“. Die Werte bei der Art *F. angustifolia* sanken hingegen.

### **3.1.2.9 Elektrophysiologische Untersuchungen**

Mittels der elektrophysiologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die überfluteten Pflanzen eine stärkere Reaktion auf Lichtimpulse („Light off signals“) zeigen als die Kontrollpflanzen. Die Lichtsignale waren sowohl qualitativ als auch quantitativ unterschiedlich ([Abb.55](#), [Abb.56](#)). Die überfluteten Pflanzen zeigten deutlich mehr Licht-Off-Signale, die sich auch in ihrer Form von denen der Kontrollpflanzen unterschieden.

### **3.1.3 Keimungsexperiment**

Die Stratifizierung des Saatgutes nach Suszka *et al.* (1996) war erfolgreich, wie die hohen Keimungsprozente bewiesen. Diese lagen unabhängig von der Behandlung über 94.5 % am Ende des Experiments ([Abb. 57](#), [Tab. 8](#)).

Bei der Keimprobe „normaler“ Behandlung (aerobe Bedingungen) waren die Unterschiede bezüglich GP und GV zwischen den drei Herkünften nicht signifikant ([Tab. 8](#)).

Alle drei Herkünfte konnten unter Wasser keimen (anaerobe Bedingungen). Dabei waren die Keimungsprozente immer niedriger als die der Kontroll-Behandlung, wobei diese Unterschiede nur während der ersten Hälfte des Experiments signifikant waren ([Abb. 58](#)). Am Ende der Beobachtungszeit hatten alle Herkünfte vergleichbar gut gekeimt. Dieses

Ergebnis bedeutet, dass nicht der Keimprozess durch anaerobische Bedingungen beeinflusst wird, sondern nur die Keimungsgeschwindigkeit. Die Varianzanalyse von GV bestätigte diesen Befund. Sie zeigte, dass die Herkunftsgebiete ähnlich keimen ( $P = 0.08$ ) und ähnlich auf beide Behandlungen reagieren ( $P = 0.20$ ) aber dass die anaerobische Behandlung ihre Keimung signifikant verlangsamt ( $P < 0.0001$ ) ([Tab. 9](#)).

### 3.1.4 Nachkommenschaftsprüfung

Die ersten Ergebnisse, von denen in Abschnitt 4.6 berichtet wird, stammen aus der Aufnahme der Fläche Rastatt, Revier Bietigheim. Sie umfasst 0,25 ha und wurde seit der Versuchsanlage drei Mal überflutet. Insgesamt wurden 540 Pflanzen (Pflanzverband 2 x 2 m) der Herkünfte Rastatt/Rheintal, Bad Urach und Ostalb, sowie eine Nachkommenschaft der Samenplantage Zähringen auf dieser Fläche ausgepflanzt. Die Samenplantage Zähringen enthält verschiedene Klone des Herkunftsgebietes Oberrheinisches Tiefland 811-05. Die Rastatter Fläche ist in dreifach wiederholter Blockanlage gepflanzt, jeweils mit 5 Parzellen mit je 36 Pflanzen im 2 m x 2 m Pflanzverband. Dieses Versuchsdesign soll Auswirkungen kleinräumiger Standortunterschiede auf das Pflanzenwachstum weitestgehend minimieren. Die Anzahl der Pflanzen pro Provenienz ist in die Tabelle 5 zusammengefasst. Die Abbildung 4 zeigt die Verteilung der Provenienzen auf der Fläche.

Bisher wurden zwei Höhen-Aufnahmen durchgeführt. Die erste Aufnahme fand im September 2005 nach einem Hochwasserereignis mit bis zu 1,9 m Überflutungshöhe auf der Fläche statt. Die zweite wurde im Juli 2006 nach einer Überflutung im Spätfrühling durchgeführt. Das Hochwasser erreichte vergleichbar hohe Wasserstände. In beiden Fällen wurden mehrere Pflanzen durch Treibholz umgebogen (ca. 129 Stück) und standen deswegen komplett unter Wasser. Diese Pflanzen wurden wieder aufgerichtet.

Da die Parzellen Rastatt 2-7 und Ostalb 2-12 in einer Senke liegen und daher höhere Wasserstände überstehen mussten, wurden alle Berechnungen auch ohne diese beiden Parzellen durchgeführt, um die Auswirkung dieser Besonderheit zu analysieren.

Von insgesamt 12 untersuchten Parzellen zeigte Ostalb 2 die niedrigste Wachstumsrate ( $\text{Growth}_m = 0.333$ ) Zähringen 2 hingegen die höchste Rate ( $\text{Growth}_m = 0.964$ ). Ebenso zeigte die Herkunft Ostalb über alle Parzellen gemittelt den niedrigsten Wert für Wachstum ( $\text{Growth}_m = 0.488$ ) und Zähringen den höchsten ( $\text{Growth}_m = 0.855$ ). Die Provenienzen Zähringen, Rastatt und Bad Urach sind in ihrem Höhenwachstum nicht signifikant

unterschiedlich, während sich die Provenienz Ostalb von den drei anderen signifikant unterscheidet ( $P < 0.0001$ ).

Der Block Nr. 1 zeigt den höchsten Wachstumswert ( $\text{Growth}_m = 0.835$ ) und der Block Nr. 2 den Niedrigsten ( $\text{Growth}_m = 0.637$ ). Block Nr. 3 weist einen sehr ähnlichen Wert auf ( $\text{Growth}_m = 0.641$ ). Die ANOVA Analyse ergab ein signifikant höheres Wachstum des Blocks Nr. 1 gegenüber den anderen zwei Blöcken. Die Blöcke Nr. 2 und Nr. 3 sind untereinander nicht signifikant unterschiedlich. Nur wenn die Parzellen Ostalb 2 und Rastatt 2 gleichzeitig nicht mitberechnet werden, unterscheidet sich der Block Nr. 2 nicht signifikant von Block Nr. 1.

Die Provenienz Ostalb zeigte schon bei der Aufnahme im September 2005 den niedrigsten Höhenmittelwert ( $H = 1.17$  m), während die Herkunft Rastatt, mit  $H = 1.84$  m den höchsten Mittelwert zeigte. Der Block Nr. 1 hatte den höchsten Mittelwert, wobei er sich nur von Block 3 signifikant unterschied.

An mehreren Individuen waren in beiden Jahren deutliche Wasserschäden, wie Ausfall des Blattwerkes, Blattverbrennungen und Risse am unteren Teil des Stammes zu beobachten. In einigen Fällen wurden auch seitliche Austriebe beobachtet. Es konnten jedoch diesbezüglich keine Unterschiede zwischen den Herkünften festgestellt werden.

[Abbildung 59](#) stellt den aktuellen Zustand der Fläche in Juli 2006.

## **3.2 Herkunftsidifizierung**

### **3.2.1 Nukleare-Mikrosatelliten**

Alle Kern-Mikrosatelliten-Loci waren hoch variabel mit einer hohen Anzahl beobachteter Allele. In allen Loci bis auf FEMSATL 8 kamen 1 oder 2 Allele mit einer Häufigkeit von 29 - 40% vor ([Tabelle 10](#)). Die Populationen aus dem Schwarzwald zeigten die kleinste Anzahl Allele pro Locus ([Tabelle 11](#)).

In allen Populationen konnten in mindestens einem Locus keine Hardy-Weinberg-Strukturen nachgewiesen werden ( $P < 0.05$ ). Die F-Werte waren für alle Populationen hoch (0.221 bis 0.552) und zeigten ein Defizit an Heterozygoten ([Tabelle 11](#)). Die kalkulierte Frequenz für mögliche Null-Allele war relative niedrig, verglichen mit den Frequenzen der anderen Allele.

Die  $F_{ST}$ -Werte zeigten eine mittlere bis hohe genetische Differenzierung zwischen den Populationen (0.034-0.196) und zwischen den Regionen (0.022-0.149).

Der Genfluss ( $N_m$ ) scheint zwischen den Populationen und zwischen den Regionen relativ klein zu sein ([Tabelle 12](#)).

[Abbildung 60](#) zeigt die phylogenetischen Beziehungen zwischen den untersuchten Populationen.

Die genetischen Strukturen innerhalb der Herkunftsgebiete zeigten in allen Loci Unterschiede zwischen Herkunftsgebieten bzw. Herkünften.

Die Unterschiede am Genlocus FEMSATL4 und FEMSATL12 waren aufgrund der sog. „Privatallele“ deutlich.

Ein solches Privatallel kommt am Genlocus FEMSATL12 für die Populationen aus dem Rheintal vor. Am Genlocus FEMSATL4 war ein Allel der Populationen aus dem Schwarzwald mit einer Häufigkeit >10% vorhanden, wobei alle anderen eine Häufigkeit von <0.05% aufwiesen ([Abb. 61](#)). Am Genlocus FEMSATL8 waren keine deutlichen Unterschiede in den genetischen Strukturen erkennbar. Am Genlocus FEMSATL16 waren die genetischen Strukturen der Herkünfte „Rheintal“ und „Schwäbische Alb“ ähnlich, aber die der Herkünfte „Schwarzwald“ und „Vogesen“ unterschiedlich ([Abb. 62](#)).

In der Elbeaue wurde eine ähnliche Anzahl an Allelen an den Genorten FemSatl4, FemSatl11 und FemSatl12 beobachtet. Der Genort FemSatl16 zeigte die kleinste Allel-Diversität. Dieser Trend wurde auch bei der effektiven Anzahl an Allelen ([Tabelle 13](#)) beobachtet.

An allen Genorten konnte eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg Equilibrium beobachtet werden. Dabei war der Mittelwert des Inzuchtskoeffizient  $F_{IS} = 0.260$ . Die gesamte genetische Diversität war  $H_T = 0.815 \pm 0.130$  wobei zwischen den Populationen nur ein Unterschied von 4 % ([Tabelle 14](#)) bestand.

Die genetische Abweichung zwischen den Transekten ( $F_{St} = 0.036$ ) trug mit 3.5 % zu der totalen Differenzierung zwischen den Populationen bei und war mit 0.79 % mit der Differenzierung zwischen den Transekten ( $F_{tT} = 0.008$ ) verbunden. Die Mikrosatelliten-Analyse der Transekte an beiden untersuchten Auen ergab die hierarchische F-Statistik der [Tabelle 7](#).

Die Transekte an der Rheinaue waren signifikant unterschiedlich, unabhängig davon ob die Fläche A in der Analyse mitberechnet wurde oder nicht.

Die Transekte an der Elbeaue waren nur signifikant unterschiedlich, wenn die Flächen in Wörlitz in die Analyse mit einberechnet wurden.

Der gesamte Inzuchtskoeffizient war  $F_{IT} = 0.265$ .  $R_{ST}$ , die genetische Differenzierung zwischen Populationen basiert auf der Allel-Größe. Sie war nicht signifikant unterschiedlich von  $F_{ST}$ .

Zwischen den sechs untersuchten Herkunftsgebiete war die genetische Differenzierung  $F_{ST} = 0.024$  ( $P < 0.001$ ). Der Korrelationskoeffizient der Regression zwischen dem paarweisen  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  und dem natürlichen Logarithmus der geographische Distanzen war schwach und nicht signifikant unterschiedlich vom erwarteten, unter Abwesenheit einer räumlichen Beziehung zwischen den Populationen ( $r^2 = 0.476$ ,  $P = 0.260$ ). Daher konnte kein IBD zwischen den Populationen festgestellt werden. Die [Abbildung 63](#) zeigt die phylogenetischen Beziehungen zwischen den untersuchte Herkunftsgebieten.

### 3.2.2 Chloroplasten-Mikrosatelliten

In den Herkünften „Süddeutschland“ und „Vogesen“ war einer der fünf untersuchten Chloroplast-Mikrosatelliten (ccmp3) monomorphisch mit der Fragmentlänge 91 bp. Die restlichen vier zeigten niedrige Niveaus an Polymorphismus: ccmp6 und ccmp7 besetzten zwei Varianten und ccmp10 und  $\mu$ kk3 drei Varianten. Die [Tabelle 15](#) listet die sechs beobachteten Haplotypen auf (diese Haplotypen kombinieren die Fragmentgröße der vier untersuchten Loci).

Haplotyp A und B repräsentierten jeweils 52% und 44% der Individuen.

In der Mehrheit der Populationen aus dem Transekt „Rheinaue“ und in der Population „Vogesen“, waren die Haplotypen A und B präsent, während nur in einer Population am Rhein (L) zwei andere Haplotypen (C und E) zusätzlich beobachtet wurden. In allen Regionen war die Frequenz des Haplotyps A häufiger als die des Haplotyp B ([Abb. 64](#))

In der bayerischen Population „Landsberg“ waren drei Haplotypen präsent, während in der Population „Kempten“ nur ein Haplotyp gefunden wurde ([Abb. 64](#)).

In „Schwarzwald“ und „Schwäbische Alb“ wurde nur der Haplotyp B gefunden ([Abb. 64](#)).

In der Population Elbaue zeigten sich die Chloroplast-Mikrosatelliten Loci ccmp3 und ccmp7 als monomorph, während die Loci ccmp10 und ccmp6 jeweils zwei unterschiedliche Fragmentgrößen besetzten. Die [Tabelle 16](#) listet die vier an den Elb-Populationen beobachteten Haplotypen auf. Der häufigste Haplotyp war H10, er repräsentierte die Hälfte

der Individuen. Haplotypen C und H5 folgten mit Frequenzen von jeweils 31.7 % und 13 %. Haplotyp B war nur in 5.8 % der Proben zu beobachten. Der Mittelwert für die Anzahl an Haplotypen per Locus war 0.66, die mittlere intrapopulations-haplotypische Diversität  $h_S = 0.539 \pm 0.005$  und die gesamte haplotypische Diversität  $h_T = 0.640 \pm 0.005$ . Der Koeffizient der genetischen Differenzierung zwischen den sechs Elbe-Populationen war  $G_{ST} = 0.158 \pm 0.003$ .

### 3.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen

Alle Kern-Mikrosatelliten-Loci waren hoch variabel mit einer Anzahl beobachteter Allele zwischen 11 (Femsatl 16) und 36 (Femsatl 4) ([Tabelle 17](#)). Sowohl die beobachtete Anzahl Allele als auch die beobachtete Heterozygotie waren bei allen Mikrosatelliten-Loci in den Klonkollektiven geringer als in der Samenpopulation ([Tabelle 17](#)). An allen Loci wurden 7 Allele ausschließlich im Elternkollektiv beobachtet. Zudem wurden 22 Allele ausschließlich im Samenkollektiv beobachtet. Insgesamt ist die genetische Differenzierung zwischen dem Klonkollektiv und der Samenpopulation über alle Loci als sehr niedrig einzuschätzen. ( $F_{ST}=0,005$ ) ([Tabelle 18](#)).

Zur Schätzung von Unterschieden zwischen den effektiven Pollenwolken der Einzelbaumnachkommenschaften wurde die genetische Variation innerhalb und die genetische Differenzierung zwischen den Kollektiven der Einzelbaumnachkommenschaften (SK) berechnet. Die genetischen Unterschiede zwischen Einzelbaumnachkommenschaften und Elternpopulation wurden durch die Berechnung der genetischen Differenzierung zwischen dem Klonkollektiv (K) und der gesamten Samenpopulation (S) geschätzt. Dabei wurde eine relativ hohe Variation für alle Kollektive gefunden ([Tabelle 17](#)). Die  $F_{ST}$ -Werte zeigten eine niedrige genetische Differenzierung zwischen Klonkollektiv (K) und Samenpopulation (S) und eine relativ hohe Differenzierung zwischen den verschiedenen Einzelbaumnachkommenschaften und der Elternpopulation ( $F_{ST}=0,140$ ) ([Tabelle 18](#)).

Das Dendrogramm zeigte Gruppierungen der Nachkommen, die aus den gleichen Ramets stammten ([Abb. 65](#)). Die Nachkommen unterschiedlicher Klone aus Philippsburg bilden eine Gruppe, ebenso bilden die Nachkommen aus Kehl und Lahr zusammen eine Gruppe.

Insgesamt wurden sieben seltene Allele ( $p < 0.05$ ) nur im Klonkollektiv, nicht aber in der Samenpopulation beobachtet. Wegen ihrer Seltenheit wurden diese Allele sehr wahrscheinlich nicht im Saatgut gefunden. Andererseits wurden 22 Allele nur im Saatgut und nicht im Klonkollektiv beobachtet.

### 3.4 Art-Bestimmung

#### 3.4.1 Biochemischeanalyse

Von den zehn untersuchten Enzymsystemen konnten drei als brauchbar ermittelt werden, die zusammen eine Differenzierung der Eschenarten ermöglichen.

Mit den Enzymsystemen ADH und PGI konnten aufgrund der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten der Elektromorphen im Gel drei Gruppen deutlich gemacht werden; eine enthält die Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia*, eine weitere *F. ornus* und eine dritte *F. americana* und *F. pennsylvanica* ([Abb. 66](#) und [Abb. 67](#)).

Die Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia* lassen sich durch das Enzymsystem PGM unterscheiden, da die Elektromorphe der ersten Art langsamer wandern ([Abb. 68](#)).

Die Arten *F. americana* und *F. pennsylvanica* können durch die angewandten Enzymsysteme nicht voneinander unterschieden werden.

#### 3.4.2 Molekularanalyse

Bei dem Kernmikrosatelliten war die Unterscheidung zwischen den Arten auf Grund von „Privatallelen“ nur in manchen Fällen möglich. Im Fall von Femsatl 4 wurde ein Privatallel für *F. angustifolia* gefunden. Die Unterscheidung der Arten mittels Femsatl 8 war aufgrund der hohen genetischen Variation in keinem Artenkollektiv erfolgreich. An diesem Genort sowie am Genort Femsatl 16 wurde jeweils ein Privatallel für *F. ornus* gefunden.

Die cp-DNA-Analyse zeigte, dass *F. americana* sich deutlich von allen anderen Eschen-Arten an den cp-DNA-Mikrosatelliten ccmp6, ccmp7 und ccmp10 unterscheidet ([Abb. 69](#) und [Abb. 70](#)).

*F. angustifolia* unterscheidet sich an dem cp-DNA-Mikrosatellite ccmp6 von *F. ornus* ([Abb. 69](#)).

*F. excelsior* und *F. ornus* zeigten dieselben cp-DNA-Haplotypen.

Es wurden Privatallele für *F. angustifolia* am Locus ccmp6 und ccmp7 gefunden.

Die cp-DNA-Mikrosatelliten ccmp3 und ukk3 scheinen hingegen nicht für die diagnostische Artbestimmung geeignet zu sein ([Abb. 70](#) und [Abb. 69](#)).

Die [Tabelle 19](#) fasst die beobachteten cp-DNA Haplotypen für jede untersuchte Art zusammen.

## 4 Diskussion

### 4.1 Prüfung der Überflutungstoleranz

Die Genorte ADH-A und ADH-B konnten, wie schon früher dieses Enzym an anderen Forstbaumarten, in der Analyse des Enzymsystems ADH beobachtet werden (Quiroga *et al.*, 2005; Ribeiro and Lovato, 2004; Premoli, 2003; Lewandowski, 2000).

Dennoch wurde in manchen Untersuchungen (Lumaret *et al.*, 2004; Demesure *et al.*, 2000; Hertel, 1996) lediglich ein Genort gefunden. Diese Diskrepanzen sind wahrscheinlich auf Unterschiede in der ontogenetischen Periode sowie auf Unterschiede in der Art des verwendeten Materials zurückzuführen.

Pflanzliche Zellen, die anaeroben Bedingungen ausgesetzt sind, beinhalten typischerweise ADH (Davies, 1980). Beispielsweise können Samen die während der Imbibition unter temporärer Anaerobiose (Bewley and Black, 1978) stehen und das vaskuläre Kambium von Bäumen, welches von der Luft durch die Rinde und das sekundäres Phloem getrennt ist, unter verschiedenen Niveaus von Hypoxia sein (Kimmerer and Stringer, 1988).

Dieses könnte als Erklärung für die zwei Aktivitäts-Zonen gewertet werden, die in diesem Experiment am Kambial-Gewebe, wo die ADH-Aktivität eventuell stärker als an anderen Geweben ist, beobachtet werden.

Die Allel-Frequenzen am Genort ADH-B ermöglichen es, die sechs untersuchten Herkünfte in zwei Gruppen zu trennen; eine beinhaltet die Rheinaue und die Vogesen und die andere Gruppe die übrigen Populationen. Die erste Gruppe ist durch Major-Polymorphismus für die Allele 3 und 4 charakterisiert, wobei das letztere deutlich dominiert.

Die Bayerische Herkunft präsentiert Minor-Polymorphismus und die anderen Herkunftsgebiete besitzen das Allel 3 mit mittleren Frequenzen. Diese letztere Profilart, bei der manche Allele mittlere Frequenzen besitzen, könnte durch eine temporäre Störung in den Populationen oder durch eine beschleunigte evolutionäre Änderung der genetischen Strukturen erklärt werden (Gregorius and Bergmann, 1995).

Einigen Autoren ist es gelungen, Korrelationen zwischen Allel-Frequenzen und Umwelt-Gradienten zu finden (Sander *et al.*, 2000; McDonald *et al.*, 2003). Andere wiederum hatten dabei keinen Erfolg (Neel *et al.*, 1996; Sáenz-Romero *et al.*, 2003). Im vorliegenden Projekt wurden keine Korrelationen mit Höhe, Temperatur oder Niederschlag gefunden.

Das Allel 4 dominiert in allen Populationen. Darüber hinaus es ist hauptsächlich homozygot vorhanden, mit Ausnahme in der Herkunft „Rheinaue“, wo der Prozentsatz des Genotyps 34 leicht höher ist als der des Genotyps 44. Es könnte hypothetisiert werden, dass das Allel 4 einem generalistischen Gen entspricht, das in einer breiten Umweltamplitude auftritt. Bei Allel 3 ist die Frage der Spezialisierung möglich. Spezialisierte Gene codieren eine bessere Anpassung an bestimmte Standortformen (Van Tienderen, 1997; Guntrip *et al.*, 1998). Die höchsten Prozentwerte des Allels 3 sind an der Rheinaue zu beobachten. Hier dominiert außerdem das Heterozygot 34 über das in den anderen Herkunftsn immer häufigere Homozygot 44. Da der Genort ADH eine wichtige Rolle in der Eigenschaft der Überflutungstoleranz spielt, könnte vermutet werden, dass das Allel 3 eine Adaptation zu den standörtlichen Überflutungsbedingungen reflektiert. Es wäre somit der „Überflutungs-Spezialist“.

Jedoch gibt es mehrere Gründe, diese Hypothese abzulehnen. Zum einen zeigt die Herkunft „Elbaue“ nicht die gleiche genetische Struktur, obwohl hier periodische Hochwasserereignisse auftreten und somit vergleichbare standörtliche Bedingungen herrschen. Die Tatsache dass die Überflutungen an der Elbe eher während der Winterruhe stattfinden, könnte diesen Unterschied erklären. Weiterhin wurden sehr ähnliche Strukturen bei der Herkunft Vogesen gefunden obwohl hier andere geoklimatischen Bedingungen herrschen. Zuletzt waren die Frequenzen der Genotypen 33 und 34 in den überfluteten Bereichen beider Auen geringer als in der Altaue. Dies deutet an, dass das Allel 3 eher sensibel gegenüber Überflutungen ist.

Zur Erklärung der höheren Allelfrequenzen von Allel 3 sollten andere ökologische Faktoren als regelmäßige Überflutungen in Betracht gezogen werden.

Hydrochorie, die Verbreitung reproduktionsfähiger Pflanzenteile über Wasser könnte ein Grund sein, warum die genetischen Strukturen der Herkunft „Vogesen“ ähnlich denen der Rheinaue sind. Vogt *et al.* (2004) kommen zu dem Schluss, dass Hydrochorie ein wichtiger Verbreitungs-Mechanismus für viele Pflanzen ist, der die Komposition und Diversität der Auenvegetation beeinflussen kann. Tatsächlich wurde dieses Phänomen an *F. ornus* entlang des Flusses Hérault in Südfrankreich beobachtet. Hier war die Hydrochorie der Grund für die schnelle Verbreitung dieser Art (Thebaud *et al.*, 1991).

Im vorliegende Fall könnten die in den Rhein entwässernden Vogesenflüsse zur Verbreitung der Eschenpopulationen beigetragen haben, was einen Hinweis auf die beobachteten Ähnlichkeiten der genetischen Strukturen geben könnte.

Zusätzlich kann die Allel-Verteilung einer Population auch einen menschlichen Einfluss reflektieren. Die Flussauen sind seit langem starken antropogenen Einflüssen unterworfen (Gläser, 2005; Vreugdenhil, 2006). So wurden im 19. Jahrhundert Eschen gepflanzt ohne das dabei die Wahl der Provenienz eine Rolle gespielt hat (Schnitzler, 1994; Trémolières *et al.*, 1998; Volk, 2003; Minckewitz, 1954; Schauer, 1970; Gläser, 2001). Die meisten Pflanzungen wurden mit Pflanzgut durchgeführt, welches von örtlich entfernten Populationen stammte und unter ganz anderen Standortbedingungen aufgewachsen war.

Beispielgebend ist hier das Elbe-Biosphärenreservat, wo unter 16 Forstämtern Wörlitz den höchsten Prozentsatz fremder Arten zeigt (Jäger *et al.*, 2006). Dies könnte den erwähnten Unterschied zwischen den Lödderitzer und Wörlitzer Populationen erklären.

Die Überflutungstoleranz kann man als das Vermögen der Pflanzen verstehen, anaerobe Bedingungen bei Überflutung eine gewisse Zeit lang zu überleben. Es gibt Hinweise dafür, dass Pflanzen unter solche Bedingungen, besonders zu Zeiten hoher physiologischer Aktivität, leiden. Vor der Beurteilung der Ergebnisse der physiologischen Untersuchung sollte daher berücksichtigt werden, dass die experimentellen Bedingungen bei der Versuchsreihe in diesem Projekt einer Überflutung bei stehendem Wasser entsprechen. Diese Art von Überflutung unterscheidet sich ökologisch von den Überflutungen bei fließendem Wasser, die hauptsächlich nach der spätwinterlichen Schneeschmelze im Bereich größerer Flüsse vorkommen. Hier ist das Wasser kalt und sauerstoffreich. Bei stehendem Wasser, ist der Sauerstoffgehalt infolge verschiedener Fäulnisprozesse (besonders bei sommerlichen Temperaturen) deutlich niedriger. Außerdem können sich regelmäßig toxische Substanzen (organische Säuren, Schwefelwasserstoff u.a.) bilden, die eine zusätzliche Belastung für die Pflanzen darstellen. Die Pflanzen wurden außerdem während der Wachstumsperiode

untersucht. Unter diesen experimentellen Bedingungen wird versucht, das möglich belastendste Szenario zu simulieren, um die Pflanzen unter extremen Zuständen zu testen. Dabei werden die größten Unterschiede vermutet.

Die photosynthetische Effektivität, die u.a. durch die Assimilation und Fluoreszenz sowie durch die Transpiration und die Stomatäre Öffnung bestimmt wird, kann ein guter Indikator des Zustandes einer Pflanze unter unterschiedlichem Umwelteinflusse sein. Sie wird daher mehrmals dafür verwendet, um verschiedene Arten in ihrer Toleranz gegenüber Anoxia zu charakterisieren (Newsome *et al.*, 1982, Dreyer *et al.*, 1991, Yetisir *et al.*, 2006). McLeod *et al.* (1999) z. B., konnten die Überflutungstoleranz von vier *Quercus* Arten bezüglich ihrer photosynthetischen Reaktion während einer Überflutung in zwei Gruppen einordnen. Dabei konnten zwei unterschiedliche Reaktions-Muster beobachtet werden. Die toleranten Arten zeigten eine eher verzögerte Senkung der Photosynthesewerte unter überfluteten Bedingungen (ab 25 Tage der Überflutung) während die Arten, die als wenig tolerant eingestuft waren, sofort mit eine deutlichen Senkung der Assimilation und der Stomatären Öffnung reagierten (ab dem ersten Tag der Überflutung).

Bei der Versuchsreihe 2004 ist an allen drei untersuchten Herkunftten eine Erhöhung der Assimilation der überfluteten Pflanzen während des ersten Tags der Überflutung im Vergleich zur Kontrolle beobachtet worden. Hier handelt es sich sehr wahrscheinlich um einen „Bewässerungseffekt“, dersich eher positiv auf die Pflanzen auswirkt. Die Messung der Chlorophyllfluoreszenz stimmt mit diesen Beobachtungen überein, da die Quantenausbeute der überfluteten Pflanzen am ersten Tag der Überflutung höher als die Werte der Kontrollpflanzen ist.

Im weiteren Verlauf des Versuches 2004 sanken die Photosynthesewerte sowohl an den überfluteten Pflanzen als auch an den Kontrollpflanzen. Die hohen, stressauslösenden Temperaturen im Gewächshaus haben zusätzlich zu diesem Effekt beigetragen. Diese Belastung hat sich am deutlichsten während der zweiten Überflutungsperiode bemerkbar gemacht. Mit fortschreitender Zeit fand keine Anpassung der Pflanzen an die Bedingungen des Experiments statt, statt dessen wurden sie zunehmend geschwächt.

Bei der Herkunft Rastatt konnte, abgesehen vom 1. Tag der Überflutung, kein signifikanter Unterschied mehr zwischen Überfluteten- und Kontrollpflanzen beobachtet werden. Bei der Versuchsreihe 2005 war hingegen nach dem 10. Tag der Überflutung eine signifikante

Senkung der Assimilation in Vergleich zur Kontrolle messbar. Diese Diskrepanzen können durch die unterschiedlichen experimentellen Bedingungen verursacht worden sein.

Ein Schließen der Stomata als Reaktion auf anoxische Bedingungen und folglich eine Reduktion der Photosyntheseleistung ist von mehreren Autoren beobachtet worden (Zhang *et al.*, 1987, Smith *et al.*, 1988, Vu *et al.*, 1991, Dat *et al.*, 2004). Das Verhalten der Stomata ist ein wichtiger Faktor, der die Überflutungstoleranz verschiedener Eschenarten mitbestimmen kann. Bei *F. pennsylvanica*, die als besonders tolerante Art gegenüber Wasserstress gilt, ist eine schnelle Reaktion auf anoxische Bedingungen durch Schließen der Stomata nach einem Überflutungstag nachgewiesen worden (Tang *et al.*, 1984). Die Stomata öffneten sich wieder nach fünf Tagen, was auf eine Anpassung an die Stressbedingungen hindeutete. Es wurde auch festgestellt, dass sich nach Wasserabzug 28 Tage später, die Öffnung der Stomata wieder bis zu den Werten der Kontrollpflanzen steigerte.

In der Versuchsreihe 2004 konnte keine signifikante und einheitliche Reaktion der Stomata erkannt werden und in keinem Fall eine signifikante neue Öffnung dieser Zelle. In der Versuchsreihe 2005, konnte die Assimilationssenkung der überfluteten Pflanzen „Rastatt“ teilweise auf den Schluss der Stomata zurückgeführt werden, da eine signifikante Senkung der stomatären Öffnung auch nach dem 10. Tag gemessen wurde. Beim Herkunftsgebiet „Schwäbische Alb“ ist nach der „Erholungsphase“ (Tag 14+7) eine leichte und signifikante Tendenz in Richtung Öffnung der Stomata zu beobachten, sowie eine leichte und signifikante Erhöhung der Transpirationswerte. Dennoch ist die Erhöhung der Photosynthese nicht signifikant. Ein möglicher Grund hierfür ist, dass die Erholung des Photosynthetischen Apparates mehr Zeit benötigt um wieder funktionsfähig zu sein.

Bei der Versuchsreihe 2004 wurde bei den Herkünften „Schwäbische Alb“ und „Schwarzwald“ eine signifikante Senkung der Assimilation jeweils nach dem 14. und nach dem 3. Tag beobachtet. 2005 zeigte die Herkunft „Schwäbische Alb“ nach dem 10. Tag der Überflutung deutlich niedrigere Photosynthesewerte, die erst nach der „Erholungsphase“ (Tage 14 u. 7) signifikant wurden. Dies könnte als eine permanente Schädigung der Stomata interpretiert werden. Außerdem wurde bei dieser Herkunft am 10. Tag der Überflutung eine signifikante Senkung der Quantenausbeute gemessen, was die Beobachtung unterstützt, dass die Pflanzen dieser Herkunft die künstliche Überflutung nicht länger als 14 Tage ohne deutliche Schäden überstehen können.

Die Pflanzen der Art *F. angustifolia* erlitten keine signifikante Senkung der Photosynthese im Messzeitraum. Ähnlich zeigte die Messung der Chlorophyllfluoreszenz, dass die photochemische Effektivität nicht durch die Überflutung beeinflusst wurde. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass diese Art gut an Sauerstoffmangel adaptiert ist. An *F. angustifolia* sind zudem leichte aber nicht signifikant höhere Werte des Chlorophyllgehaltes gemessen worden, was die erhöhten Werte der Quantenausbeute erklären und unter Sauerstoffmangel von Vorteil sein könnte.

Dass bei dem Versuch im Herbst 2004 die Quantenausbeute der überfluteten Pflanzen nicht signifikant von der Ausbeute der Kontrollpflanzen abwich, kann mit den unterschiedlichen experimentellen Bedingungen die zu diesem Zeitpunkt herrschten, erklärt werden. Der Versuch fand zwar auch bei stehendem Wasser statt, das Wasser war jedoch sehr kühl, der Sauerstoffgehalt infolgedessen sicherlich deutlich höher und die Zeit starker physiologischer Aktivität war vorbei. Dabei sank aber doch die Nettophotosynthese. Es konnte nicht geklärt werden, ob dieser Rückgang auf die Überflutung oder auf die fortgeschrittene Jahreszeit zurückzuführen war.

Es ist seit Langem bekannt, dass Wurzeln überfluteter Pflanzen paradoxerweise eine stark verringerte Permeabilität für Wasser aufweisen, so dass diese, obwohl im Wasser stehen, unter Wassermangel leiden (Russel, 1977). Dies stimmt mit neuen Forschungen über die sog. Aquaporine überein (Holbrooke *et al.*, 2003). Aquaporine sind hoch selektive, in den Plasmamembranen der Wurzelzellen angesiedelte Proteine, die bei Überflutung infolge sinkendem pH-Wert im Zellinneren die Wasseraufnahme blockieren. Über Hintergründe dieser Erscheinung gibt es bisher nur Vermutungen. Bei zukünftigen Untersuchungen sollte daher auf jeden Fall die Untersuchung des Wasserhaushaltes der Versuchspflanzen (z.B. Wasserpotentialmessungen mit der Scholander-Druckkammer) in die Arbeiten mit einbezogen werden.

Gleichwohl sollten dabei auch die verschiedenen Überflutungsarten (mit stehendem oder fließendem Wasser, kalt oder warm) experimentell berücksichtigt werden. Wünschenswert wären Versuchspflanzen mit weniger nährstoffreichem Wurzelsubstrat und ohne Verpflanzungsschock.

Nach der Crawford-Hypothese (Crawford, 1978) sollen die Arten mit der Fähigkeit unter Sauerstoffmangel die Ethanolische Fermentation zu verlangsamen und somit hohe

Konzentrationen von Ethanol zu vermeiden, toleranter gegenüber Anoxia sein. Dennoch sehen mehrere Autoren in dieser Hypothese mehrere Inkonsistenzen (eine Übersicht ist in Jackson *et al.*, 1984 zu finden), z.B. in der Tatsache, dass mehrfach hohe ADH-Aktivitäten unter Sauerstoffmangel-Stress und hohe Ethanolkonzentrationen für überflutungstolerante Arten beobachtet worden sind (Chirkova, 1978; Smith, 1979; Good *et al.*, 1987).

Beim Versuch 2004 erhöhte sich die ADH-Aktivität schon während einem Tag der Überflutung, wobei die Unterschiede zwischen Kontrolle und den Herkünften „Rastatt“ und „Schwäbische Alb“ erst ab den dritten Tag signifikant wurden. Die Herkunft „Schwarzwald“ zeigte eine nicht so schnelle Erhöhung der ADH-Aktivität, was nach der Crawford Theorie auf eine höhere Reaktionskapazität gegenüber einer Überflutung hindeuten könnte, aber nach anderen Autoren eine reduzierte Überlebenskapazität unter Sauerstoffmangel bedeuten könnte (Jackson *et al.*, 1984). Eine schnelle Erhöhung der ADH-Aktivität ist bei der überflutungstoleranten Art *Syzygium samarangense* beobachtet worden (Lin *et al.*, 1992): Schon nach einem Tag war die ADH-Aktivität deutlich erhöht. Die Steigerung der Aktivität setzte sich während der ganzen Überflutungsbehandlung (7 Tage) fort. Während dieser Zeit, wurden drei neue ADH-Isoenzyme aktiviert, die mittels Elektrophorese nachgewiesen werden konnten. Ähnliche Folgen des Sauerstoffmangels wurden bei der Art *Momordica charantia* beobachtet (Lin *et al.*, 1995). Hier erhöhte sich die ADH-Aktivität signifikant nach dem ersten Tag der Überflutung und die stärkste Aktivität konnte nach dem 3. Tag gemessen werden. Anschließend nahm die Aktivität nicht signifikant ab. Eine neue ADH-Isoform wurde dabei aktiviert.

An der Herkunft Rastatt fand eine stetige Erhöhung der ADH-Aktivität bis zum 7. Tag der zweiten Überflutung statt. Ab diesem Zeitpunkt nahm die Aktivität ab. Bei der Herkunft „Schwäbische Alb“ nahm die ADH-Aktivität ebenfalls ab dem 7. Tag der zweiten Überflutung ab. Dies könnte bedeuten, dass die Pflanzen nach zwei Überflutungsperioden so gestresst waren, dass sie nicht mehr fähig waren, weiter ADH effektiv zu produzieren. Der schlechte Zustand der Wurzeln zu diesem Zeitpunkt unterstützt diese Hypothese.

Bei der Herkunft „Schwäbische Alb“ ist außerdem eine deutliche Senkung der ADH-Aktivität nach dem 14. Tag der Überflutung zu beobachten. Dieser Senkung könnte derjenigen entsprechen, die nach dem 10. Tag der Überflutung bei der Versuchsreihe 2005 auch zu beobachten war. Eine derart schnelle Reduktion der ADH-Aktivität könnte auf den schlechten Zustand der Pflanzen zu diesem Zeitpunkt zurückzuführen sein. Diese Beobachtung widerspricht der Crawford Hypothese.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Rastatter Pflanzen bei der Versuchsreihe 2005 stimmen mit denen der Versuchsreihe 2004 überein. Dabei stieg die Aktivität des Enzyms ADH ab dem 3. Tag bis zum 10. Tag der Überflutung an. Der Unterschied zur Kontrolle am 3. Tag war nicht signifikant, was auf die hohen Varianzen bei den Kontrollpflanzen zurückzuführen war.

Die Pflanzen der Art *F. angustifolia* verhielten sich ähnlich wie die Pflanzen der Art *F. excelsior*. Mittels der beschriebenen Parameter läßt sich die höhere Toleranz der schmalblättrige Esche nicht erklären.

Die Ethanol-Akkumulation in der Wurzel wird durch die Steigerung der ADH-Aktivität bestimmt (Good *et al.*, 1993). In den Versuchsreihen 2004 und 2005 sank aber die Ethanolkonzentration in Xylemsaft trotz Anstieg der ADH-Aktivität in den Wurzeln. Diese Diskrepanz wäre durch eine Exudation des Ethanols über die Wurzel erklärbar, was bereits früher durch mehrere Autoren an verschiedenen Arten beobachtet wurde (Crawford, *et al.*, 1989; Hook *et al.*, 1973) Die Exudation vermeidet somit, dass eine Vergiftung des Gewebes durch erhöhte Ethanolkonzentrationen stattfindet. Dies könnte die Annahme unterstützen, dass die Eschen eine an Überflutungen relativ gut adaptierte Art sind. Liao *et al.* (1995) berichteten über eine Senkung der Ethanol-Konzentration im Wurzelgewebe der toleranten Art *Momordica charantia*. Parallel zur Erhöhung der AHD-Aktivität, erhöhte sich auch die Konzentration des Ethanols in den Wurzeln signifikant nach dem 3. Tag der Überflutung. Nach dem 5. Tag nahm die Ethanolkonzentration unter den Wert der Kontrollpflanzen ab. Dieses Phänomen wird auch mit der Exudation des Ethanols aus den Wurzeln erklärt.

Bei der Versuchsreihe 2005 konnte nach dem 10. Tag der Überflutung kein Xylemsaft aus den Pflanzen der Herkunft Schwäbische Alb extrahiert werden. Dies ist auf den schlechten Zustand der Pflanzen zu diesem Zeitpunkt zurückzuführen und auf ein entsprechend hohes Wasserpotential in den Geweben. Die Pflanzen der anderen untersuchten Herkünfte (Rastatt, *F. angustifolia*) waren im Vergleich nicht so sehr geschädigt, was auf eine höhere Verträglichkeit des Sauerstoffmangels hindeuten könnte.

In zahlreichen Untersuchungen ist es gelungen, neue Isoformen des Enzyms ADH unter Sauerstoffmangel nachzuweisen (Liao *et al.* 1995; Lin, *et al.* 1992; Ke *et al.*, 1995). Dennoch konnte in dieser Studie nur die erhöhte ADH-Aktivität bestätigt werden. Die Isoenzymanalyse zeigte keine neuen Formen des ADH-Enzyms weder für eine der untersuchten Herkünfte innerhalb der Art *F. excelsior*, noch für die Pflanzen der Art *F. angustifolia*. Bei letzterer Art

wurde dennoch eine höhere Anzahl an Isoformen beobachtet, was einen besseren Ausgangspunkt im Fall einer Überflutung bedeuten könnte, falls diese neue Isoenzyme unterschiedliche kinetische Eigenschaften haben.

Dazu Fagerstedt *et al.* (1986) und Lin *et al.* (1992): „Ein geringerer Wert der scheinbaren Michaelis-Menten-Konstante ( $K_m$ ) der ADH für Acetaldehyd, erlaubt möglicherweise der Ethanol-Reaktion, besser mit der Laktat-Glykolyse konkurrieren zu können wodurch die cytoplasmatische Säurebildung vermieden wird“.

Es ist bekannt, dass Sauerstoffmangel die Rate der Kohlenhydrat-Translokation reduzieren kann (Waters *et al.*, 1991; Albrecht *et al.*, 1993). Dieser Effekt konnte auch an den untersuchten Eschen in den Jahren 2004 und 2005 beobachtet werden. Die Analyse des Kohlenhydrat-Haushalts hat gezeigt, dass Mannitol einen wichtigen Beitrag bei der Erhöhung der gesamten Zucker-Konzentration der überfluteten Pflanzen leistete.

Mannitol ist ein Zuckeralkohol, der teilweise für die hohe Trockentoleranz der Esche verantwortlich ist, wie Guicherd *et al.* (1997) nachgewiesen haben. Dabei sorgt Mannitol, zusammen mit Malat für die Erhaltung des osmotischen Gleichgewichts im Blatt, dessen Turgor somit für eine gewisse Zeit gesichert werden kann. Unter diesem Aspekt könnte ein Zusammenhang zwischen der Reaktion der Pflanzen auf Trockenstress und der Reaktion unter Sauerstoffmangel hergestellt werden, was weitere Untersuchungen notwendig machen würde.

Die Eschen der Art *F. angustifolia* zeigten bezüglich des Verlauf der Zucker-Konzentration während der Überflutung ein anderes Verhalten als die Eschen der Art *F. excelsior*. Dabei blieb die Zucker-Konzentration in den Wurzeln der überfluteten Pflanzen auf einem ähnlichen Niveau wie nach dem 3. Tag der Überflutung. Im Gegenteil dazu sank bei den Pflanzen „Rastatt“ und „Schwäbische Alb“ die Zucker-Konzentration. Diese Senkung könnte auf den „Pasteur-Effekt“ zurückzuführen sein. Hier handelt es sich um eine erhöhte Aktivität der Glykolyse, die dazu dient, das notwendige ATP unter Sauerstoffmangel bereitzustellen (Biemelt *et al.*, 1999). Da bei *F. angustifolia* dieser Effekt nicht festzustellen ist, könnte vermutet werden, dass die Effektivität der Respiration in der Wurzel wieder hergestellt wurde, so dass kein zusätzlicher Verbrauch von Kohlenhydraten notwendig war.

Im Blattgewebe konnte ein Rückgang der Konzentration nach dem 10. Tag der Überflutung bis zu einem Niveau beobachtet werden, dass mit dem der Kontrollpflanzen vergleichbar ist, was auf einer Wiederherstellung der Kohlenhydraten-Translokation hinweisen könnte. Ob

und in wie weit dieses unterschiedliches Verhalten in Wurzeln und Blättern von *F. angustifolia* eine Rolle für eine höhere Toleranz spielt, soll mit weiteren Experimenten überprüft werden.

Ebenso soll weiter untersucht werden, ob die verspätete Erhöhung der Zucker-Konzentration in Blattgewebe und Phloem der Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“ einen Hinweis auf eine geringere Überflutungstoleranz sein kann.

Angesichts der Ergebnisse der ANOVA-Analyse der Kohlenhydrat-Konzentration in Wurzel, Phloem und Blättern konnte bei den untersuchten Herkünften keine deutliche Einteilung in Ökotypen gemacht werden.

Die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen lassen auf eine erhöhte Sensibilität der Pflanzen für Umwelteinflüsse unter dem Stressfaktor „Überflutung“, schließen. Dabei konnte eine stärkere Reaktion der überfluteten Pflanzen auf den Einfluß des Lichts beobachtet werden. Um zu klären, mit welchen Faktoren diese Reaktion verbunden ist, sind weitere Experimente notwendig.

Diese Messmethode hat sich als sehr aufwendig erwiesen, sodass die Untersuchung von mehreren Pflanzen gleichzeitig nicht möglich ist.

Die drei Herkünfte „Rheintal“, „Schwäbische Alb“ und „Schwarzwald“ zeigten keine Unterschiede bezüglich ihrer Keimung (weder GP noch GV) unter aerobischen Bedingungen. Diese Parameter waren jedoch bei einer Messung des Provenanz-Faktors in einem Experiment an *F. angustifolia* ssp. *oxycarpa* in Tilki *et al.* (2005) signifikant beeinflusst, wobei der GV zwischen 29 und 48 je nach Herkunft des Samens und Art der Stratifizierung schwankte. Piotto *et al.* (1998) beobachteten ebenso signifikante Unterschiede zwischen mehreren italienischen *F. angustifolia*-Populationen, wobei der GV zwischen 9 und 76 schwankte. Dies deutet darauf hin, dass die in diesem Projekt untersuchten Populationen keine Unterschiede bezüglich ihrer Keimungsfähigkeit zeigten.

Die Keimung von *F. excelsior* unter Wasser wurde bisher noch nie untersucht. Dennoch wurde auf die Frage, ob Baumarten unter Überflutungsbedingungen keimen können, schon mehrfach eingegangen. Alle Untersuchungen ergaben, dass das Ergebnis hauptsächlich von der Baumart abhängig ist. DuBarry (1963) beobachtete, dass die Arten Grün-Esche (*F. pennsylvanica* Marsh.) und Wasser-Esche (*F. caroliniana* Mill.) auch unter Wasser keimen.

Sie keimten besser als die Kontrolle. Dieses konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Derselbe Autor berichtete von “Unter-Wasser-Keimung” bei amerikanischer Ulme (*Ulmus americana* L.) und Platane (*Platanus occidentalis* L.). Hosner (1957) hingegen erhielt für diese zwei Arten unterschiedliche Ergebnisse, da sie während der Immersion nicht keimten. Diese widersprüchlichen Beobachtungen könnten durch unterschiedliche Durchführung der Experimente bedingt sein (Crocker *et al.*, 1957). Wie DeBell *et al.*, (1972) zeigen, keimten Samen von Swamp tupelo (*Nyssa sylvatica* var. *biflora* Walt. Sarg.) nicht in überfluteten Böden, wohl aber unter Wasser. Die Autoren benannten niedrige Sauerstoff-Zufuhr und mikrobische Komplikationen als mögliche Gründe für solche Unterschiede. Deswegen sollten die in diesem Projekt an Eschen-Saatgut durchgeführten Experimente auch in überfluteten Böden durchgeführt werden, damit die Ergebnisse mit denen sich unter natürlicheren Bedingungen ergebenden, vergleichbar wären. Da die Temperatur beim Keimungsvorgang stark dessen Erfolg beeinflusst (Piotto, 1994), sollten außerdem unterschiedliche, und vor allem höhere Temperaturen auf ihren Einfluss auf die Keimung getestet werden, um neben einer Frühlings-Überflutung auch eine Sommer-Überflutung simulieren zu können.

Manche Gattungen wie *Salix* sp. und *Populus* sp. können keimen, sobald ihre Früchte reifen und die Samen ins Wasser absinken (Hosner, 1957; Guilloy-Froge, 2002; Cremer, 2003). Andere keimen erst, wenn sie wieder in Kontakt mit der Luft kommen, das heißt, sie verzögern ihre Keimung bis die Umweltbedingungen günstig für das Sämlingswachstum sind. In einigen Fällen, je nach Taxa und Überflutungslänge, kann die Lebensfähigkeit der Samen geschädigt werden, was sich in einem niedrigerem Keimungsprozent widerspiegelt (Toumey *et al.*, 1923; Briscoe, 1961; DeBell *et al.*, 1972; Guo *et al.* 1998; Walls *et al.*, 2005). In anderen Fällen werden die Keimungsprozente durch die Überflutung nicht reduziert, es wird jedoch eine Verspätung der Keimung nach Erreichen des normalen Wasser-Niveaus beobachtet (Hosner, 1957; Hook, 1984; Neely *et al.*, 1993; Jones *et al.* 1997; Guo *et al.*, 1998).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die gemeine Esche keinem dieser drei Fälle zugeordnet werden kann. Um die ökologische Bedeutung unserer Befunde zu definieren, müssen mehrere Faktoren, die eine Rolle für das Überleben der Sämlinge auf regelmäßig überfluteten Auen spielen, berücksichtigt werden. Die gemeine Esche wird als durchschnittlich tolerant gegenüber Sommer-Überflutungen beschrieben (Trémolières *et al.*, 1998; Glenz *et al.* 2006). Das Toleranz-Niveau ist von mehreren Faktoren abhängig. Das Alter der Pflanze sowie der saisonale Zeitpunkt der Überflutung spielen eine Hauptrolle. Siebel *et al.* (1998) berichteten,

dass die Toleranz von Eschen-Pflanzen positiv mit dem Alter der Pflanze korrelierte und dass wenige Wochen Überflutung im Sommer ausreichten, um hohe Ausfälle zu verursachen. Im Gegenteil dazu konnten die Pflanzen im Frühjahr ca. 8 Wochen bei kompletter Überflutung überleben. Die Dauer der Überflutung ist ein weiterer wichtiger Aspekt, der das Überleben der Sämlinge beeinflusst. Die Grün-Esche konnte eine Sommer-Überflutung bis zu 16 Tage überleben. Nach 32 Tagen waren jedoch alle Pflanzen tot (Hosner, 1958). Nach dieser Beobachtung kann die Hypothese aufgestellt werden, dass eine verspätete Keimung als Adaptationsmechanismus wirkt, der verhindert, dass die Samen während der Überflutung keimen oder der erreicht, dass die Sämlinge nicht oder möglichst kurz unter anaerobischen Bedingungen wachsen müssen. Diese Idee teilen mehrere Autoren. Sie stellen fest, dass die Überlebens-Kapazität der Sämlinge eng mit dem saisonalen Auftreten der Überflutungen, der Frucht-Reifung und Keimung zusammenhängt (Harper, 1977; Schneider *et al.*, 1988; Blom *et al.*, 1996; Deiller *et al.*, 2003). Die Gemeine Esche ist eine der Baumarten die im Frühjahr als erste keimen, nachdem die Früchte jedoch ein Jahr nach Fruchtreife überlegen haben (Villiers, 1975; Bloom, 1999). Bei den in der Rheinaue im Regelfall frühen Hochwasserereignissen im Frühjahr nach Schneeschmelze oder Anfang des Sommers (Schnitzler, 1994; Deiller *et al.*, 2003) befinden sich die Eschensämlinge folglich noch in einem jungen Entwicklungsstadium und könnten so durch das anoxische Umfeld gefährdet werden. Wenn die transiente Samen-Bank dieser Art (Thompson *et al.*, 1996) fähig ist, neue Pflanzen langsam nach und nach frei zu setzen, könnte die Rekrutierung neuer Individuen und ihr Fortbestand zum Teil gesichert werden. Andererseits kann eine verspätete Keimung auch Nachteile aufweisen:

Die zuerst gekeimten Samen können besser um Licht und Nährstoffe konkurrieren. Außerdem können mit zwei bis drei Wochen Keimverzögerung zum Ende der Vegetationsperiode Verzögerungen im Ausreifen der Jungpflanzen auftreten, die mangelnde Frosthärte bedeuten können (Streng *et al.*, 1989; Jones *et al.*, 1994; Tremblay *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 1997).

Manche Baumarten bilden in Zusammenhang mit ihrem Standort entlang eines Feuchte-Gradienten einer Aue, sogenannte "Keimungs-Ökotypen" aus. Stromberg *et al.* (1990) bewiesen beispielsweise, dass Saatgut der Arizona-Walnuss (*Juglans major* (Torrey) Heller) besser in wassergetränkten Böden keimte, wenn es entlang dauerhafter Wasserströme gesammelt wurde, als wenn das Saatgut aus temporären oder sporadischen Wasserläufen stammte. In der vorliegenden Untersuchung konnten keine Unterschiede bei den Keimungsprozenten und Keimungswerten (unter aerobisch und anaerobischer Behandlung) zwischen den drei Herkünften festgestellt werden. Dieses Resultat unterstützt die

Schlussfolgerung von Weiser (1995), der behauptete, dass die mutmaßlichen Eschen-Ökotypen sich nicht in ihrem Keimungspotential unterscheiden. Dies würde bedeuten, dass alle drei Herkünfte die gleichen Möglichkeiten hätten, sich entlang regelmäßig überfluteter Auen zu etablieren.

Dennoch wird den Waldbesitzern empfohlen, regional angepasstes Vermehrungsgut zu verwenden, da Faktoren wie die Resistenz der Sämlinge gegenüber Immersion, Entwurzelung durch die Strömung, Schädigungsanfälligkeit durch Treibholz, sowie Überflutungstoleranz in älteren Lebensstadien herkunftsspezifisch ausgeprägt sein können.

Für eine Bewertung der Nachkommenschaftsprüfung ist es noch zu früh. In der Regel können erste aussagekräftige Rückschlüsse eines solchen Versuches erst nach 10 Jahren gezogen werden (Kleinschmit *et al.*, 1996). Nach erstem Eindruck scheint die Nachkommenschaft der „Samenplantage Zähringen“ besser an die Bedingungen im Bereich der Versuchsfläche Rastatt adaptiert zu sein, da sie dort das stärkste Wachstum aufweist. Dennoch sind die Unterschiede im Vergleich mit den Herkünften „Rastatt“ und Bad Urach nicht signifikant. Außerdem ist es nicht auszuschließen, dass die Unterschiede nicht durch die Überflutungen verursacht sind, sondern dass der „Ökotyp-Effekt“ (Kleinschmit *et al.*, 1996) beobachtet wurde

Diese ersten Tendenzen können sich in Zukunft noch ändern, wie Weiser (1995) an einem Eschen-Nachkommenschaftsversuch feststellen konnte. In einer Versuchsfläche wiesen vier verschiedene Herkünfte nur in den ersten zwei Jahren nach der Anpflanzung Unterschiede in den Höhen auf, während sich die Unterschiede 33 Jahre später relativiert hatten und nicht mehr feststellbar waren.

Sollte sich in Zukunft bestätigen, dass die Nachkommenschaften der Samenplantage Zähringen immer noch im Wachstum überlegen sind, würde das die Qualität dieser Samenplantage und ihre Eignung als Erntequelle für qualifiziertes Vermehrungsgut für die Rheinaue unterstützen. Wenn die Herkunft Rastatt ein ähnlich gutes Wachstum wie Zähringen aufweisen würde, könnte postuliert werden, für Aufforstungen von Flächen in den Rheinauen nur zugelassene Erntebestände aus demselben Bereich zur Beerntung zu verwenden. Dies würde der Schlussfolgerung von Weiser (1995), Provenienzen trockener Kalkstandorte für Anpflanzungen im Auenbereichen zu verwenden, widersprechen.

## 4.2 Herkunftsidentifizierung

Alle untersuchten Populationen zeigten einen viel höheren Polymorphismus als bisher an ersten Untersuchungen für Esche berichtet wurde (Brachet *et al.*, 1999; Lefort *et al.*, 1999). Die beobachtete Anzahl der Allele bei den Herkünften „Süddeutschland“ und „Vogesen“ war für die Mikrosatelliten-Loci Femsat112 und Femsat116 mindestens doppelt so hoch wie die bisher beobachtete, z.B. in bulgarischen Eschen-Populationen (Heuertz *et al.*, 2001). Dies ist wahrscheinlich auf die viel höhere Anzahl an untersuchten Individuen zurückzuführen.

Das Defizit an Heterozygoten führte in einigen Populationen zu positiven und teilweise hohen Werten des Parameters  $F_{IS}$ . Von allen möglichen Gründen für diese Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium ist der des anthropogenen Druckes, zusammen mit einer begrenzten Verbreitung von Pollen und Saatgut, am wahrscheinlichsten (Heuertz *et al.*, 2003). Die kalkulierten Prozentwerte für die eventuellen Null-Allele waren im Vergleich mit denen der beobachteten Allele relativ hoch, was einen Wahlund-Effect eher unwahrscheinlich macht. Morand *et al.* (2002) berichteten ähnliche Ergebnisse für die Mikrosatellite Loci Femsat111 and Femsat19.

Wie häufig bei Baumarten zu beobachten ist, war die genetische Differenzierung zwischen den Populationen niedrig ( $F_{ST}=0.04$ ). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Heuertz *et al.* (2004b) für West- und Mitteleuropa überein.

Durch die Ergebnisse kann die Hypothese unterstützt werden, dass ein Transport von Eschen-Pflanzenmaterial über lange Strecken in die Rheinauen stattgefunden hat. Diese Vermutung wird auch durch die niedrige Präsenz fossiler Eschenpollen im Rheintal nach der Eiszeit (Lechner, 2005) unterstützt.

Es wird vermutet, dass Pflanzenmaterial aus Bayern in die Rheinaue eingebracht wurde. Ebenso ist ein Transport von Pflanzenmaterial aus den Vogesen nicht auszuschließen. Die Tatsache, dass die Population „C“ aus der Rheinaue im Dendrogramm zusammen mit der Vogesen-Population eine Gruppe bildete, und dass die Populationen „D“ und „I“ mit der Population „Landsberg“ in Bayern eine Gruppe bildeten, unterstützen diese Vermutung.

Im Gegenteil dazu bilden die Populationen A und G zusammen einen separaten Cluster und es wird vermutet, dass hier autochthones Material ausschlaggebend ist.

Weniger wahrscheinlich erscheint, dass die Schwarzwald-Populationen einen Einfluss auf die Strukturen der Rheinaue haben. Es ist eher zu vermuten, dass sich diese Region isoliert und lediglich unter einem starkem menschlichen Druck entwickelt hat. Die Schwarzwald-Baumpopulationen waren vor 200 Jahren auf fast 18 % ihrer gesamten Fläche reduziert. Die damals verbleibenden Populationen waren der Ursprung für die Entwicklung der heutigen Wälder (Ludemann, 1994).

Privat-Allele an den Genorten Femsatl 12 bzw. Femsatl 4 erlauben eine qualitative Differenzierung zwischen den Populationen aus den einzelnen Herkunftsgebieten 81105, 81107 sowie 81108. Hiermit kann eine sichere Auswahl des richtigen, standortangepassten Pflanzenmaterials durch genetischen Nachweis gewährleistet werden.

Bezüglich der genetischen Strukturen der beiden Transekte in der Rheinaue, unterschied sich die genetische Differenzierung dieser Transekte nicht signifikant von der Differenzierung, welche am Genort ADH-B kalkuliert wurde. Dieses Phänomen, bei dem beide Marker ähnliche Werte für  $F_{ST}$  ergeben, wurde auch von Estoup *et al.* (1998) beobachtet. Diese Autoren erklärten es durch fehlende Selektionsprozesse. Dies unterstützt unsere Annahme, dass das geographische Muster auf Allozymen des Genorts ADH-B basiert und nicht auf Selektionsprozesse zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse der Chloroplasten-Mikrosatelliten stimmen mit denen der Nuklear-Mikrosatelliten überein und lassen den Schluß zu, dass ein starker anthropogener Einfluss auf die verschiedenen Herkünfte stattgefunden hat.

In den Rheinauen wurde die Mehrheit der im Projekt festgestellten Haplotypen (A, B, C, E, F) gefunden, was auf Pflanzenmaterial aus fremden Regionen zurückzuführen sein könnte. Von den Haplotypen in der Rheinaue hat Haplotyp A seinen Ursprung in den Alpen, B in den Alpen und/oder im Apennin, die als Rückzugsrefugien während der Eiszeit angesprochen werden können.

Die Pflanzen aus dem Herkunftsgebiet 81107 besitzen nur den Haplotyp „B“. Aus diesem Bereich wäre eigentlich durch die Überlappung der westlichen und östlichen Haplotyp-Abstammungen eine höhere Diversität zu erwarten gewesen. Die Ergebnisse deuten darauf

hin, dass hier ein starker menschlicher Einfluss die genetischen Verluste bei beiden Eschenpopulationen verursacht hat.

An der Elbe war der am häufigsten beobachtete Haplotyp H10, welcher von Heuertz *et al.* (2004a) nur in einer Population in der Tschechischen Republik gefunden wurde. Dies bedeutet sehr wahrscheinlich die Einführung fremden Pflanzenmaterials aus dieser Region. Die Einführung fremden Pflanzgutes könnte mit der Gründung des Wörlitzer Gartenreichs Mitte des 18. Jahrhunderts unter der Regierung des Fürsten Leopold III. Friedrich Franz von Anhalt-Dessau (1740–1817) verbunden sein. Der Fürst war von mehreren Reisen in europäische Nachbarländer so beeindruckt, dass er in Folge begann, sein Land durch gezielte Landschaftsgestaltungen aufzuwerten.

### **4.3 Charakterisierung der Samenplantage Zähringen**

Die genetische Variation an den vier Mikrosatelliten-Loci war innerhalb der Samenplantage ähnlich hoch wie bei den bisher in Europa beobachteten Eschenpopulationen (Heuertz *et al.*, 2001). Dabei ist in der Samenplantage ein großer Anteil der genetischen Variation der europäischen Esche enthalten, was die Sammlung wertvoll macht.

Die geringe Anzahl effektiver Allele weist auf viele seltene Allele hin und stimmt mit den Ergebnissen von Höltken *et al.* (2003) überein.

Dass eine Gesamtmenge von 22 Allelen ausschließlich im Samenkollektiv und nicht im Elternkollektiv beobachtet wurde, ist auf eine sehr hohe Pollenkontamination zurückzuführen, d. h., es gibt einen hohen Anteil effektiver Polleneltern außerhalb der Samenplantage. Der zum Betreiben von Samenplantagen erforderliche gesetzliche Mindestabstand von Bäumen gleicher Art von 400 m sollte hier eingehalten und alle externen Eschen innerhalb dieses Radius um die Plantage herum entfernt werden.

Die hohe genetische Ähnlichkeit zwischen Klonkollektiv (K) und Samenpopulation (S) ist eine sehr wichtige Grundlage für die Qualität des in dieser Samenplantage produzierten Saatgutes. Andererseits deutet die relativ hohe genetische Differenzierung zwischen Elternpopulation und verschiedenen Einzelbaumnachkommenschaften auf unterschiedliche Repräsentanz der einzelnen Klone in den verschiedenen Pollenwolken hin. Diese Ergebnisse

bedeuten, dass die genetische Diversität der Samenplantage nur dann im Saatgut repräsentiert ist, wenn das Saatgut von möglichst vielen Bäumen aus der ganzen Plantage genommen wird.

#### 4.4 Art-Bestimmung

Die Isoenzymanalyse am Genort ADH und PGI reflektiert sehr deutlich die taxonomische Einordnung der untersuchten Arten in der drei Subsektionen: „*Ornus*“ (*F. ornus* L.), „*Melioides*“ (*F. americana* L. und *F. pennsylvanica* Marsh.) und „*Bumelioides*“ (*F. excelsior* L. und *F. angustifolia* Vahl.) (Scheller, 1977). Eine Unterscheidung der Arten *F. americana* und *F. pennsylvanica* war nicht möglich, so dass die Charakterisierung weiterhin auf phänotypischen bzw. morphologischen Merkmalen beruhen muss. Die natürliche Hybridisierung dieser zwei Arten kommt nur sehr selten vor (Wright, 1965).

Die Differenzierung der Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia* ist mittels des Enzymsystems PGM möglich gewesen, welches die Detektion deren Hybriden in manchen Fällen ermöglichen würde.

Um *Fraxinus*-Arten voneinander zu differenzieren wurden bisher verschiedene Molekulare-Marker mit unterschiedlichem Erfolg angewendet. So konnte mittels Mitochondrien-DNA die Gruppe „*F. excelsior* und *F. angustifolia*“ von der Gruppe „*F. americana* und *F. pennsylvanica*“ differenziert werden (Morand *et al.*, 2001). Es war jedoch nicht möglich zwischen den Arten innerhalb einer Gruppe zu unterscheiden. Weiterhin konnten die Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia* mittels Ribosomaler DNA differenziert werden, nicht aber deren Hybriden (Jeandroz *et al.*, 1995). Gérard *et al.* (2006) konnten diese zwei Arten nur auf Populationsebene differenzieren.

In vorliegendem Projekt konnte mittels cpDNA-Marker die Abgrenzung von *F. americana* von den anderen Arten an den Loci *ccmp6*, *ccmp7* und *ccmp10* deutlich gemacht werden. Dennoch bleibt, wie in der oben erwähnten Studie, das Problem, die Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia* sowie deren Hybriden deutlich voneinander differenzieren zu können, ungelöst.

Die Identifizierung von *F. ornus* und *F. angustifolia* wäre in manchen Fällen über artspezifische Allele (Privatallele) bei Kern-Mikrosatelliten möglich, aber allgemein erlauben die untersuchten Kern-Mikrosatelliten keine klare Zuordnung der Arten.

Die Arten *F. americana* und *F. pennsylvanica* sind zwar beide sowohl in der Rhein- als auch in der Elbeaue verbreitet, sie stellen aber kein Problem dar, da sie morphologisch leicht

voneinander zu differenzieren sind und nur äußerst selten miteinander hybridisieren Sie können sich nicht mit *F. excelsior* und *F. angustifolia* kreuzen.

Insofern erweist sich die Isoenzymanalyse wieder als ein schnelles und preisgünstiges Werkzeug um eine sichere Art-Charakterisierung zu gewährleisten, wie es schon bei anderen Arten bewiesen wurde (Janssen, 1997; Ouazzani, *et al.*, 1993; Machon, 1995, 1997). Im Gegensatz dazu ist es nötig, die Methode der molekularen Marker weiterzuentwickeln, um die eindeutige Trennung der eng verbundenen Arten *F. excelsior* und *F. angustifolia* sowie deren Hybriden zu ermöglichen.

## **5 Schlussfolgerungen**

Das aktuelle Interesse an der Plastizität von Bäumen ergibt sich aus der Notwendigkeit, die Reaktion der verschiedenen Arten auf die globale Klimaänderung zu prognostizieren, welche sich in höheren Temperaturen sowie der Häufung von Starkniederschlägen und damit Überflutungen äußern kann (Chapin III *et al.*, 1993; Valladares *et al.*, 2006).

Die phänotypische Plastizität kann definiert werden als „die Fähigkeit eines gegebenen Genotyps verschiedene morphologische oder physiologische Phänotypen in Reaktion auf unterschiedliche Umweltbedingungen zu produzieren“ (Callaway *et al.*, 2003). Dass Eschen über eine große Plastizität verfügen, wurde schon früher von anderen Autoren behauptet. Sie erklären damit das ökologische Verhalten dieser Art, bezüglich Wasser- und Nährstoffhaushalt extreme Standorte besiedeln zu können (Bernard *et al.*, 1990; Carlier *et al.*, 1992; Weiser, 1995).

### **5.1 Zur Überflutungstoleranz bei Esche**

Aus den genetischen Strukturen am Genort ADH-B kann nicht hergeleitet werden, dass in der genetischen Variation der untersuchten Eschenpopulationen eine lokale Anpassung an regelmäßige Überflutungen stattgefunden hat. Andere Faktoren, wie genetische Drift, anthropogene Einflüsse und Hydrochorie sind eher der Grund für die beobachtete Verteilung der Polymorphismen. Die Analyse der neutralen Marker, der Nuklearen- und der Chloroplasten-Mikrosatelliten, hat die Vermutung eines starken menschlichen Einflusses auf die deutschen Eschenpopulationen bestätigt.

Vorsicht ist geboten, wenn die unter künstlichen Bedingungen gewonnenen Ergebnisse des Keimungsexperiments auf das Verhalten der Pflanzen im Freiland übertragen werden sollen. Es scheint, als ob das Saatgut aller drei untersuchten Herkünfte Rheintal, Schwäbische Alb und Schwarzwald gleichermaßen keimfähig ist. Dies gilt auch im Fall einer Überflutung; im Laborexperiment wird allerdings die Keimgeschwindigkeit verlangsamt, ohne dass das Keimungsprozent reduziert wird. Um diese Ergebnisse zu unterstützen sind weitere Untersuchungen zum Keimverhalten unter natürlicheren Bedingungen erforderlich. Die verspätete Keimung ist als Überlebensmechanismus bei einer Überflutung zu verstehen. Die Abwesenheit signifikanter Unterschiede zwischen den untersuchten Herkünften erlaubt uns die Hypothese abzuleiten, dass bei der gemeinen Esche „Keimungs-Ökotypen“ in Zusammenhang mit den Begriffen „Wasseresche“ und „Kalkesche“ existieren, zumindest unter den experimentellen Bedingungen in diesem Projekt. Diese Ergebnisse erlauben uns ebenso, die Möglichkeit auszuschließen, dass die beobachteten unterschiedlichen genetischen Strukturen beim Genort ADH-B sich aus frühzeitigen Selektionsprozessen bei der Keimung ergeben haben.

Die physiologischen Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Eschen-Pflanzen der Herkunft „Schwäbische Alb“ gegenüber Sauerstoffmangel empfindlicher sind als die Pflanzen der Herkünfte „Rastatt“ und „Schwarzwald“. Die Ergebnisse sind dennoch nicht bei allen untersuchten Parametern für alle drei Herkünfte eindeutig und übereinstimmend, so dass nicht genügend Beweise vorliegen, um die Hypothese der Existenz von zwei Ökotypen, „Wasseresche“ und „Kalkesche“ zu unterstützen.

Die Ergebnisse bestätigen teilweise die höhere Überflutungstoleranz, die der Art *F. angustifolia* zugesprochen wird. Dieser Befund macht aus dieser Spezies eine interessante Alternative für die nachhaltige Bewirtschaftung der Rückhaltebecken entlang des Rheins. Dass ihr Holz von geringerer Qualität ist und dass sie mit *F. excelsior* hybridisieren kann, muss bei der Entscheidung, ob und in welchem Umfang diese Art angebaut werden soll, berücksichtigt werden.

Interessante Effekte konnten bei den ökophysiologischen Untersuchungen beobachtet werden, die auf Gemeinsamkeiten zwischen den Mechanismen von Trockenstress- und Überflutungstoleranz hindeuten. Diese Forschungsrichtung ist von großem Interesse, um tiefere Kenntnisse über die Fähigkeit von *F. excelsior* zu gewinnen, verschiedene Standorte

zu besiedeln. Hierzu können sich weitere molekularbiologische Untersuchungen, wie z. B. die „Western-Blotting“- Methode als sehr nützlich beweisen, um u.a. die enzymatische Regulation des Manitol-Transports und der ADH-Expression zu untersuchen.

Aufgrund finanzieller Beschränkungen waren in diesem Projekt keine weitergehenden Untersuchungen zur Reaktion der Eschen auf Sauerstoffmangel geplant, obwohl dies von großer Bedeutung für die unterschiedliche Toleranz der Arten bzw. der vermuteten Ökotypen ist. Dazu zählen u.a. morphologische Anpassungen, wie die Bildung von Lentizellen, Adventivwurzeln und Aerenchym sowie die Produktion der damit verbundenen Hormone (u. a. Ethylen und Abscisinsäure). Auf dieser Ebene besteht die Möglichkeit, weitere Unterschiede zwischen den verschiedenen Herkunftsgebieten zu erkennen.

Zusammenfassend wird deutlich, dass *F. excelsior* eine hohe phänotypische Plastizität besitzt und somit eine hoch anpassungsfähige Art ist.

## **5.2 Eignung des Saatgutes der Eschen-Samenplantage Zähringen**

Bei der ersten Auswertung der Eschen-Nachkommenschaftsprüfung waren die Pflanzen aus der Plantage gegenüber den anderen geprüften Herkünften besonders wüchsig, was ein Hinweis auf die besondere Eignung dieses Saatgutes ist.

Die genetischen Untersuchungen zum Genfluss zeigten, dass im Saatgut ein erheblicher Anteil unerwünschten Fremdpollens (von Eschen außerhalb der Plantage) vorhanden ist. Es ist zu prüfen, ob blühende pollenspendende Eschen außerhalb der Plantage entfernt werden können, um die Reinheit des Saatgutes aus der Plantage zu gewährleisten.

Entlang des Rheins wurden fünf Nachkommenschaftsprüfungen im Überflutungsbereich des Rheins angelegt. Die Entwicklung der Eschen auf diesen Flächen ist langfristig zu verfolgen. Erst dadurch werden die Befunde der genetischen und physiologischen Labor-Experimente unter natürlichen Bedingungen geprüft und gesichert.

Aus heutiger Sicht ist bei der Wahl forstlichen Vermehrungsgutes von Esche im Herkunftsgebiet Oberrheinisches Tiefland (HKG 811 05) das qualifizierte Vermehrungsgut aus der Eschensamenplantage Zähringen zu verwenden. Die Verwendung von genetisch

zertifiziertem Saatgut gibt die Sicherheit, dass tatsächlich die gewünschte Herkunft geliefert wird.

## 6 Literatur

ALBRECHT, G., BIEMELT, S. 1998. A comparative study on carbohydrate reserves and ethanolic fermentation in the roots of two wetland and non-wetland species after commencement of hypoxia. *Physiol. Plan.*, 104, 81-86.

ARMSTRONG, W., BRÄNDLE, R. ET AL. 1994. Mechanism of flood tolerance in plants. *Acta Bot. Neer.* 43 (4), 307-358.

BASKIN, J. M., BASKIN, C. C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14, 1-16.

BERNARD, G., CARLIER, G. 1990. Potentiel hydrique et conductance stomatique des feuilles de frêne (*Fraxinus excelsior* L.) dans une forêt alluviale du Haut-Rhône français. *Annales des sciences forestières (Ann. sci. for.)* 47 353-365.

BEWLEY, J. D., BLACK, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Vol 1.

BIEMELT, S., REZA, M. ET AL. 1999. Sucrose synthase activity does not restrict glycolysis in roots of transgenic potato plants under hypoxic conditions. *Planta*, 210, 41-49.

BLOM, C. W. 1999. Adaptations to flooding stress, from plant community to molecule. *Plant Biology* 1, 261-273.

BLOM, C. W., VOESENEK, L. A. 1996. Flooding, the survival strategies of plants. *Tree* 11, 7, 290-295.

BLOM, C. W., VOESENEK, L. A., ET AL. 1994. Physiological ecology of riverside species: adaptive responses of plants to submergence. *Annals of Botany*, 74, 253-263.

BOEUF, R. 2003. Un frêne exotique méconnu en Alsace et plus largement en France : Le frêne de Pennsylvanie. *Bulletin de la société botanique du centre-ouest, nouvelle Série*, 34.

BOLHÄR-NORDENKAMPF, H. R., ÖQUIST, G. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: *Photosynthesis and Production in a Changing environment: a field and laboratory manual*. Hall et al. Ed. Published by Chapman & Hall. London.

BOVET, J. 1958. Contribution à l'étude des "Races écologiques" du Frêne, *Fraxinus excelsior*. *Schweizerische Zeitschrift für das Forstwesen* 109 536-546.

BOYS, J., CHERRY, M., ET AL. 2005. Microsatellite analysis reveals genetically distinct populations of red pine (*Pinus resinosa*, *Pinaceae*). *American Journal of Botany*, 92, 833-841.

BRACHET, S., JUBIER, M.F., ET AL. 1999. Rapid identification of microsatellite loci using 5' anchored PCR in the common ash *Fraxinus excelsior*. *Mol. Eco.* 8: 160-163.

- BRISCOE, C. B. 1961. Germination of cherrybark and nuttall oak acorns following flooding. *Ecology* 42, 2, 430-431.
- BRUFORD, M. W., WAYNE, R. K. 1993. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Biology*. 939-943.
- CALLAWAY, R. M., PENNINGS, S. C. ET AL. 2003. Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology* 84 5: 1115-1128.
- CARLIER, G., PELTIER, J. P. ET AL. 1992. Comportement hydrique du frêne (*Fraxinus excelsior* L.) dans une formation montagnarde mésoxérophile. *Annales des sciences forestières (Ann. sci. for.)* 49 , 207-223.
- CHIRKOVA, T. V. 1978. Some regulatory mechanisms of plant adaptation to temporal anaerobiosis. Pp.: 137-154. In: *Plant life in anaerobic environments*. Hook, D. D. and Crawford, R. M. M. Eds. Ann. Arbor. Science.
- CHIU, W.L., STUBBE W. ET AL. 1988. Plastid inheritance in *Oenothera*: organelle genome modifies the extent of biparental plastid transmission. *Curr. Gen.* 13: 181-189.
- CRAWFORD, R. M. M. 1978. Metabolic adaptation to anoxia. Pp. 119-136. In: *Plant life in anaerobic environments*. Davies, D. D. and Crawford, R. M. M. Eds. Ann. Arbor. Science.
- CRAWFORD, R. M. M., FINEGAN, D. M. 1989. Removal of ethanol from lodgepole pine roots. *Tree Physiology*, 5, 53-61.
- CREMER, K. W. 2003. Introduced willows can become pest in Australia. *Tropical Conservancy Biodiversity* 4, 17-24.
- CROCKER, W., BARTON, L. 1957. *Physiology of seeds*. Chronica Botanica Company, pp 267.
- DAT, J. F., CAPELLI, N. ET AL. 2004. Sensing and signalling during plant floodin. *Plant Physiol. Biochem.* 42, 273-282.
- DAVIES, D. D. 1980. Anaerobic metabolism and production of organic acids. 2, 581-611
- DAVIES, E. 1987. Action potentials as multifunctional signals in plants: a unifying hypothesis to explain apparently disparate wound responses. *Plant, Cell and Environment*, 10, 623-631.
- DAVIES, F. S., FLORE, J. A. 1986. Short term flooding effects on gas exchange and quantum yield of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Plant Physiol.* 81, 289-292.
- DEBELL, D. S. AND NAYLOR, A. W. 1972. Some factors affecting germination of swamp tupelo seeds. *Ecology* 53, 3, 504-506.
- DEGUILLOUX, M.-F., DUMOLIN-LAPEGUE, S., ET AL. 2003. A set of primers for the amplification pf chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Mol. Ecol. Notes* 3: 24-27.
- DEGUILLOUX, M.-F., PEMONGE, M. H., ET AL. 2004. Use of chloroplast microsatellites to differentiate oak populations. *Ann. For. Sci.* 61, 825-830.

- DEILLER, A. F., WALTER, J. M. ET AL. 2003. Regeneration strategies in a temperate hardwood floodplain forest of the Upper Rhine, sexual versus vegetative reproduction of woody species. *Forest Ecology and Management* 180, 215-225.
- DEMESURE, B., LE GUERROUE, B. ET AL. 2000. Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). *Ann For Sci* 57 63-71.
- DENNIS, E. S., DOLFERUS, R., ET AL. 2000. Molecular strategies for improving Waterlogging tolerance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 51, 342, 89-97.
- DJAVANSHIR, K. , POURBEIK, H. 1976. Germination value - A new formula. *Silvae Genetica* 25, 2, 79-83.
- DREYER, E., COLIN-BELGRAND, ET AL. 1991. Photosynthesis and shoot water status of seedlings from different oak species einreichen to waterlogging. *Ann. Sci. For.* 48, 205-214.
- DONGEN, J. T., SCHURR, U. ET AL. 2003. Phloem metabolism and function have to cope with low internal oxygen. *Plant Physiol* 131: 1529-1543.
- DUBARRY, A. P. 1963. Germination of bottomland tree seed while immersed in water. *Journal of Forestry* 61, 225-226.
- EXCOFFIER, L., LAVAL, G. ET AL. 2005. Arlequin v. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- EXCOFFIER L, SMOUSE P, ET AL. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131, 479-491.
- FAGERSTEDT K. V., CRAWFORD, M. M. 1986. Changing Kinetic Properties of Barley Alcohol Dehydrogenase during Hypoxic Conditions. *Journal of Experimental Botany* 37, 179, 857-864.
- FERNANDEZ-MANJARRES, J. F., GERARD, P. R. ET AL. 2006. Differential patterns of morphological and molecular hybridization between *Fraxinus excelsior* L. and *Fraxinus angustifolia* Vahl (*Oleaceae*) in eastern and western and western France. *Molecular Ecology*, 15, 3245-3257.
- FINCH-SAVAGE, W. E., LEUBNER-METZGER, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523.
- FRAXIGEN, 2005. Ash species in Europe. Biological characteristics and practical guidelines for sustainable use. Oxford Forestry Institute. University of Oxford. UK. 128 pp.
- FROMM, J., ESCHRICH, W. 1993. Electric signals released from roots of Willow (*Salix viminalis* L.) change transpiration and photosynthesis.
- GÉRAD, P. R., FERNÁNDEZ-MANJARRÉS, J. F., ET AL. 2006. New insights in the recognition of the European ash species *Fraxinus excelsior* L. and *Fraxinus angustifolia* Vahl as useful tools for forest management. *Annals of Forest Science*, 63, 733-738.

GILLET, E. 2002. Genetic Structures from Electrophoresis Data (GSED); Version 1.0; User's Manual.

GLAUBITZ, J. C., MORAN, G. F. 2000. Genetics tools: The use of biochemical and molecular markers, pp. 39-59. In: Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. Forest Conservation Genetics: Principles and Practice A. Young D. Boshier T. Boyle CSIRO Publishing and CABI Publishing 2000.

GLENZ, C., SCHLAEPFER, R., ET AL. 2006. Flooding tolerance of Central European tree and shrub species. Forest Ecology and Management 235, 1-13.

GLÄSER, J. 2001. Die Esche (*Fraxinus excelsior* L.)- ein Baum des Leipziger Auenwaldes?. Forstwissenschaftliches Centralblatt 120 114-121

GLÄSER, J. 2005. Untersuchungen zur historischen Entwicklung und Vegetation mitteldeutscher Auenwälder. PhD Thesis. UFZ-Umweltforschungszentrum. Leipzig-Halle GmbH in der Heimholtz-Gemeinschaft. ISSN: 1860-0387.

GRAVATT, D. A., KIRBY, C. J. 1997. Patterns of photosynthesis and starch allocation in seedlings of four bottomland hardwood tree species subjected to flooding. Tree Phys. 18, 411-417.

GOOD, A. G., MUENCH, D. G. 1993. Long-Term anaerobic metabolism in root tissue. Plant Physiology, 101, 1163-1168.

GOOD, B., PATRICK, W. H. 1987. Gas composition and respiration of water oak (*Quercus nigra* L.) and green ash (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) roots after prolonged flooding. Plant and Soil 97 3: 419-427 .

GRADMANN, D., MUMMERT, H. 1980. Plant action potentials. In Plant Membrane Transport: Current Conceptual Issues, (eds. R. M. Spanswick, W. J. Lucas and J. Dainty), pp. 333-347. Elsevier/ North-Holland Biomedical Press.

GREGORIUS, H. R., BERGMANN, F. 1995. analysis of isoenzyme genetic profiles observed in forest tree populations. Population genetics and genetic conservation of forest trees. Pp. 79-96. Baradat et al. Ed. SPB Academic Publishing, The Netherlands.

GUICHERD, P., PELTIER, J. P. ET AL. 1997. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: malate and mannitol accumulation in leaves under drought conditions. Trees, 11, 155-161.

GUILLOY-FROGE H., MULLER E., ET AL. 2002. Dispersal, germination and survival of *Populus nigra* L. (*salicaceae*) in changing hydrologic conditions. Wetlands 22, 3, 478-488.

GUNTRIP, J., SIBLY, R. M. 1998.. Phenotypic plasticity, genotype-by-environment interaction and the analysis of generalism and specialization in *Callosobruchus maculatus*. Heredity 81 2 198-204

GUO, Y., SHELTON, M., ET AL. 1998. Effects of flood duration and season on germination of black, cherrybark, northern red, and water oak acorns. New Forests 15, 1, 69-76.

HABECK, J. R. 1958. White cedar ecotypes in Wisconsin. Ecology 39, 457-463.

- HARDY, O. J., VEKEMANS, X. 2002. SPAGeDi: a versatile compute program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2 618.
- HARPER, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Acad. Pr. London, New York.
- HARRY, D., DAWSON, J., ET AL. 2003. *Biotechnology in Forestry*. [http://www.ag.uiuc.edu/~vista/html\\_pubs/irspsm91/forestry.html](http://www.ag.uiuc.edu/~vista/html_pubs/irspsm91/forestry.html)
- HEBEL, I., DACASA-RÜDINGER, M.C., ET AL. Eingereicht. Population genetic structures of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in southern Germany, as revealed by nuclear and chloroplast microsatellite analysis.
- HERTEL, H. 1996. Vererbung von Isoenzymmarkern bei Eibe (*Taxus baccata* L.). *Silvae Genetica* 45 5/6: 284-290
- HEUERTZ, M., HAUSMAN, J. F. ET AL. 2001. Assessment of genetic structure within and among Bulgarian populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Mol. Ecol.* 10(7): 1615-1623.
- HEUERTZ, M., FINESCHI, S. ET AL. 2004a. Chloroplast DNA variation and postglacial recolonization of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in Europe. *Molecular Ecology* 13 11: 3437-3452.
- HEUERTZ, M., HAUSMAN, J. F. ET AL. 2004b. Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southeastern European populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Evolution* 58 5: 976-988.
- HEUERTZ, M., VEKEMANS, X. ET AL. 2003. Estimating seed vs. pollen dispersal from spatial genetic structure in the common ash. *Molecular Ecology* 12 9: 2483-2495.
- HOLBROOK, N.M., ZWIENIECKI, M.A. 2003. Plant biology: Water gate. *Nature* 425, 361.
- HOOK, D. D. 1984. Waterlogging tolerance of low land tree species of the South. *Southern Journal of Applied Forestry* 8, 136-149.
- HOOK, D. D. BROWN, C. L. 1973. Root adaptations and relative flood tolerance of five hardwood species. *Forest Science* 19, 3, 225-229.
- HOOK, D. D., STUBBS J. 1967. Physiographic seed source variation in tupelo gums grown in various water regimes. In: *Proceedings of the Ninth Southern Conference on Forest Tree Improvement*, Knoxville, Tennessee. Committee on Southern Forest Tree Improvement, Macon, Georgia, 61-67.
- HOSNER, J. F. 1957. Effects of water upon the seed germination of bottomland trees. *Forest Science* 3, 1, 67-70.
- HOSNER, J. F. 1958. The effects of complete inundation upon seedlings of six bottomland tree species. *Ecology* 39, 2, 371-373.

HÖLTKEN A M, TÄHTINEN J ET AL 2003. Effects of Discontinuous Marginal Habitats on the Genetic Structure of Common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Silvae Genetica* 52 5/6, 206-212.

HULDEN, E. 1941. Studien über *Fraxinus excelsior* L. *Acta botanica Fennica* 28. Ed. *Societas pro fauna et flora fennica*. 250 pp.

HUSSENDÖRFER, E. 2002. Genetische Differenzierung von Baumarten in der Rheinaue – Beispiel Esche. In Vorbereitung

IPCC 2007. <http://www.ipcc.ch/meet/meet.htm>

JACKSON, M. B., DREW, M. C. 1984. Effect of flooding on herbaceous plants. In: Kozłowski, T. T. ed. *Flooding and plant growth*. London. Academic Press, 47-128.

JANßEN, A. 1997. Unterscheidung der beiden Schwarzpappelarten *Populus nigra* L. und *P. deltoides* Marsh. Sowie ihrer Arthybride *P. x euramericana* (Dode) Guinier mit Hilfe von Isoenzymmustern.

JÄGER, U. G., REIBMANN, K. ET AL. 2006. Arten- und Biotopschutzprogramm Sachsen-Anhalt Landschaftsraum Elbe: Forstwirtschaft. 597-603.

JEANDROZ, G., FAIVRE-RAMPANT, F. ET AL. 1995. Organization of nuclear ribosomal DNA and species-specific polymorphism in closely related *Fraxinus excelsior* and *F. oxyphylla*. *Theor. Appl. Genet.* 91, 885-892.

JENSEN, J. S. 1993. Variation of growth in Danish provenance trials with oak (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Mattuschka Liebl). *Ann. Sci. For.* 50, Suppl. 1, 203-207.

JONES, R. H., ALLEN, B. P. ET AL. 1997. Why do early-emerging tree seedlings have survival advantages?: a test using *Acer rubrum* (*Acearaceae*). *American Journal of Botany* 84, 12, 1714–1718.

JONES, R. H., SHARITZ, R. R., ET AL. 1994. Woody plant regeneration in four floodplain forest. *Ecological Monographs*, 64, 3, 345-367.

KE, D., YAHIA, E., ET AL. 1995. Regulation of fermentative metabolism in Avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120 (3). 481-490.

KEPHART, S. R. 1990. Starch Gel Electrophoresis of Plant Isozymes: A Comparative Analysis of Techniques. *American Journal of Botany* 77 5: 693-712.

KARUKSTIS, K. K. 1991. Chlorophyll fluorescence as a physiological probe of the photosynthetic apparatus. In: Scheer H. (ed) *Chlorophyll*, pp. 769-795. CRC Press, Boca Raton, FL.

KE, D., YAHIA, E. ET AL. 1995. Regulation of fermentative metabolism in avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stresses. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120 (3): 481-490.

KENNEDY, H. 2005. *Fraxinus pennsylvanica* Marsh.

<http://forestry.about.com/library/silvics/blsilfpenns.htm>

- KIMMERER, T. W., STRINGER, M. A. 1988. Alcohol dehydrogenase and ethanol in the stems of trees. *Plant Physiology*, 87, 693-697.
- KLEINSCHMIT, J., LÜCK, F. W. 2001. Erhaltung und Herkunftsforschung bei der Esche. *AFZ-Der Wald* 13, 662-663.
- KLEINSCHMIT, J., SVOLBA, J., ET AL. 1996. Erste Ergebnisse des Eschen-Herkunftsversuches von 1982. *Forstarchiv*, 67, 114-122.
- KOLB R M, RAWYLER A ET AL. 2002. Parameters Affecting the Early Seedling Development of Four Neotropical Trees under Oxygen Deprivation Stress. *Ann Bot* 89 5: 551-558.
- KOZLOWSKI, T. T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph No. 1*. 29 pp.
- KOZLOWSKI, T. T., PALLARDY, S. G. 1979. Stomatal responses of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings during and after flooding. *Physiol. Plant.* 46, 155-158.
- KREUTZWIESSER, J. SCHEERER, ET AL. 1999. Metabolic origin of acetaldehyde emitted by trees. *J. Exp. Bot* 50: 757-765.
- KREUTZWIESER, J., HARREN, F., ET AL. 2001. Acetaldehyde emission by the leaves of trees – correlation with physiological and environmental parameters. *Physiologia Plantarum*, 113, 41-49.
- KUMAR, S., TAMURA, K. ET AL. 2004. MEGA 3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5 150-163.
- LARCHER, W. 1994: *Ökophysiologie der Pflanzen*. E. Ulmer Stuttgart. 394 S.
- LECHNER, A. 2005. Paläoökologische Untersuchungen zur Rekonstruktion der holozänen Vegetationsentwicklung und Flussauendynamik im OberRhein, in preparation.
- LEFORT, F., BRACHET, S. ET AL. 1999. Identification and characterization of microsatellite loci in ash (*Fraxinus excelsior* L.) and their conservation in the olive family (*Oleaceae*). *Molecular Ecology* 8 6: 1088-1089.
- LEFORT, F., DOUGLAS, G.C. ET AL. 2000. Microsatellite DNA profiling of phenotypically selected clones of Irish oak (*Quercus* spp.) and ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Silvae Genetica* 49(1), 21-28.
- LEHNER, L. 2002. Elektrophysiologische Untersuchungen zur Steuerung der Blütenbildung bei Kurz- und Langtagpflanzen. PhD Thesis. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.
- LEWANDOWSKI, A. 2000. Inheritance and Linkage of Allozymes in *Pinus armandii* Franch. *Silvae Genetica* 49 2: 79-82.
- LIAO, C. T., LIN, C. H. 1995. Effect of flood stress on morphology and anaerobic metabolism of *Momordica charantia*. *Environmental and Experimental Botany*, 35, 1, 105-113.

LIESEBACH, M., WEIßENBACHER, L., ET AL. 2005. Ergebnisse aus dem 100-jährigen Herkunftsversuch mit Eiche von Cieslar. Centrablatt für das gesamte Forstwesen, Wien 122 (1), 1-18.

LICHTENTHALER, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 350-382.

LIN, C. H., LIN, C. H. 1992. Physiological adaptation of waxapple to Waterlogging. *Plant, Cell and Environment*, 15, 321-328.

LUDEMAN, T. 1994. Vegetations- und Landschaftswandel im Schwarzwald unter anthropogenem Einfluss. *Ber.d.Rhineh.-Tüxen-Ges*, 6, 7-39.

LUMARET, R., OUAZZANI, N. ET AL 2004- Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean Basin. *Heredity* 92 4: 343-351.

MCDONALD, M. W., BUTCHER, P. A. ET AL. 2003. Clinal variation and genetic divergence in *Acacia tumida* (*Mimosaceae*). *Australian Systematic Botany* 16 1: 57-68.

MACDONALD, R. C., KIMMERER, T. W. 1991. Ethanol in the stems of trees. *Physiologia Plantarum*, 82, 582-588.

MACHON, N., LE FRANC, M., ET AL. 1995. Isozymes as an aid to clarify the taxonomy of French elms. *Heredity* 74, 39-47.

MACHON, N., LE FRANC, M., ET AL. 1997. Allozyme variation in *Ulmus* species from France: analysis of differentiation. *Heredity*, 78, 12-20.

MARIGO, G., PELTIER, J. P., ET AL. 2000. Success in the demograophic expansion of *Fraxinus excelsior* L. *Trees* 15:1-13.

METZLER, B., MEIERJOHANN, E., ET AL. 2002. Spatial dispersal of *Nectria ditissima* canker of beech in an international provenance trial. *Forest Pathology* 32 (3), 137-144.

MILLAR, C. I., WESTFALL, R. D. 1992. Allozyme markers in forest genetic conservation. *New Forest*, 6, 347-371.

MORAND ME, BRACHET S, ET AL. 2002. A generalized heterozygote deficiency assessed with microsatellites in French common ash populations. *Mol. Ecol.*, 11, 377-385.

MORAND, M. E., VEDEL, F., ET AL. 2001. A rapid and efficient method for the isolation of mitochondrial DNA from angiosperm tree species. Application to the restriction fragment length polymorphism distinction between European and American ashes. *Molecular Ecology Notes* 1: 67-70.

MÜNCH, D. 1925. Kalkeschen und Wasserreschen. *Forsliche Wochenschrift Silva* 13, 17, 129-135 .

- MUSTROPH, A., ALBRECHT, G. 2003. Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress: Fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia. *Physiol Plant* 117: 508-520.
- NEEL, M. C., CLEGG, J. ET AL. 1996. Isozyme variation in *Echinocereus engelmannii* var. *munzii* (Cactaceae). *Conservation Biology* 10 2: 622-631.
- NEELY, R. K., WILER, J. A. 1993. The effects of sediment loading on germination from the seed bank of three Michigan wetlands. *The Michigan Botanist*, 32, 199-207.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- NEWSOME, R. D., KOZLOWSKI, T. T. ET AL. 1982. Responses of *Ulmus americana* seedlings to flooding of soil. *Can. J. Bot.*, 60, 1688-1695.
- OBERDORFER, E. 1992. Süddeutsche Pflanzengesellschaften. Gustav-Fischer Verlag, Teil IV, 2. Auflage, pp. 580.
- OUAZZANI, N., LUMARET, R., ET AL. 1993. Leaf allozyme variation in cultivated and wild olive trees (*Olea europaea* L.). *Journal of Heredity*, 84, 34 -42.
- PERATA P, GUGLIELMINETTI L, ET AL. 1996. Anaerobic carbohydrate metabolism in wheat and barley, two anoxia-intolerant cereal seeds. *J Exp Bot* 47: 999-1006.
- PFARR, U., ILG, P. 2000. Auswirkungen der ökologischen Flutungen der Polder Altenheim. Broschürenreihe, Materialien zum IRP. Band 9. Landesanstalt für Umweltschutz, Baden-Württemberg. Gewässerdirektion südlicher Oberrhein/Hochrhein.
- PICKARD, B. G. 1973. Action potentials in higher plants. *The Botanical Review*, 39, 172-201.
- PIOTTO, B. 1994. Effects of temperature on germination of stratified seeds of three ash species. *Seed Science and Technology*, 22, 519-529.
- PIOTTO, B., PICCINI, C. 1998. Influence of pre-treatment and temperature on the germination of *Fraxinus angustifolia* seeds. *Seed science and Technology* 26, 799-812.
- PREECE, J. E., BATES, S. A. ET AL. 1995. Seedling growth of ash (*Fraxinus* spp.) *in vitro*. *Can. J. For. Res.* 25, 1368-1374.
- PREMOLI, A. C. 2003. Isozyme Polymorphisms Provide Evidence of Clinal Variation With Elevation in *Nothofagus pumilio*. *J Hered* 94 3: 218-226.
- QUIROGA, P., VIDAL, R. ET AL. 2005. Evidencia morfológica e isoenzimática de hibridación natural entre *Nothofagus antarctica* y *N. pumilio* en el noroeste patagónico. *Bosque (Valdivia)* 26 2: 25-32.
- RAQUIN, C, BRACHET; S., ET AL. 2002. Combined analyses of microsatellite and RAPD markers demonstrate possible hybridization between *Fraxinus excelsior* L. and *Fraxinus angustifolia* Vahl. *Forest Genetics* 9(2): 111-114.

- RAYMOND, M., ROUSSET, F. 1995. GENEPOP (V. 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of heredity* 86 3: 248-249.
- RENNENBERG, H., SCHNEIDER, S., ET AL. 1996. Analysis of uptake and allocation of nitrogen and sulphur by trees in the field. *Journal of Experimental Botany* 47, 1491-1498.
- RICARD, B., COUÉE, I., ET AL. 1994. Plant metabolism under hyoxia and anoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 32 (1), 1-10.
- RIBEIRO, R., LOVATO, M. B. 2004. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). *Genetics and Molecular Biology* 27 3: 418-424.
- RITTERSHOFER, B. 2001. Die Esche, ein vielseitiger Weltenbaum. *AFZ-der Wald*, 24.
- RUETZ, W. F., FRANKE, ET AL. 1998. Der Süddeutsche Weißtannen (*Abies alba* Miller.)-Provenienzversuch. Jugendentwicklung auf den Versuchsflächen. *Allg. Forst- u. J.- Ztg.*, 169, 6/7, 116-126.
- RUSSEL, R., SCOTT, 1977. *Plant Root Systems*. McGRAW-HILL. 298 pp.
- SÁENZ-ROMERO, C., TAPIA-OLIVARES, L. 2003. *Pinus oocarpa* Isoenzymatic Variation Along an Altitudinal Gradient in Michoacán, México. *Silvae Genetica* 52 5/6: 237-240.
- SANDER T, KONIG S ET AL (2000) Genetic variation of European beech (*Fagus sylvatica* L.) along an altitudinal transect at mount Vogelsberg in Hesse, Germany. *Molecular Ecology* 9 9: 1349-1361.
- SAS. 2000. *The SAS system for windows*. Release 8.01. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA
- Scandalios, J. G. 1969. Genetic Control of Multiple Molecular forms of Enzymes in Plants: A Review. *Biochemical Genetics* 3 37-79.
- SHELLER, H. 1977. Kritische Studien über die kultivierten Fraxinus-Arten. *Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges.* 69, 49-162.
- SCHMIDT, J., HUSSENDÖRFER, E. ET AL. 2001. Biochemisch-genetische Untersuchungen bei *Fraxinus excelsior* L. (Gewöhnliche Esche) - Anleitung zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. In: BMBF-Forschungsprogramm „Forschung für die Umwelt - zukunftsorientierte Waldwirtschaft. Technical Report 2001“
- SCHMULL, M., THOMAS, F. M. 2000. Morphological and physiological reactions of young deciduous trees (*Quercus robur* L., *Q. petraea* [Matt.] Liebl., *Fagus sylvatica* L.) to waterlogging. *Plant and Soil*, 225 1: 227-242.
- SCHNEIDER, R. L. SHARITZ, R. R. 1988. Hydrochory and regeneration in a bald cypress-water tupelo swamp forest. *Ecology* 69, 4, 1055-1063.
- SCHNITZLER, A. 1994. Conservation of biodiversity in alluvial hardwood forest of the temperate zone. The example of the Rhine valley. *Forest Ecology and Management* 68, 385-398.

- SCHOLANDER, P. F., HAMMEL, ET AL. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148, 339-345.
- SCHÖNBORN, A. 1967. Gibt es Bodenrassen bei Waldbäumen?. *AFZ* (22), 18, 294-296.
- SEARS, B.B. 1980. The elimination of plastids during spermatogenesis and fertilisation in the plant kingdom. *Plasmid* 4: 233-255.
- SMITH, A. M., REES, T. 1979. Pathways of carbohydrate fermentation in the roots of marsh plants. *Planta* 146, 327-334.
- SENA-GOMES, A. R., KOZLOWSKI, T. T. 1980. Growth responses and adaptations of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings to flooding. *Plant Physiology*, 66, 267-271.
- SIEBEL, H. N., BLOM, W. P. 1998. Effects of irregular flooding on the establishment of tree species. *Acta Botanica Neerlandica* 47, 2, 231-240.
- SIMONS, P. J. 1981. The role of electricity in plant movements. *New Phytologist*, 87, 11-37.
- SLATKIN, M., BARTON, N.H. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- SMITH, M. W., AGER, P. L. 1988. Effect of soil flooding on leaf gas exchange of seedling pecan trees. *HorScience* 23, 370-372.
- SOLTIS, D., SOLTIS, P. 1989. Isozymes in Plant Biology.
- STARKE, R. 1993. Genmarker als Entscheidungshilfen für die Genkonservierung. II. Isoenzyme als Genmarker für die Ausweisung forstlicher Genressourcen. *All. Forst- u. J. – Ztg.* 164. 9/10, 181-186.
- STRENG, D. R., GLITZENSTEIN J. S. ET AL. 1989. Woody seedling dynamics in an East Texas floodplain forest. *Ecological Monographs* 59, 2, 177-204.
- STROMBERG, J. C., PATTEN, D. T. 1990. Seed production and seedling establishment of a Southwest riparian tree, Arizona walnut (*Juglans major*). *Great Basin Naturalist* 50, 1, 47-56.
- SUSZKA, B., MULLER, C. ET AL. 1996. Seeds of forest broadleaves: From harvesting to sowing. INRA, Paris.
- TADEGE, M., DUPUIS, I. ET AL. 1999. Ethanol fermentation: new functions for an old pathway. *Trends in Plant Science*, 4, 8, 320-325.
- TANG, Z. C., KOZLOWSKI, T. T. 1984. Water relations, ethylene production, and morphological adaptation of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings to flooding. *Plant and Soil*, 77, 183-192.
- THEBAUD, C., DEBUSSCHE, M. 1991. Rapid Invasion of *Fraxinus ornus* L. along the Herault River System in Southern France: The Importance of Seed Dispersal by Water. *Journal of Biogeography* 18 1 7-12.

- THOMPSON, K., BAKKER J. P. ET AL. 1996. The soil seed banks of North West Europe. Methodology, density and longevity. Thompson *et al.* Ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 288 pp.
- TILKI, F., ÇIÇEK, E. 2005. Effects of stratification, temperature and storage on germination in three provenances of *Fraxinus angustifolia* subsp. *oxycarpa* seeds. Turk. J. Agric. For., 29, 323-330.
- TREMBLAY, M. F., MAUFFETTE, Y. ET AL. 1996. Germination responses of northern red maple (*Acer rubrum*) populations. Forest Science 42, 2, 154-159.
- TREMOLIERES, M., SANCHEZ-PEREZ, J. M., ET AL. 1998. Impact of river management history on the community structure, species composition and nutrient status in the Rhine alluvial hardwood forest. Plant Ecology 135, 59-78.
- TOUMEY, J. W., DURLAND, W. 1923. The effect of soaking certain tree seeds in water at greenhouse temperatures on viability and the time required for germination. Journal of Forestry 21, 369-375.
- VALLEJOS, C. E. 1986. Enzyme activity staining. In: Isozymes in plant genetics and breeding. Part A. Tanksley, S. and Orton, T. Ed. P.469-495.
- VAN DE WALLE, C. 1987. Germination uniformity of *Fraxinus excelsior* controlled by seed water content during cold treatment. Physiologia Plantarum, 69, 645-650.
- VAN TIENDEREN, P. H. 1997. Generalist, Specialist, and the evolution of phenotypic plasticity in sympatric populations of distinct species. Evolution 51 5 1372-1380.
- VARTAPETIAN, B. B, JACKSON, M. B. Plant adaptations to anaerobic Stress. Annals of Botany 79 (A), 3-20.
- VREUGDENHIL, S. J., KRAMER, K., ET AL. 2006. Effects of flooding duration, -frequency and – depth on the presence of saplings of six woody species in north-west Europe. Forest Ecology and Management 236, 47-55.
- VILLIERS, T. A. 1975. Dormancy and the survival of plants. The Institute of Biology's Studies No. 57. Arnold, London.
- VOESENEK, L. A., COLMER, T. ET AL. 2006. How plants cope with complete submergence. New Phytologist, 170, 213-226.
- VOGT, K., RASRAN, L. ET AL. 2004. Water-borne seed transport and seed deposition during flooding in a small river-valley in Northern Germany. Flora 199 377-388.
- VOLK, H. 2003. Landschafts- und Auewaldentwicklung in der Rheinaue bei Karlsruhe. AFZ-DerWald 19 989-992.
- VU, J. C. V., YELENOSKY, G. 1991. Photosynthetic responses of *Citrus* trees to soil flooding. Physiol. Plant 81, 7-14.

- WALLS, R. L., WARDROP, D. H. 2005. The impact of experimental sedimentation and flooding on the growth and germination of floodplain trees. *Plant Ecology* 176, 2, 203-213.
- WAGNER, E., LEHNER, L., ET AL. 2004. Electrogenic flower initiation- perspectives for whole-plant physiology and for applications in horticulture, agriculture and silviculture. *Flowering Newsletter*, 38, 3-9.
- WARD, J. V., TOCKNER, K. ET AL. 2002. Riverine landscape diversity. *Freshwater Biology*, 47, 517-539.
- WATERS, I., MORREL, S. ET AL. 1991. Effect of anoxia on wheat seedlings. II. Influence of O<sub>2</sub> supply prior to anoxia on tolerance to anoxia, alcoholic fermentation and sugar levels. *J. Exp. Bot.*, 42, 1437-1447.
- WEIR, B. S., COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38 1358-1370.
- WEISER, F. 1964. Beitrag zum Problem der sog. Bodenrassen bei unseren Waldbaumarten, unter besonderer Berücksichtigung der Esche, *Fraxinus excelsior* L. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* V83 1: 23-33.
- WEISER, F. 1995. Beitrag zur Existenz von Ökotypen bei Gemeiner Esche (*Fraxinus excelsior* L.). *Forstarchiv* 66 251-257
- WEISING, K., GARDNER, R.C. 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* 42: 9-19.
- WRIGHT, J. W. 1965. White ash (*Fraxinus americana* L.), revised. *In Silvics of forest trees of the United States*. p. 191-196. H. A. Fowells, comp. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook 271. Washington, DC.
- WRIGHT, S. 1978. Variability within and among natural populations. Vol. 4. The Univ. Of Chicago Press, Chicago.
- YAMANOSHITA, T., MASUMORI, M. ET AL. 2005. Effects of flooding on downstream processes of glycolysis and fermentation in roots of *Melaleuca cajuputi* seedlings. *Journal of Forest Research* V10 3: 199-204.
- YEH, F.V., YANG, R. ET AL. 1999. Population Genetic Analysis (Popgene 1.32). University of Alberta and Centre for International Forestry Research.
- YETISIR, H., CALISKAN, E., ET AL. 2006. Some physiological and growth responses of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. And Nakai) grafted onto *Lagenaria siceraria* to flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 58. 1-8.
- ZHANG, J., DAVIES, W. J. 1987. ABA in roots and leaves of flooded pea plants. *J. Exp. Bot.* 38, 649-659.

## 7 Danksagung

Wir sind Hermann Schott, Karl Schott, Ute Engist, Christa Wessel und Jürgen Wahl sehr dankbar für ihre Unterstützung bei der Beprobung und die sorgsame Züchtung des Pflanzenmaterials.

Die Verfügbarkeit des untersuchten Materials wäre ohne die Unterstützung folgender Behörden nicht möglich gewesen: die Gewässerdirektion Lahr, die LfU Karlsruhe, das Regierungspräsidium Freiburg - Referat Forstdirektion, die untere Forstbehörden der Landkreise Emmendingen, Ortenau, Rastatt und Karlsruhe und die Direktion des Biosphärenreservats Mittlere Elbe.

Wir danken Richard Haas, Jutta Geserer, Ann-Katrin Hoffmann, Sofie Seibel und Regina Zimmermann für ihre wertvolle Arbeit und die Unterstützung im Labor.

Wir möchten besonders Prof. Dr. Heinz Rennenberg und seinen Mitarbeitern Dr. Jürgen Kreuzwieser und Carsten Jaeger für ihre unentbehrliche Kooperation im Projekt danken.

Dr. Karl Gross danken wir herzlich für seine Mitarbeit und seine Anweisungen bei den Chlorophyllfluoreszenz-Messungen.

Die Durchführung der elektrophysiologischen Messungen verdanken wir Prof. em. Dr. Edgar Wagnern und Frau Lopacinska.

Bei Jürgen Bayer, Thomas Piske, María Manso und Ian Bromley möchten wir uns herzlich für die GIS Bearbeitung der Karten bedanken.

Die Unterstützung bei den statistischen Analysen haben wir Dr. Edgar Kublin und Jürgen Schäffer zu verdanken.

Für die wissenschaftliche Kritik unserer Arbeit gilt unser Dankeschön an Dr. Hans-Gerhard Michiels, Dr. Winfried Bücking und Prof. Dr. Arno Bogenrieder.

Wir möchten Rosemarie Remmertn und Mirjam Milad für die grammatische Korrektur des Berichts aufrichtig danken.

## 8 Anhang

### 8.1 Tabellen

#### 8.1.1 Tabelle 1: Untersuchungsgebiete und Herkunfts-Bezeichnung

N: Stichprobengröße pro Gebiet. Art des beprobten Materials (Probenbezeichnung)

<b>Herkunft</b>	<b>N</b>	<b>Probenbezeichnung</b>
Oberheingraben (Rhein, 81105)	750	Mutterbäume von 14 Populationen
Mittel- und Ostdeutsches Tief- und Hügelland (Elbe, 81103)	300	Mutterbäume von 6 Populationen
Süddeutsches Hügel- und Bergland (Schwarzwald, 81107)	200	Einzelbaumabsaaten
Süddeutsches Hügel- und Bergland (Schwäbische Alb, 81107)	100	Bestandesabsaat
Alpen und Alpenvorland (Bayern, 81108)	100	Bestandesabsaat
Vogesen	50	Einzelbaumabsaaten

#### 8.1.2 Tabelle 2: Standortbedingungen am Ort der Saatgut Gewinnung

H: Höhe über Meeresniveau (m). TX: Tages-Maximum, TN: Tages-Minimum, TM: Tages-Mittel der Temperatur in 2 m über dem Boden (°C). TG: Tagesminimum der Temperatur am Erdboden (°C). RS: 24 std. Niederschlag (mm)

<b>Herkunftsgebiet</b>	<b>H</b>	<b>TX</b>	<b>TN</b>	<b>TM</b>	<b>TG</b>	<b>RS</b>
Oberheingraben (Rhein Aue, 81105)	155	14.98	6.27	10.48	3.82	23.50
Süddeutsches Hügel- und Bergland (Schwarzwald, 81107)	883	11.26	1.32	5.93	-8.5	39.67
Süddeutsches Hügel- und Bergland (Schwäbische Alb, 81107)	471	13.67	4.38	8.61	3.45	26.36

**8.1.3 Tabelle 3: Anzahl auf der Fläche Rastatt aufgebracht Pflanzen pro Herkunftsgebiet**

<b>Herkunftsgebiet</b>	<b>N</b>
Rastatt/Rheintal	216
Bad Urach	108
Zähringen	108
Ostalb	108

**8.1.4 Tabelle 4: Angewandte Kern- und cpDNA-Mikrosatelliten-Primern**

Eigenschaften (nach Lefort et al., 1999; Weising et al, 1999; Deguilloux et al., 2003)

<b>Locus</b>	<b>Motif</b>	<b>Primersequenz (5'-3')</b>	<b>Fragmentlänge (bp)</b>
<b>cpDNA</b>			
ccmp3	(T) <sub>11</sub>	F: CAGACCAAAAAGCTGACATAG R: GTTTCATTCGGCTCCTTTAT	91
ccmp6	(T) <sub>5</sub> C(T) <sub>14</sub>	F: CGATGCATATGTAGAAAGCC R: CATTACGTGCGACTATCTCC	87-93
ccmp10	(T) <sub>14</sub>	F: TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA R: TTCGTCGDCGTAGTAAATAG	96-101
μkk3	(T) <sub>10</sub>	F: TTAGATCGGGTAATCGTTCAA R: AAGGAATAAATGGATAGAGC	93
<b>Nukleare-DNA</b>			
FEMSATL4	(Ca) <sub>2</sub> (Ag) <sub>24</sub>	F: TTCATGCTTCTCCGTGTCTC R: GCTGTTTCAGGCGTAATGTG	164-228
FEMSATL8	(Ct) <sub>23</sub>	F: TGTAGCTCAGGATTGGCAAT R: AGCGTTGTCCTTAACTTTT	138-188
FEMSATL12	(Ga) <sub>6</sub> Ca(Ga) <sub>8</sub>	F: TTTTTGGAACCCTTGATTTT R: GATGGACGGCATTCTTAAT	180-262
FEMSATL16	(Ca) <sub>3</sub> (Cg)(Ca) <sub>10</sub> (Ta) <sub>2</sub> (Ca) <sub>3</sub>	F: TTTAACAGTTAACTCCCTTC R: CAACATACAGCTACTAATCA	180-200

**8.1.5 Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Enzymsysteme für die Artbestimmung verschiedener Eschenarten**

Abkürzungen (Abk.) und die entsprechende „Enzyme Commission Number of the International Union of Biochemists“, 1984 (E.C.-Nr.)

Enzymsystem	Abk.	E.C.-Nr.
Aspartat-Aminotransferase	AAT	2.6.1.1
Alkohol-Dehydrogenase	ADH	1.1.1.1
Diaphorase	DIA	1.6.4.3
Isocitrat-Dehydrogenase	IDH	1.1.1.42
Leucin-Aminopeptidase	LAP	3.4.11.1
Malat-Dehydrogenase	MDH	1.1.1.37
6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	6PGDH	1.1.1.44
Phosphoglucose-Isomerase	PGI	5.3.1.9
Phosphoglucomutase	PGM	2.7.5.1
NADH-Dehydrogenase	NDH	1.6.99.1

**8.1.6 Tabelle 6: Genotypen Verteilung am Genort ADH-B in Prozent für jedes der untersuchten Transekte an der Rhein- und Elbeauen**

Transekt	Frequenz			
	33	34	44	55
Rhein FF	9.49	44.8	45.8	-
Rhein SF	12.9	50.8	36.3	-
Elbe FF	3.1	14.2	81.1	1.6
Elbe SF	5.3	34	60	0.7

**8.1.7 Tabelle 7: Vergleich der hierarchischen F-Statistik in Rhein- und Elbeauen.**

Die Ergebnisse beruhen auf der AMOVA-Analyse am Isoenzym-Genort ADH-B (ISO) und an den Mikrosatelliten-Genorten Femsat14, Femsat12 und Femsat16 (MIC) (Permutationstest der F-statistics: n.s nicht signifikant, \* P< 0.05, \*\*\* P< 0.001)

Floodplain	Overall inbreeding $F_{IT}$		Differentiation among					
			Populations $F_{ST}$		Populations within transects $F_{St}$		Transects $F_{IT}$	
	ISO	MIC	ISO	MIC	ISO	MIC	ISO	MIC
Rhine Elbe	-0.050 <sub>n.s.</sub>	0.147 <sup>***</sup>	0.020 <sup>*</sup>	0.032 <sup>***</sup>	0.018 <sup>*</sup>	0.029 <sup>***</sup>	0.005 <sub>n.s.</sub>	0.004 <sub>n.s.</sub>
	0.167 <sup>*</sup>	0.308 <sup>***</sup>	0.024 <sup>*</sup>	0.045 <sup>***</sup>	-0.0004 <sub>n.s.</sub>	0.040 <sup>***</sup>	0.041 <sub>n.s.</sub>	0.009 <sub>n.s.</sub>

**8.1.8 Tabelle 8: Mittelwerte der Keimungsprozente am Ende des Keimungsprozesses (KP) und Keimungswert (KW) für die drei Herkunftsgebiete**

In Klammern Standardabweichung. Mittelwerte innerhalb einer Spalte denen der gleiche Buchstabe nachfolgt, sind nicht signifikant unterschiedlich bei  $P < 0.01$

Behandlung	Herkunftsgebiet					
	Rhein Aue		Schwarzwald		Schwäbische Alb	
	KP	KW	KP	KW	KP	KW
Überflutet	95.28 (4.10) <sup>a</sup>	23.63 (2.94) <sup>a</sup>	94.53 (3.46) <sup>a</sup>	14.02 (8.13) <sup>a</sup>	98.65 (0.95) <sup>a</sup>	24.54 (2.98) <sup>a</sup>
Nicht überflutet	96.58 (2.47) <sup>a</sup>	36.33 (4.79) <sup>b</sup>	98.03 (1.97) <sup>a</sup>	37.45 (3.56) <sup>b</sup>	100 (0) <sup>a</sup>	41.43 (0.60) <sup>b</sup>

**8.1.9 Tabelle 9: Varianz-Analyse der Variable GV mit Herkünfte (Her) und Behandlungen (Beh) als Einflussfaktoren**

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Her	2	171.7626	85.8813	3.05	0.0797
Beh	1	1533.2044	1533.2044	54.40	<.0001
Her*Beh	2	100.0610	50.0305	1.78	0.2055

**8.1.10 Tabelle 10: Allelische Diversität an den Mikrosatelliten-Loci in Süddeutschland und Vogesen.**

Anzahl beobachteter und effektiver Allele ( $n_o$ ,  $n_e$ ), beobachtete und erwartete Heterozygotie ( $H_o$ ,  $H_e$ )

Locus	Fragmentgrösse (bp)	Hauptallel	Häufigkeit des Hauptallels (%)	$n_a$	$n_e$	$H_o$	$H_e$
FEMSATL4	157-284	161	28,5	41	6,36	0,594	0,843
FEMSATL8	118-194	154,156	12, 11	51	20,18	0,695	0,950
FEMSATL12	174-263	183	36,1	30	5,39	0,418	0,815
FEMSATL16	148-224	181,182	38 jeweils	29	3,31	0,254	0,698
Mittelwert				37,75	8,81	0,490	0,826

**8.1.11 Tabelle 11: Parameter der genetischen Diversität von allen untersuchten Populationen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat14, Femsat18, Femsat12 und Femsat16**

Stichprobengröße (N), Anzahl beobachteter und effektiver Allele ( $n_o$ ,  $n_e$ ), beobachtete und erwartete Heterozygotie ( $H_o$ ,  $H_e$ ) und Züchtungskoeffizient innerhalb der Populationen ( $F_{IS}$ )

<b>Populationen</b>	<b>N</b>	<b><math>n_a</math></b>	<b><math>n_e</math></b>	<b><math>H_o</math></b>	<b><math>H_e</math></b>	<b><math>F_{IS}</math></b>
<b>Rheintal</b>						
Fläche A	50	15,250	7,154	0,585	0,791	0,289
Fläche B	50	14,750	6,344	0,452	0,753	0,407
Fläche C	49	15,000	5,086	0,418	0,777	0,474
Fläche D	44	15,000	5,718	0,545	0,771	0,308
Fläche R (E)	59	18,750	8,469	0,504	0,844	0,420
Fläche F	48	16,000	6,612	0,406	0,835	0,516
Fläche G	50	15,750	5,952	0,534	0,779	0,313
Fläche H	37	14,000	7,274	0,466	0,811	0,435
Fläche I	48	16,750	7,131	0,489	0,806	0,404
Fläche K	48	14,500	5,981	0,501	0,797	0,366
Fläche L	45	16,750	7,566	0,544	0,839	0,365
Fläche M	51	15,750	7,071	0,514	0,783	0,349
Fläche N	49	13,500	4,759	0,500	0,692	0,326
Fläche O	46	12,250	5,831	0,505	0,790	0,373
<b>Schwäbische Alb</b>						
Bad Urach	40	14,750	5,204	0,343	0,755	0,552
<b>Bayern</b>						
Kempton	47	15,750	7,771	0,510	0,808	0,379
Landsberg	49	17,750	7,519	0,500	0,821	0,399
<b>Schwarzwald</b>						
Hirschfelsen	47	10,500	4,415	0,526	0,612	0,221
Zastler	55	15,250	5,940	0,468	0,713	0,372
Höllental	55	11,500	5,558	0,522	0,718	0,293
Ibenfelsen	50	13,750	5,150	0,595	0,735	0,231
<b>Vogesen</b>						
	60	16,750	6,427	0,495	0,745	0,375

**8.1.12 Tabelle 12: F-Statistik zwischen Populationen und zwischen Herkunftsgebieten in Süddeutschland an den Mikrosatelliten-Loci Femsatl4, Femsatl8, Femsatl12 und Femsatl16**

Wright's fixation index ( $F_{IS}$ ), hierarchische F-Werte und Genfluss ( $N_m=0,25(1-F_{ST})/F_{ST}$ )

Locus	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$N_{m(S)}$	$F_{IR}$	$F_{IT}$	$F_{RT}$	$N_{m(R)}$
<b>FEMSATL4</b>	0,233	0,266	0,042	5,570	0,300	0,321	0,029	8,413
<b>FEMSATL8</b>	0,249	0,275	0,034	7,096	0,259	0,276	0,022	10,866
<b>FEMSATL12</b>	0,446	0,484	0,069	3,368	0,517	0,536	0,040	5,961
<b>FEMSATL16</b>	0,564	0,649	0,196	1,021	0,550	0,617	0,149	1,431
<b>Mean</b>	0,550	0,407	0,086	2,850	0,390	0,423	0,055	4,282

**8.1.13 Tabelle 13: Populationsgenetische Parameter der Elbeaue basierend auf vier nuklearen Mikrosatelliten-Loci**

N: Stichprobe Größe (N), Anzahl beobachteter und effektiver Allele ( $n_0$ ,  $n_e$ ), beobachtete und erwartete Heterozygotie ( $H_0$ ,  $H_e$ ) und Züchtungskoeffizient innerhalb der Populationen ( $F_{IS}$ ) (Exact Test of departure from Hardy-Weinberg equilibrium: \*\*\*  $P < 0.001$ )

Loci	N	$n_a$	Size range (bp)	$n_e$	$H_0$	$H_e$	$F_{IS}$
<b>Femsatl4</b>	<b>510</b>	23	159-206	9.309	0.702	0.893	0.215***
<b>Femsatl11</b>	<b>502</b>	24	175-211	7.741	0.749	0.871	0.142***
<b>Femsatl12</b>	<b>498</b>	21	179-263	8.163	0.582	0.877	0.338***
<b>Femsatl16</b>	<b>502</b>	15	180-201	2.634	0.386	0.620	0.379***
<b>All</b>	<b>503</b>	20.75	159 - 263	6.962	0.605	0.815	0.260***
<b>Standard deviation</b>		4.03	-	2.960	0.162	0.130	0.109

**8.1.14 Tabelle 14: Hierarchische F-Statistiken der sechs untersuchten Populationen in der Elbeaue.**

Die Ergebnisse beruhen auf der AMOVA Analyse der vier nuklearen Mikrosatelliten-Loci (Permutationstest der F-Statistiks: n.s nicht signifikant, \*\*\* P< 0.001)

Floodplain	Overall inbreeding $F_{IT}$	Differentiation among		
		Populations $F_{ST}$	Populations within transects $F_{St}$	Transects $F_{IT}$
Femsatl 4	0.219***	0.030***	0.031***	-0.003 <sub>n.s.</sub>
Femsatl 11	0.146***	0.028***	0.025***	0.005 <sub>n.s.</sub>
Femsatl 12	0.348***	0.094***	0.080***	0.025 <sub>n.s.</sub>
Femsatl 16	0.378***	-0.004 <sub>n.s.</sub>	-0.005 <sub>n.s.</sub>	0.003 <sub>n.s.</sub>
All	0.265***	0.040***	0.036***	0.008 <sub>n.s.</sub>

**8.1.15 Tabelle 15: Beobachtete Haplotypen in den fünf untersuchten Herkunftsgebieten basierend auf den fünf cpDNA Markers**

Vergleich mit dem von Heuertz *et al.* (2004) beobachteten Haplotypen. N: Anzahl an Individuen in jeder haplotypischen Klasse

Haplotyp	N	Größe des amplifizierten Fragments (bp)					Haplotypen (Heuertz <i>et al.</i> , 2004)
		ccmp3	ccmp6	ccmp7	ccmp10	$\mu$ kk3	
A	91	91	93	111	98	92	H2
B	77	91	93	111	97	92	H3
C	4	91	93	111	98	90	H2?
D	2	91	92	112	98	92	H4
E	1	91	93	111	98	91	H2?
F	1	91	93	111	99	92	?

**8.1.16 Tabelle 16: Chloroplast-Haplotypen, die innerhalb der Elbepopulationen beobachtet wurden**

N: Anzahl der Individuen in jeder Haplotyp-Klasse. In Klammern die Bezeichnung der Allele nach Heuertz *et al.* 2004

Haplotyp	N	Größe des amplifizierten Fragments (bp)			
		ccmp3	ccmp10	ccmp6	ccmp7
<b>B (H3)</b>	13	91	97	93	111
<b>C (H2)</b>	78	91	98	93	111
<b>H5</b>	32	91	97	92	111
<b>H10</b>	123	91	98	92	111

**8.1.17 Tabelle 17: Genetische Diversität im Klonkollektiv (K) und in der Samenpopulation (S)**

Loci	$n_a$	$n_e$	$H_o$	$H_e$
<b>Femsatl_4</b>				
<b>K</b>	26	8.494	0.725	0.882
<b>S</b>	32	7.521	0.828	0.867
<b>Total</b>	36	7.700	0.817	0.870
<b>Femsatl_12</b>				
<b>K</b>	16	5.275	0.580	0.810
<b>S</b>	22	4.876	0.653	0.795
<b>Total</b>	23	4.940	0.645	0.798
<b>Femsatl_16</b>				
<b>K</b>	6	1.994	0.362	0.498
<b>S</b>	9	2.495	0.485	0.599
<b>Total</b>	11	2.444	0.472	0.590
<b>Femsatl_11</b>				
<b>K</b>	12	7.149	0.768	0.860
<b>S</b>	19	8.069	0.820	0.876
<b>Total</b>	19	8.020	0.814	0.875

**8.1.18 Tabelle 18: Hierarchische F-Werte für das Klonkollektiv (K) und die Samenpopulation (S), wie auch für das Klonkollektiv (K) und die Einzelbaumnachkommenschaft (SE)**

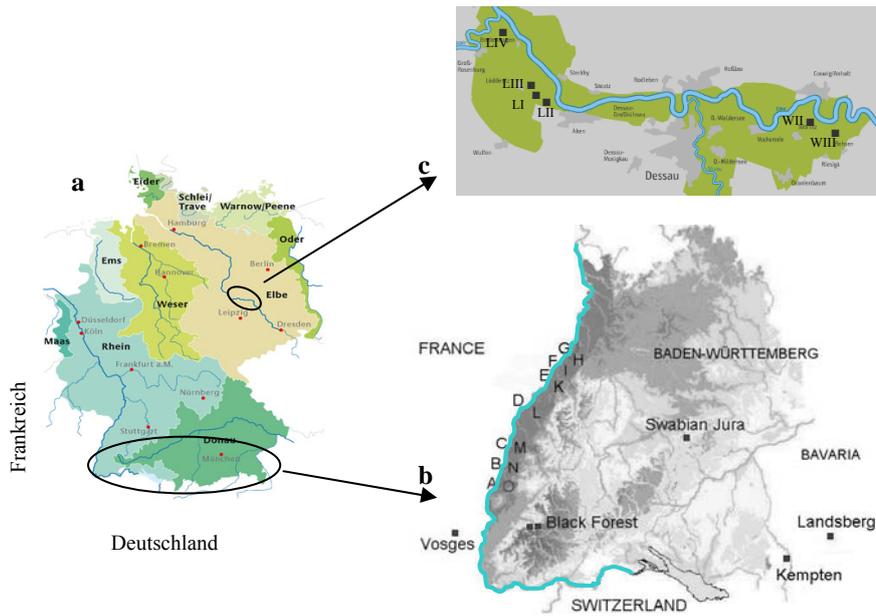
<b>Loci</b>	<b>F<sub>IS</sub></b>	<b>F<sub>IT</sub></b>	<b>F<sub>ST</sub></b>
<b>K vs. S</b>			
<b>Femsatl_4</b>	0.112	0.116	0.004
<b>Femsatl_12</b>	0.232	0.234	0.003
<b>Femsatl_16</b>	0.227	0.237	0.012
<b>Femsatl_11</b>	0.085	0.088	0.003
<b>Mean</b>	0.157	0.161	0.005
<b>K vs. SE</b>			
<b>Femsatl_4</b>	-0.057	0.056	0.108
<b>Femsatl_12</b>	0.004	0.187	0.184
<b>Femsatl_16</b>	0.041	0.197	0.162
<b>Femsatl_11</b>	-0.054	0.068	0.116
<b>Mean</b>	-0.023	0.120	0.140

**8.1.19 Tabelle 19: Beobachtete Haplotypen bei den vier untersuchten Eschenarten, basierend auf den fünf cpDNA Markers**

Vergleich mit dem von Heuertz *et al.* (2004) beobachteten Haplotypen. N: Anzahl an Individuen in jeder Haplotyp-Klasse

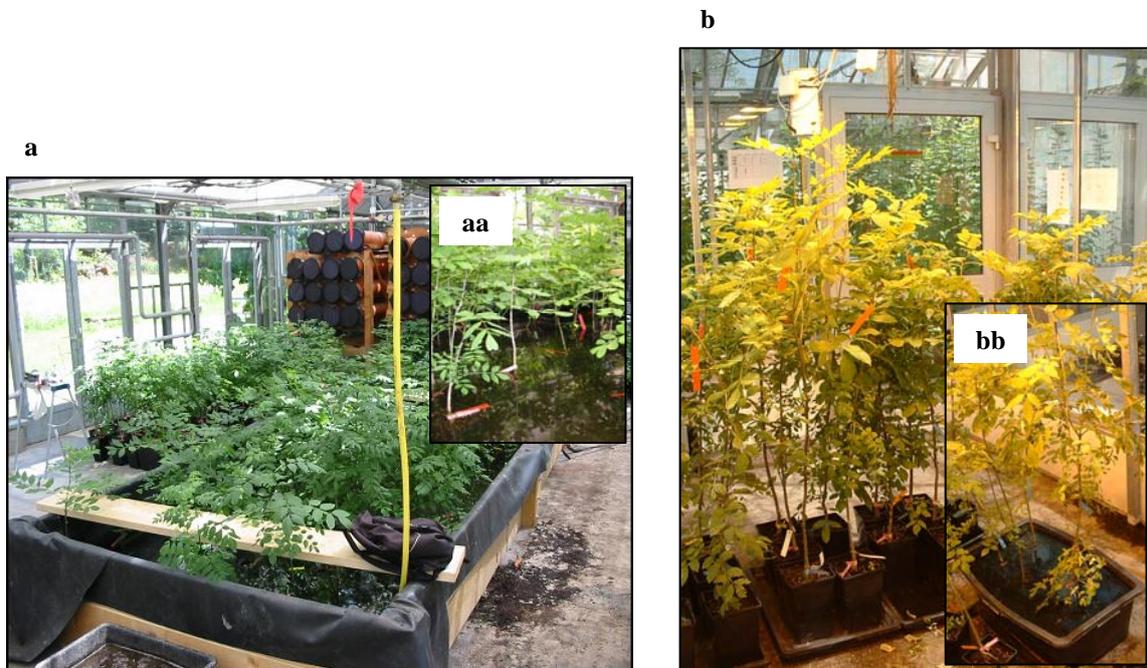
<b>Haplotypen</b>	<b>N</b>	<b>Größe des amplifizierten Fragments (bp)</b>					<b>Haplotypen ( Heuertz <i>et al.</i>, 2004)</b>
		<b>ccmp3</b>	<b>ccmp6</b>	<b>ccmp7</b>	<b>ccmp10</b>	<b>μkk3</b>	
<i>F. excelsior</i>							
A	91	91	93	111	98	92	H2
B	77	91	93	111	97	92	H3
C	4	91	93	111	98	90	H2?
D	2	91	92	112	98	92	H4
E	1	91	93	111	98	91	H2?
F	1	91	93	111	99	92	?
<i>F. americana</i>	4	91	87	110	101	92	?
<i>F. angustifolia</i>	50	91	90-92	112	97-98	92	?
<i>F. ornus</i>	21	91	93	111	97-98	92	H2, H3

## 8.2 Abbildungen



### 8.2.1 Abbildung 1: Geographische Verteilung der untersuchten Populationen

a: Elbeaue, b: Rheinaue und nicht geflutete Gebiete. Populationen A-G und LI, LII, LIII gehören zu dem überfluteten Transekt. Populationen H-O und LIV, VII, VIII gehören zum nicht überfluteten Transekt



### 8.2.2 Abbildung 2. Gewächshaus mit Überschwemmungsbecken

a: Überflutete Pflanzen im Vordergrund und Kontrollpflanzen im Hintergrund für das kontrollierte Überflutungs-Experiment im Gewächshaus der FVA 2004. aa: Detail der überfluteten Pflanzen im FVA-Becken. b: kontrolliertes Überflutungs-Experiment im Gewächshaus des ctp-Institut im 2005. bb: Detail der überfluteten Pflanzen im ctp-Becken



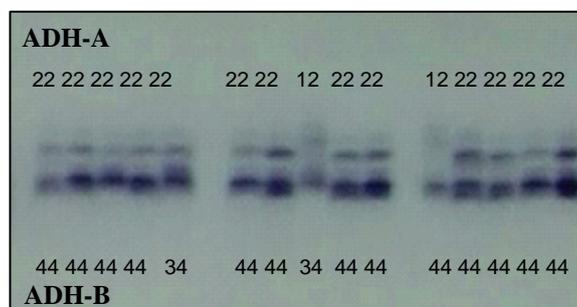
**8.2.3 Abbildung 3: Flache Behälter mit Saatgut vor der Stratifizierung**

Eine Mischung aus Torf und Erde wurde benutzt um die Samen mit einer Schicht von 1 cm zu bedecken

Block 3	Rastatt/Rheintal	Bad Urach 07	Zähringen
	Ostalb	Rastatt/Rheintal	Ostalb
Block 2	Rastatt/Rheintal	Bad Urach	Rastatt/Rheintal
	Bad Urach	Ostalb	Zähringen
Block 1	Rastatt/Rheintal	Zähringen	Rastatt/Rheintal

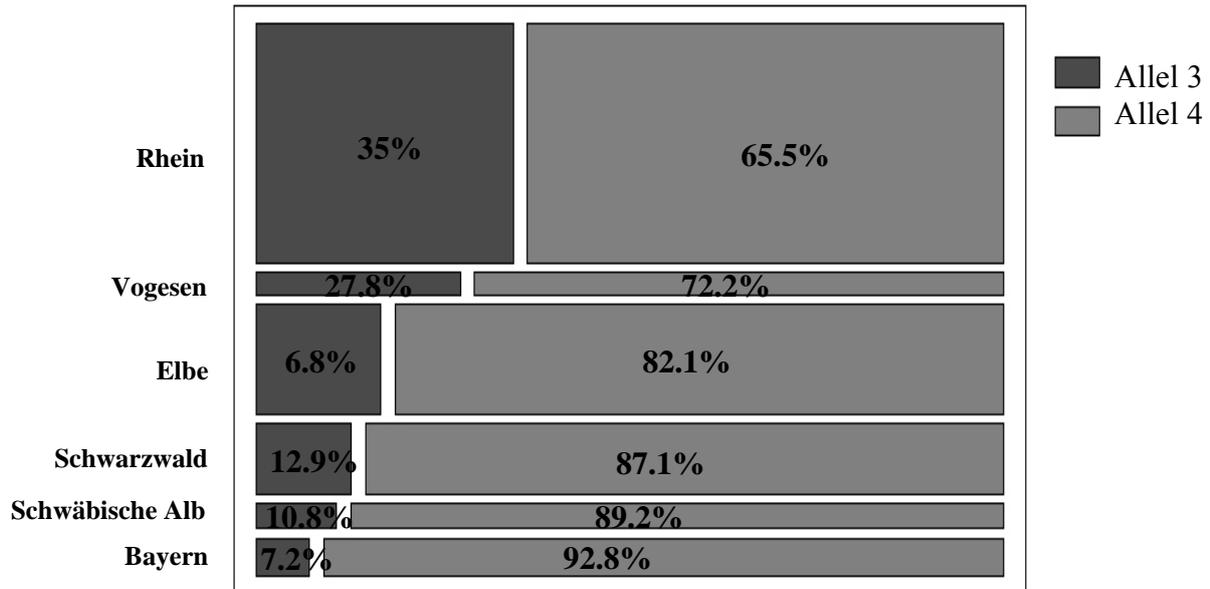
**8.2.4 Abbildung 4: Verteilung der verschiedenen Nachkommenschaften über die Fläche „Rastatt“**

Die Fläche wurde in drei Blöcke geteilt und je Herkunftsgebiet wurden drei Wiederholungen gepflanzt.

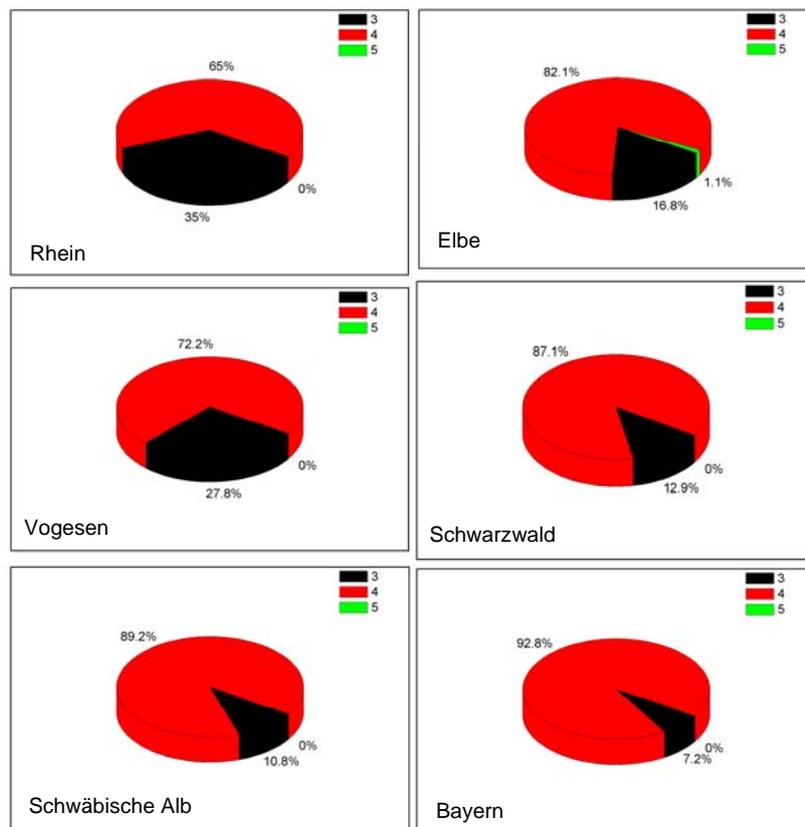


**8.2.5 Abbildung 5: Zymogramm für das Enzymsystem Alkoholdehydrogenase (ADH) im Kambium**

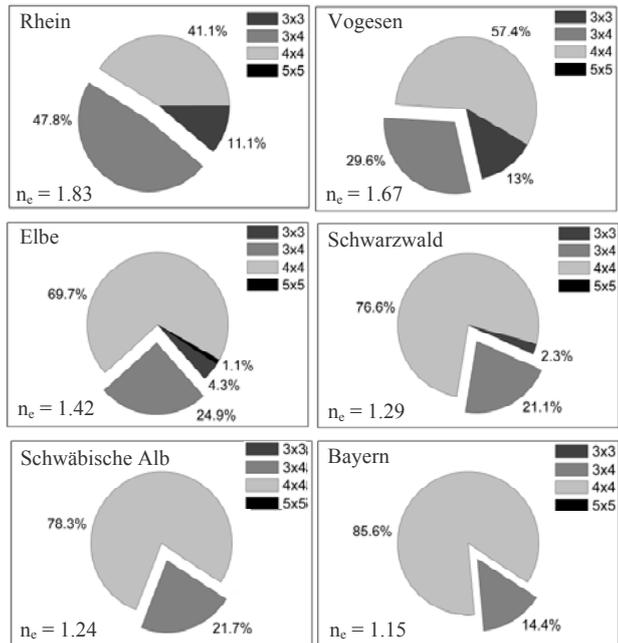
Genorte ADH-A und ADH-B mit der Allel-Bezeichnung



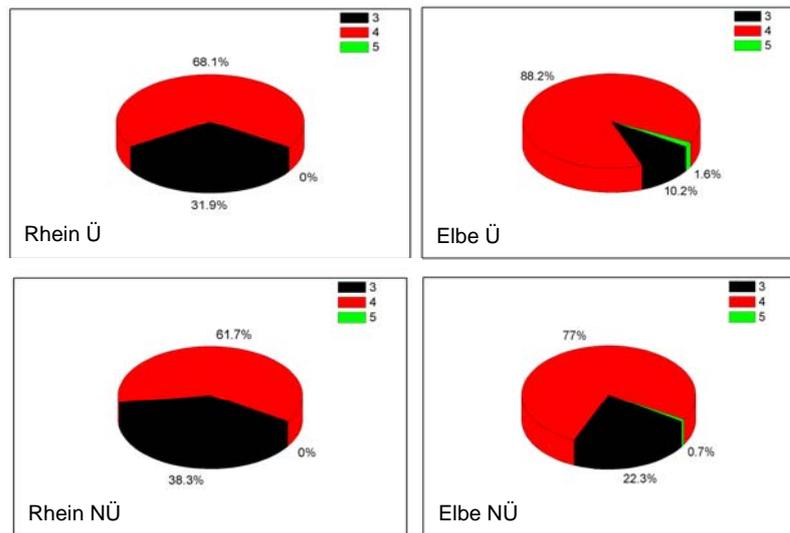
8.2.6 Abbildung 6: Mosaik-Diagramm mit Prozenten der Allele 3 und 4 am Genort ADH-B und deren relativer Beitrag für jedes untersuchte Herkunftsgebiet.



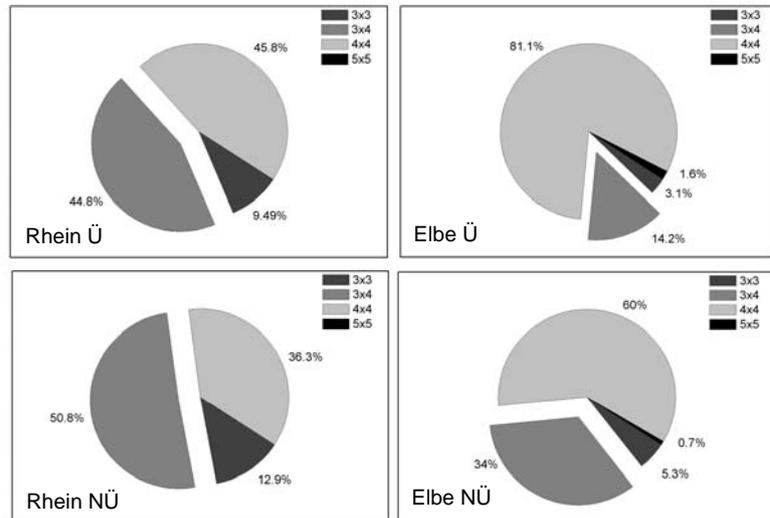
8.2.7 Abbildung 7: Allele-Verteilung am Genort ADH-B in jedem untersuchten Herkunftsgebiet



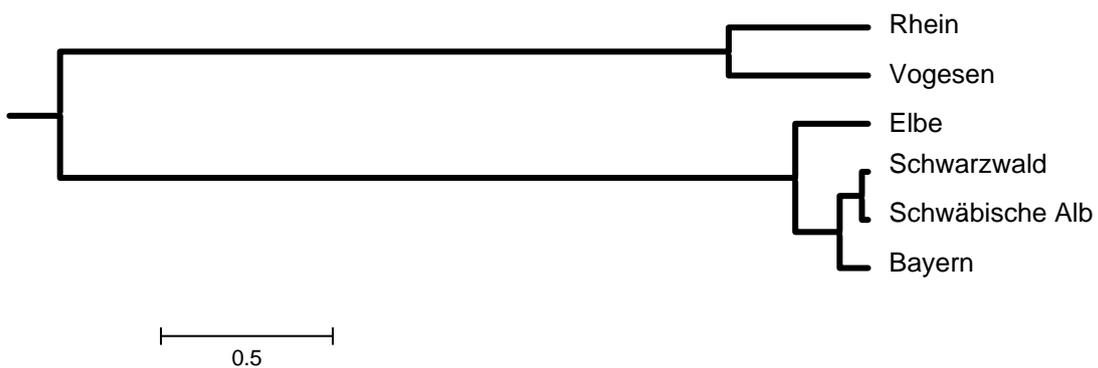
8.2.8 **Abbildung 8: Anzahl effektiver Allele ( $n_e$ ) und Verteilung der beobachteten Genotypen am Genort ADH-B in jedem untersuchten Herkunftsgebiet**



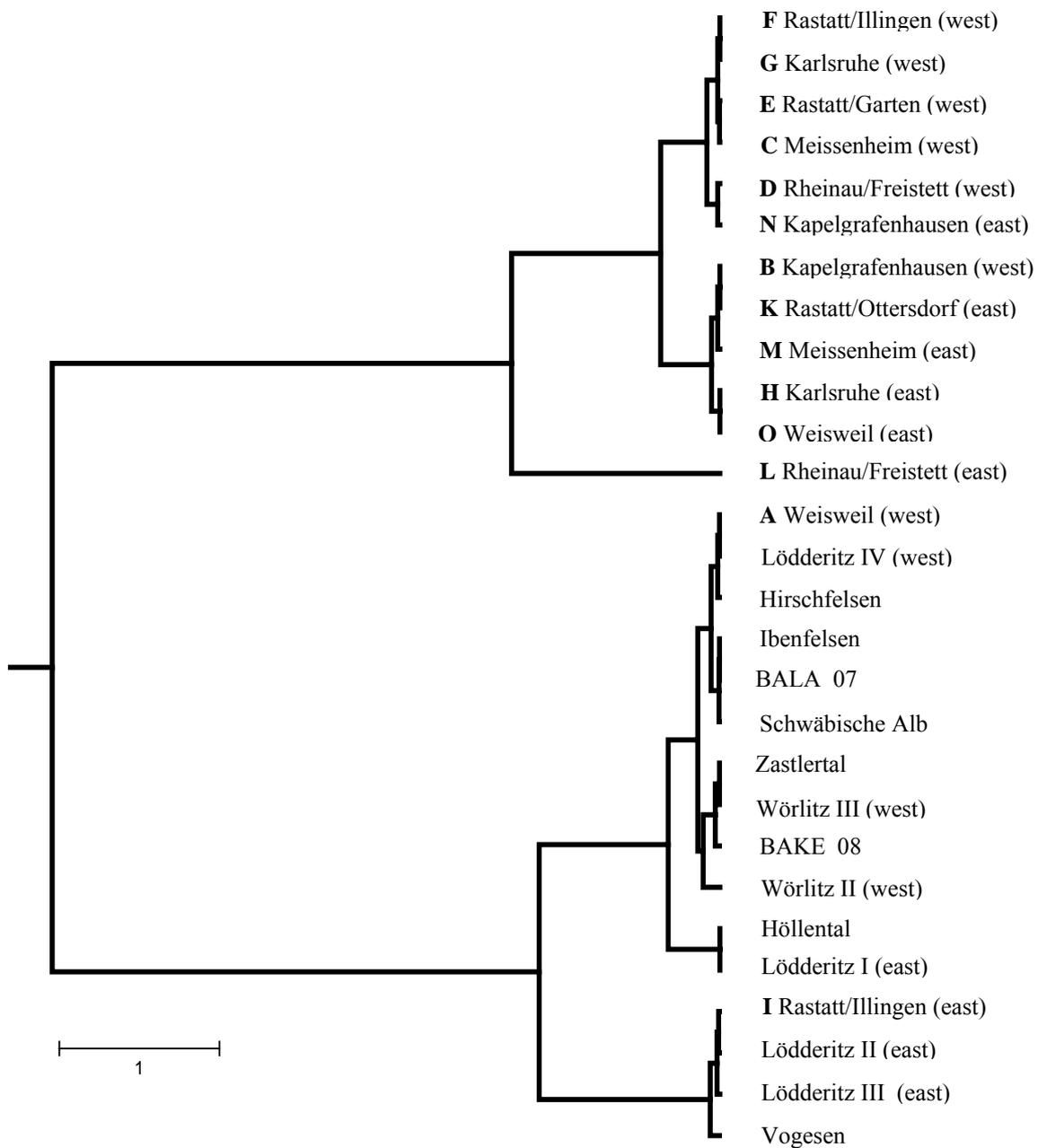
8.2.9 **Abbildung 9: Allele Verteilung am Genort ADH-B in den überfluteten Transekten (Ü) und nicht überfluteten Transekten (NÜ) der Rhein- und Elbeauen**



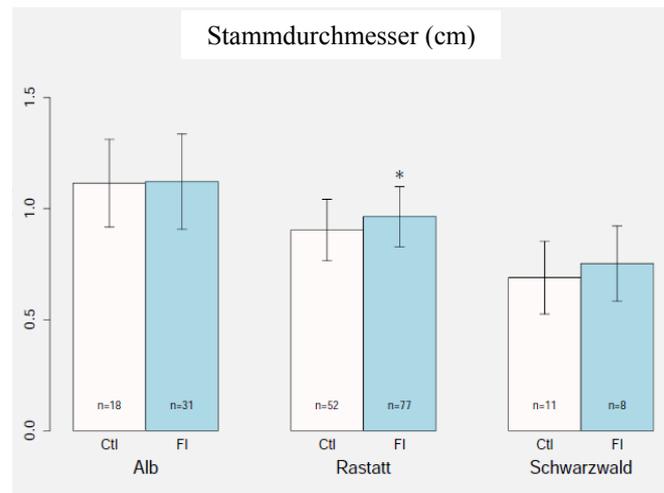
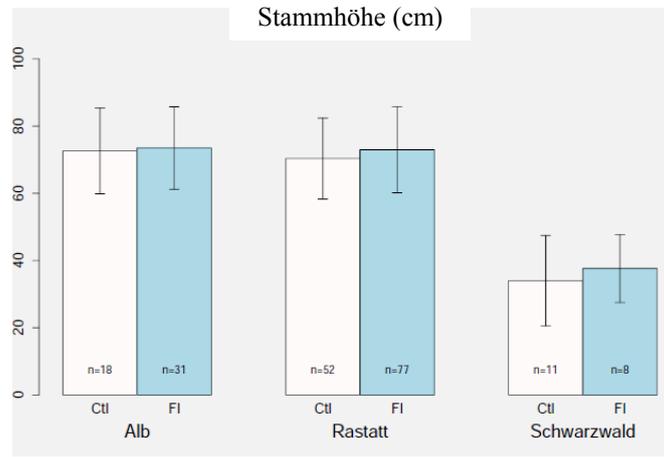
8.2.10 Abbildung 10: Genotypen-Verteilung am Genort ADH-B in den überfluteten Transekten (Ü) und nicht überfluteten Transekten (NÜ) der Rhein- und Elbeauen



8.2.11 Abbildung 11: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für den Genort ADH-B und die sechs untersuchten Herkunftsgebiete.

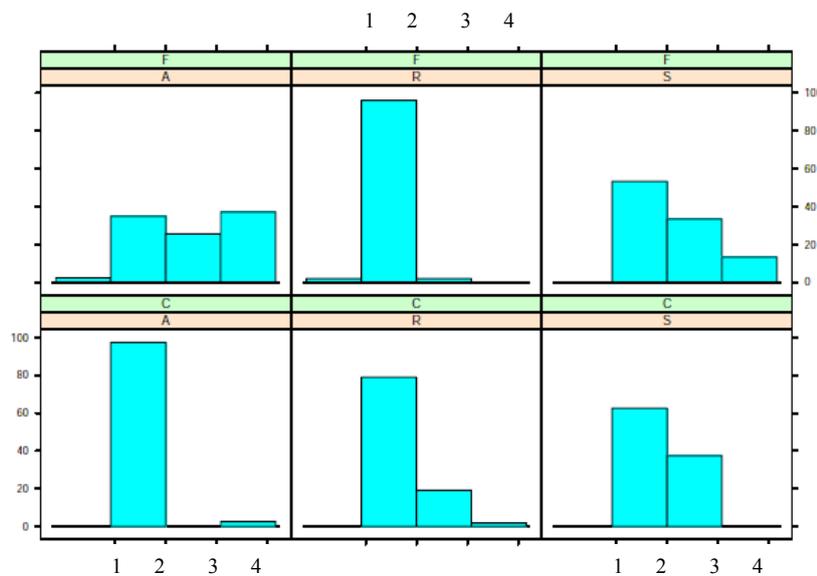


8.2.12 **Abbildung 12: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für den Genort ADH-B und die 28 untersuchten Populationen**



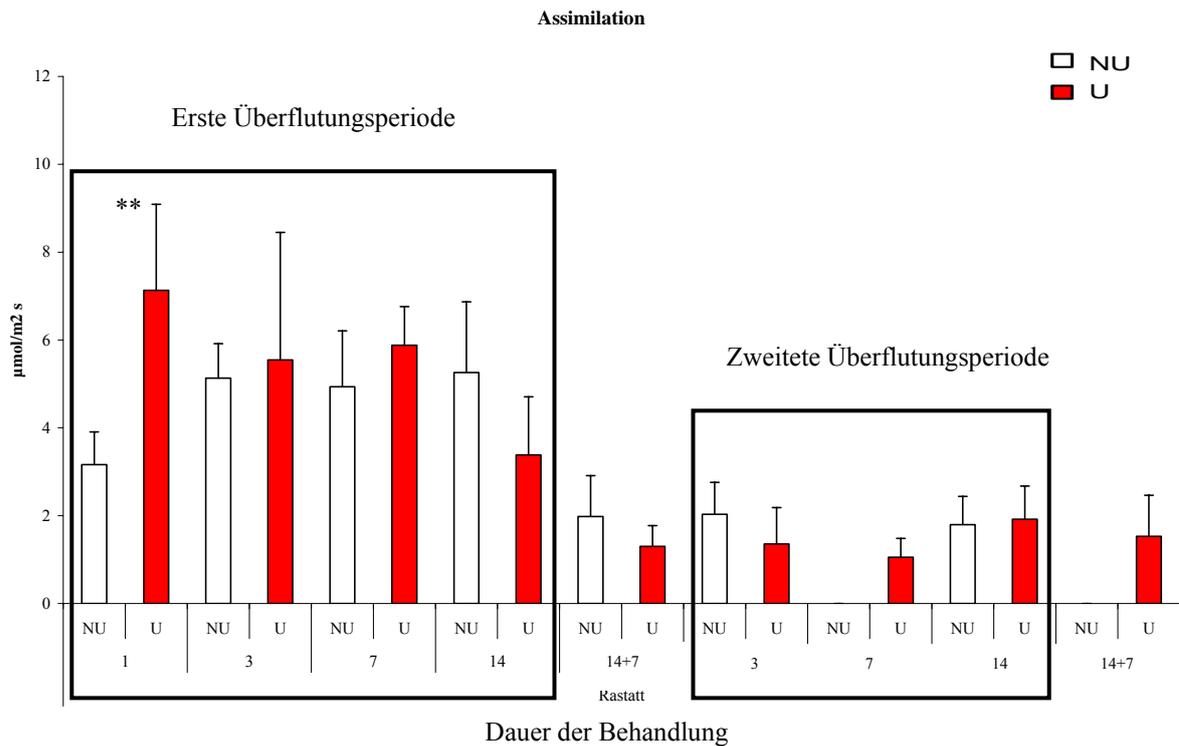
**8.2.13** Abbildung 13: Ergebnis der Bonitierug der Stammhöhe (oben) und des Stammdurchmessers an der Stamm-Basis (unten) für alle untersuchte Herkunftsgebiete und beide Behandlungen

Ctr: Kontrollpflanzen, FI: überflutete Pflanzen, Alb: Schwäbische Alb



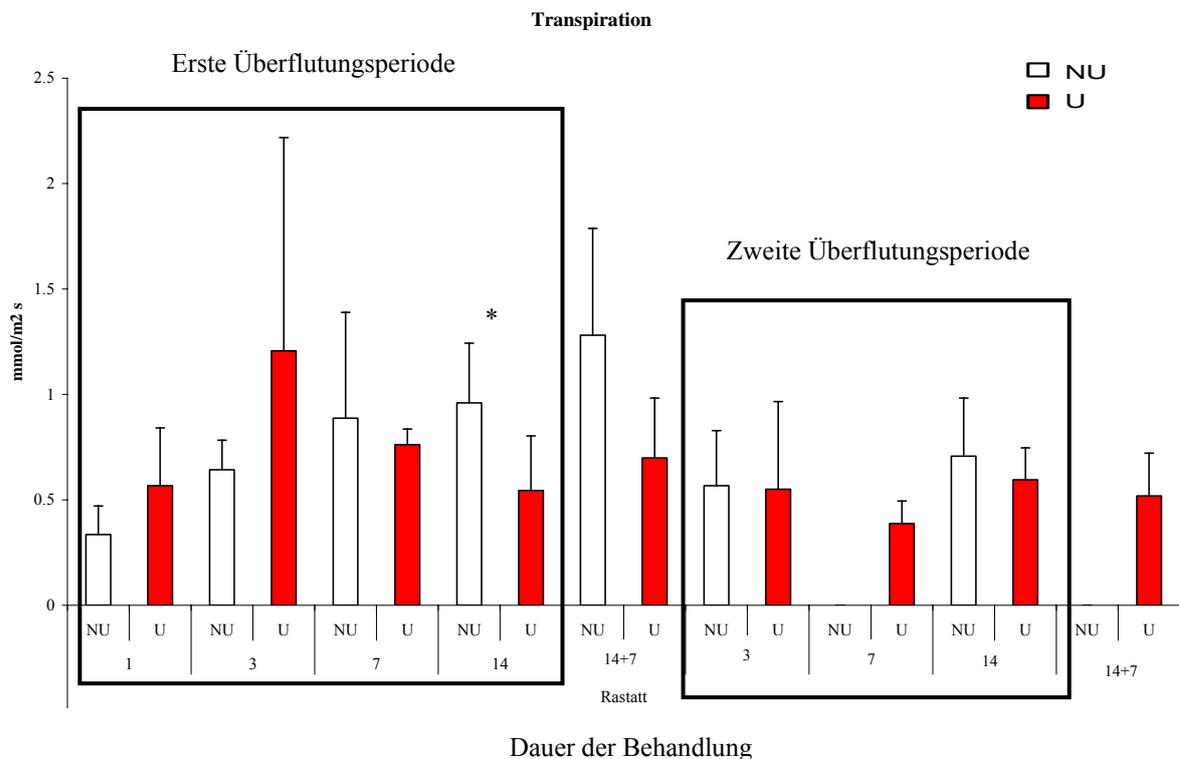
**8.2.14** Abbildung 14: Allgemeiner Zustand der Pflanzen nach der vier Klassen-Bewertung für alle untersuchten Herkunftsgebiete und beide Behandlungen

C: Kontrollpflanzen, F: überflutete Pflanzen, A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, S: Schwarzwald



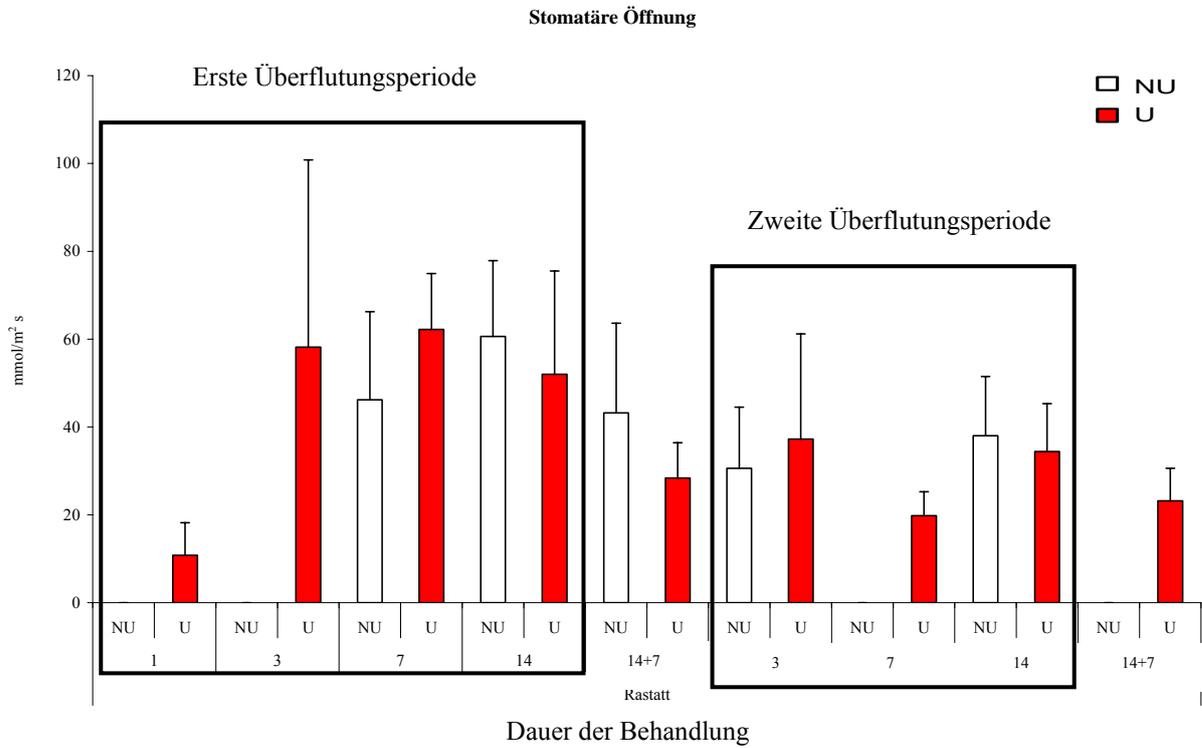
**8.2.15** Abbildung 15: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt

Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



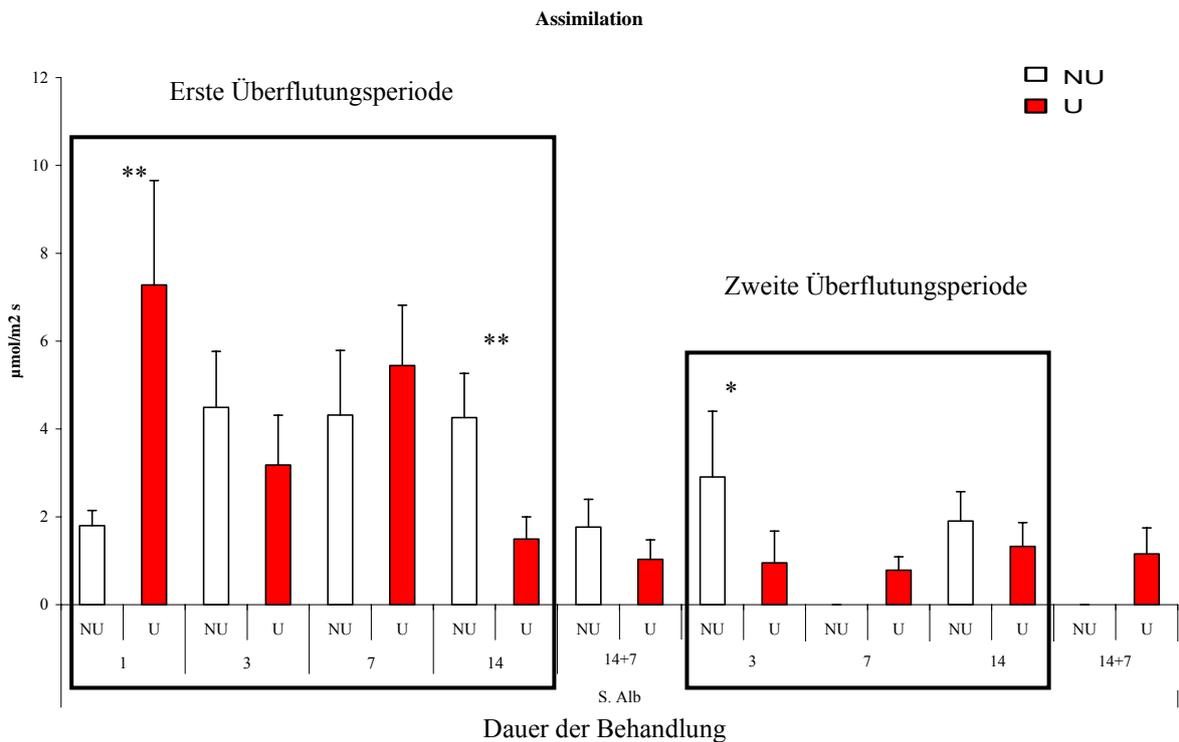
**8.2.16** Abbildung 16: Verlauf der Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beide Überflutungsperiode des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt

Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



**8.2.17** Abbildung 17: Stomatäre Öffnung (mmol/m<sup>2</sup> s) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Rastatt

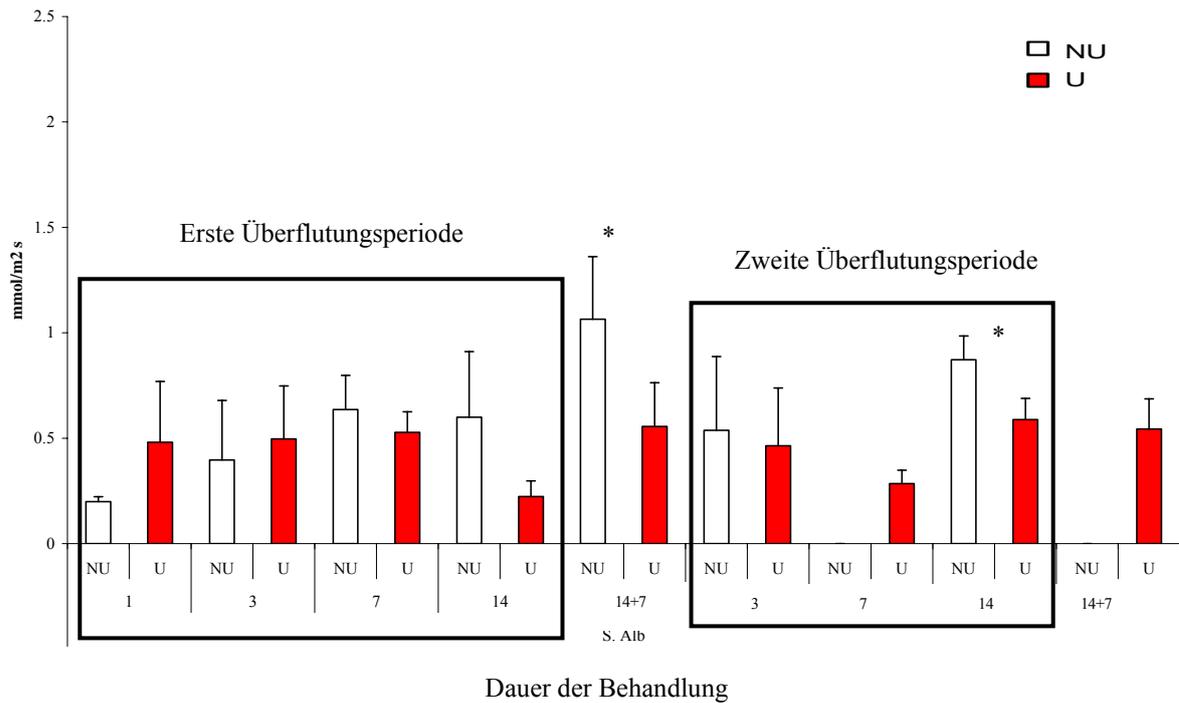
Signifikanz T-Test: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01



**8.2.18** Abbildung 18: Verlauf der Assimilation (µmol/m<sup>2</sup> s) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb

Signifikanz T-Test: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

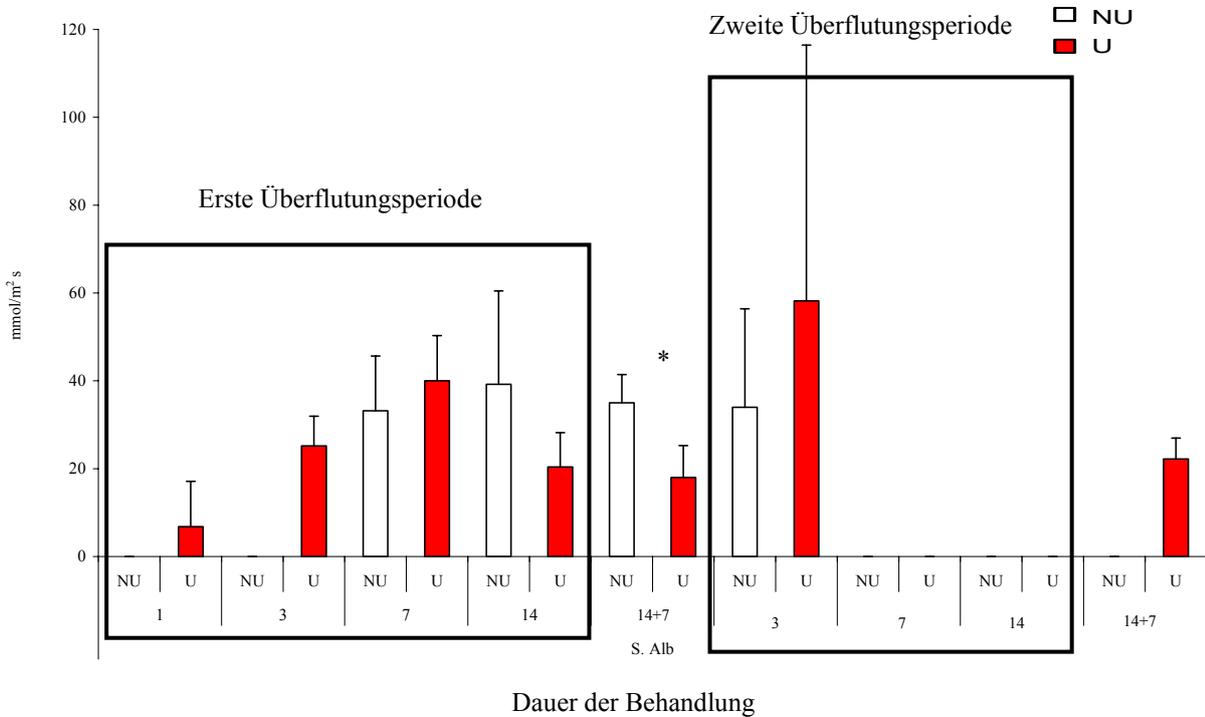
### Transpiration



**8.2.19** Abbildung 19: Verlauf der Transpiration (mmol/m<sup>2</sup> s) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb

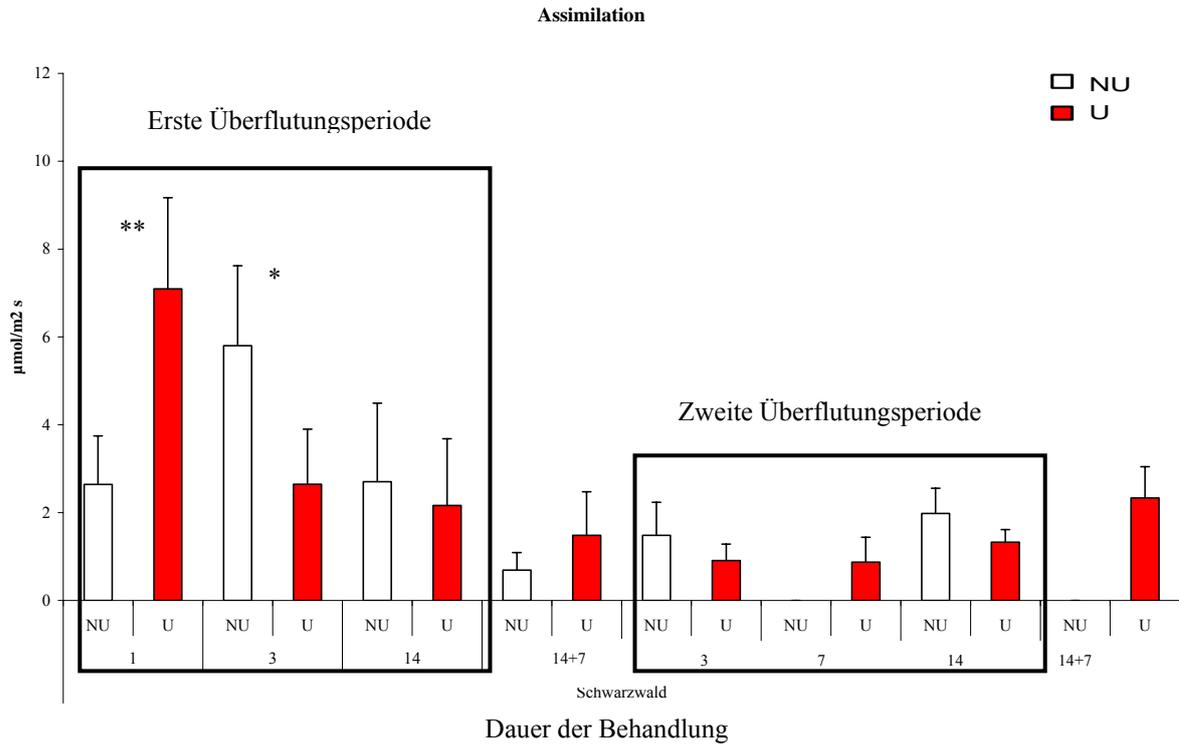
Signifikanz T-Test: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

### Stomatäre Öffnung



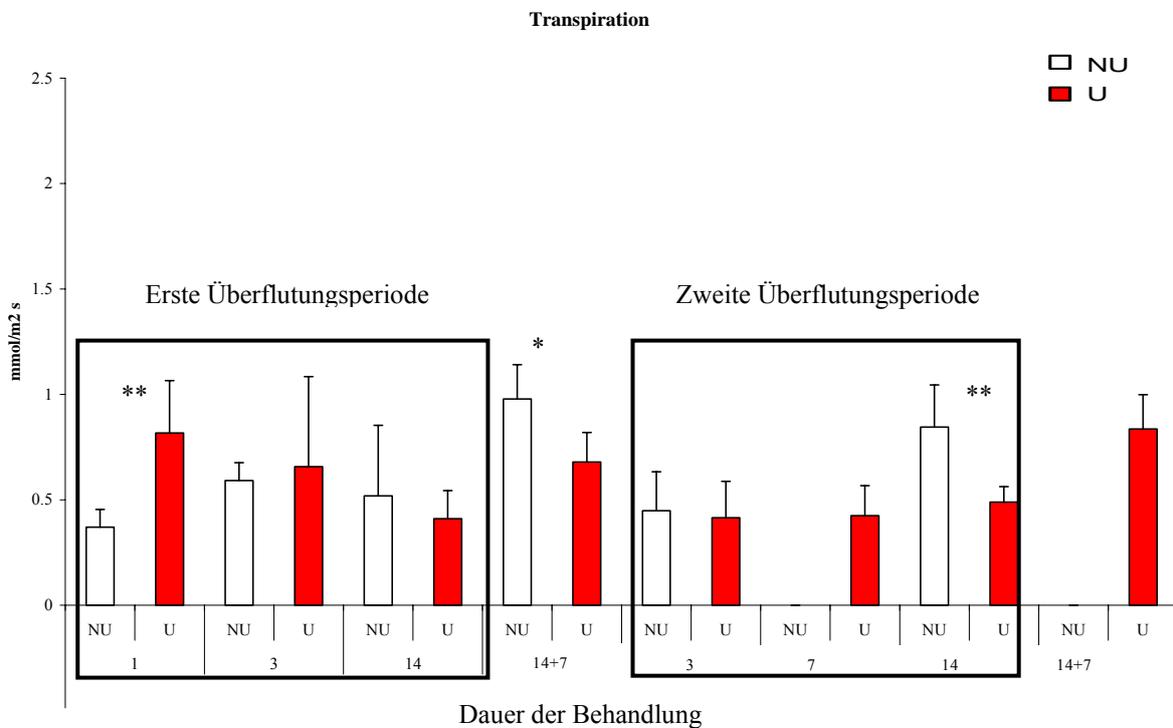
**8.2.20** Abbildung 20: Stomatäre Öffnung (mmol/m<sup>2</sup> s) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwäbische Alb

Signifikanz T-Test: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01



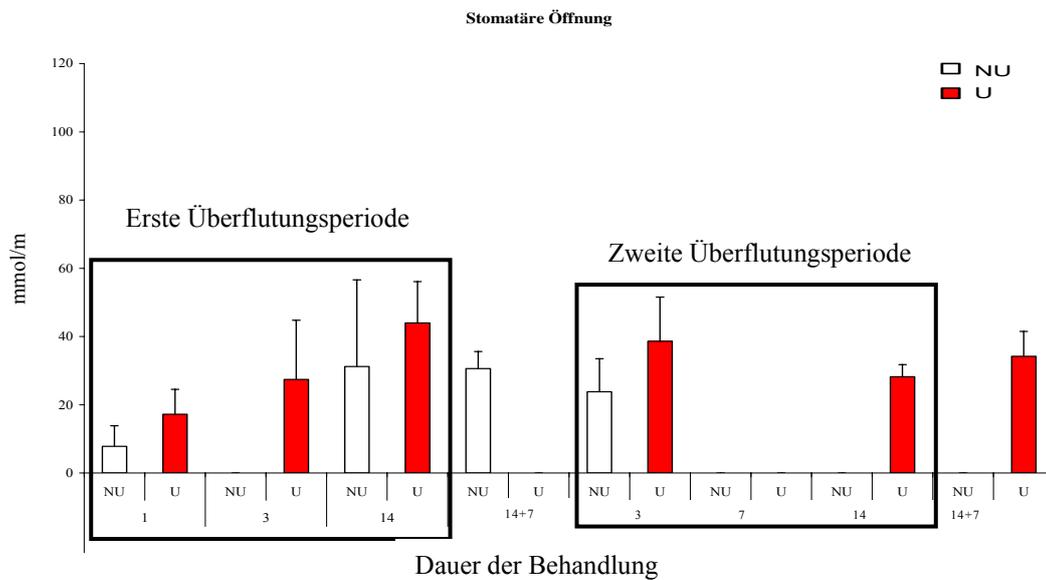
**8.2.21 Abbildung 21: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald**

Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



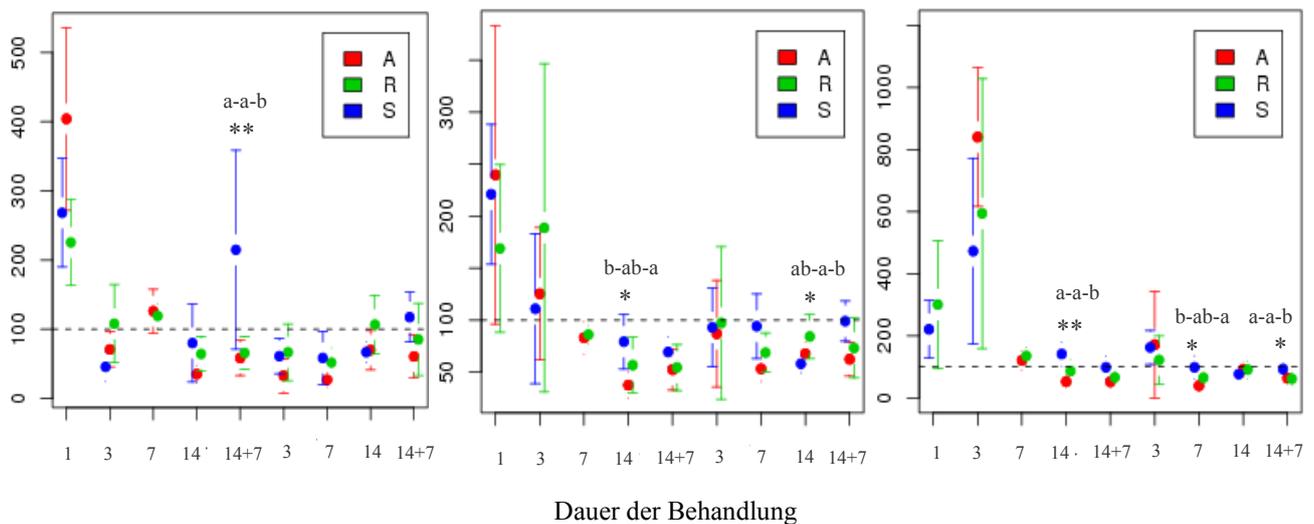
**8.2.22 Abbildung 22: Verlauf der Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald**

Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



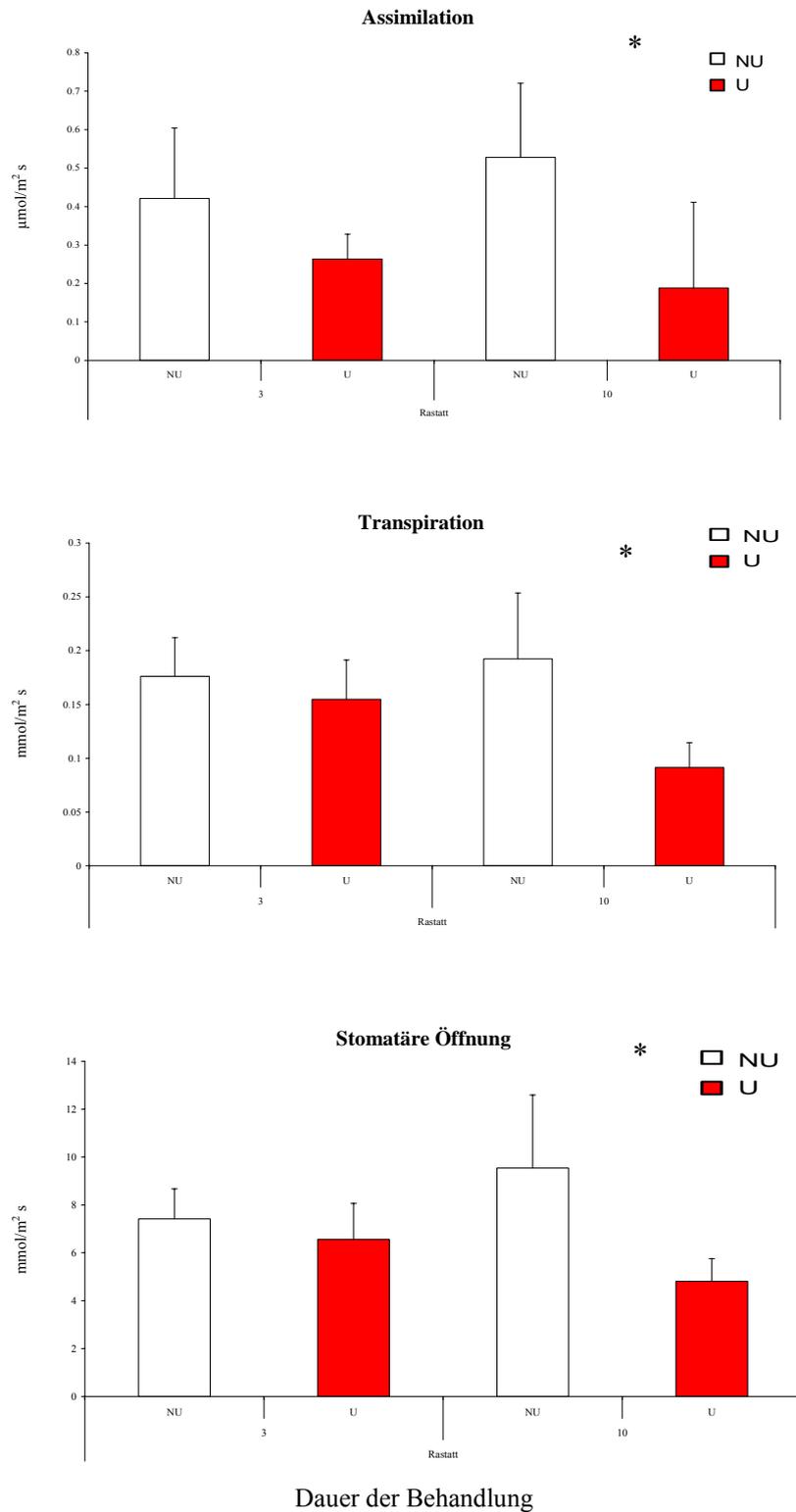
**8.2.23 Abbildung 23: Stomatäre Öffnung (mmol/m<sup>2</sup> s) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 an der Herkunft Schwarzwald**

Signifikanz T-Test: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01



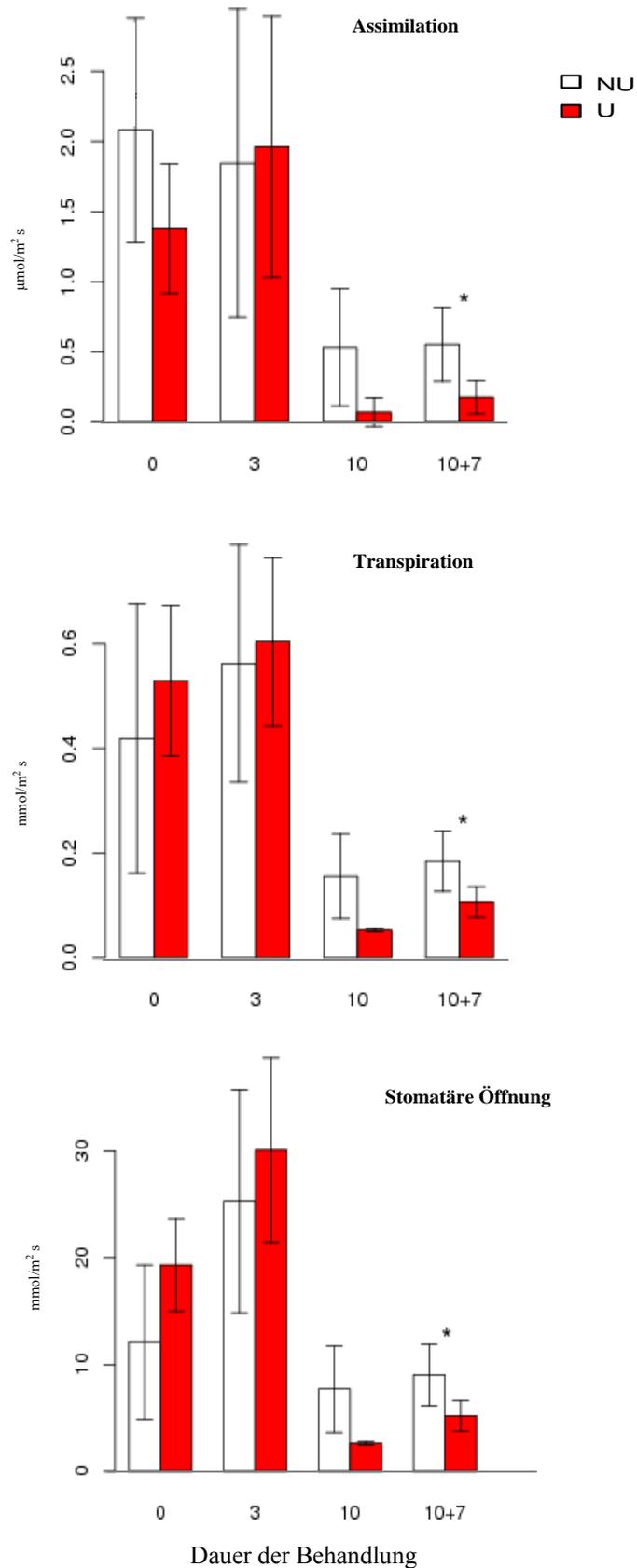
**8.2.24 Abbildung 24: Verlauf der relative Werte der Assimilation (links), Transpiration (Mitte) und stomatären Öffnung (rechts) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für jedes Herkunftsgebiet**

A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, S: Schwarzwald. Die Buchstaben zeigen die Homogenen Gruppen innerhalb jedes Messtags (Signifikanz ANOVA Analyse \* P < 0.05, \*\* P < 0.01. Post Hoc Test: Fisher,  $\alpha = 0.05$ )



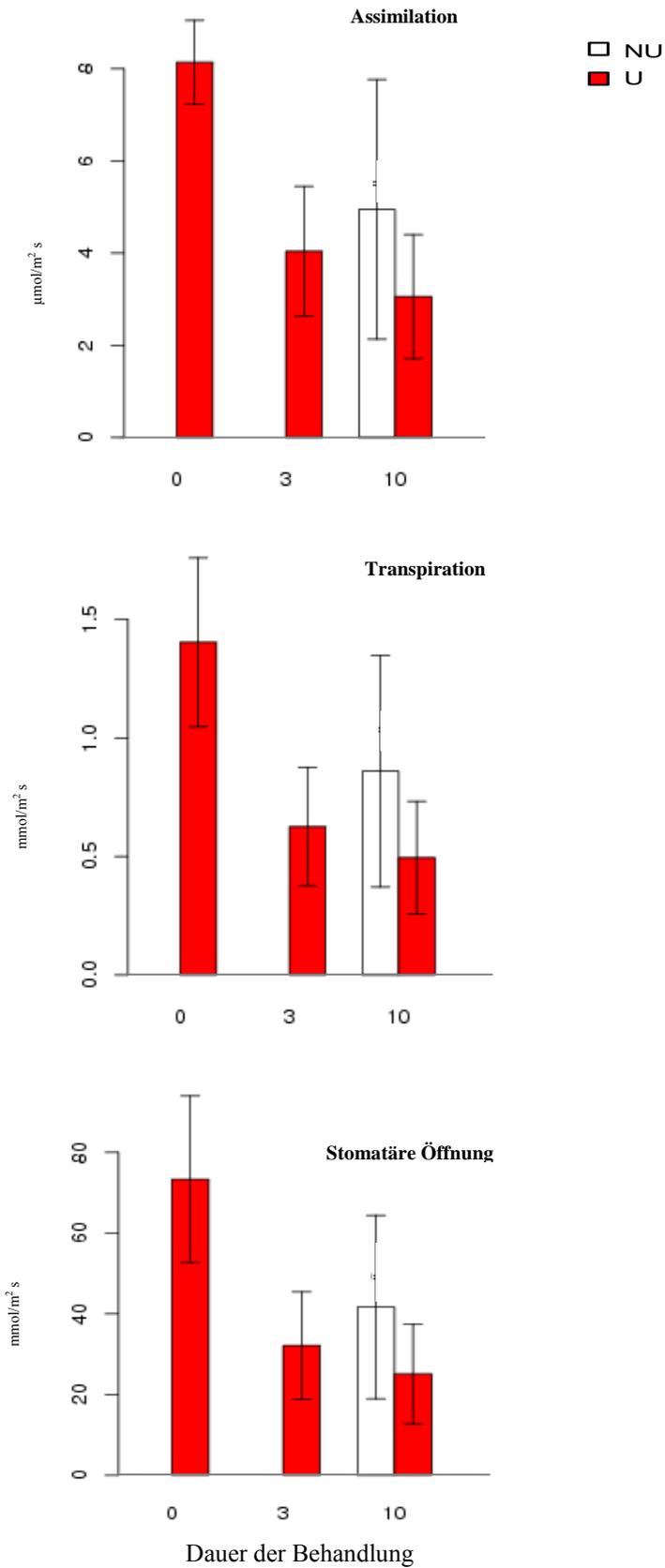
**8.2.25** **Abbildung 25: Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Herkunft Rastatt nach drei und zehn Tagen Behandlung**

NU: nicht überflutet, U: überflutet. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



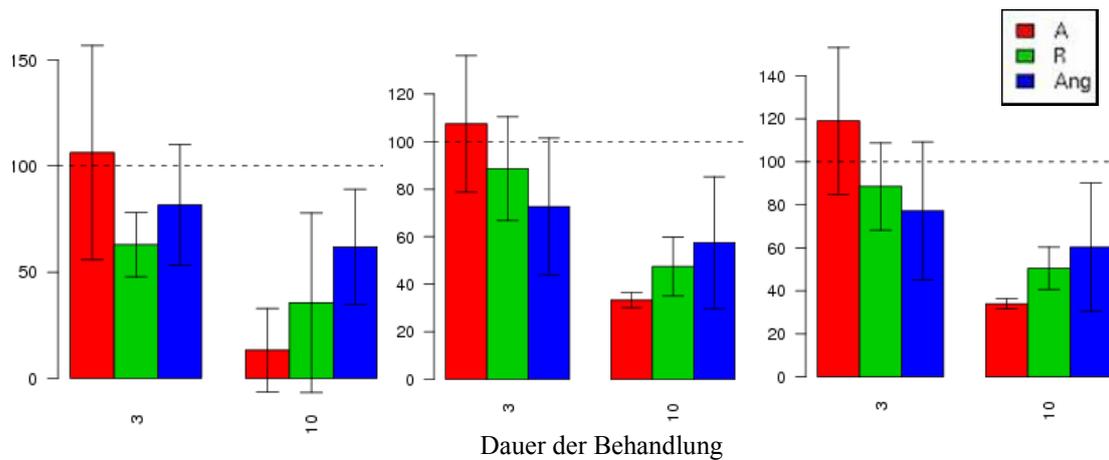
**8.2.26** **Abbildung 26:** Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Herkunft Schwäbisch Alb nach drei und zehn Tagen Behandlung und nach einer Woche „Erholungs-Phase“

NU: nicht überflutet, U: überflutet. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



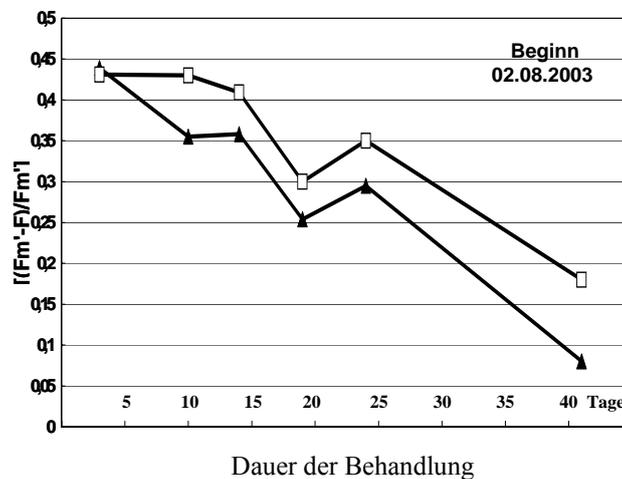
**8.2.27** **Abbildung 27:** Verlauf der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (oben), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (unten) während des Versuchs 2005 an der Art *F. angustifolia* nach drei und zehn Tagen Behandlung

NU: nicht überflutet, U: überflutet. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

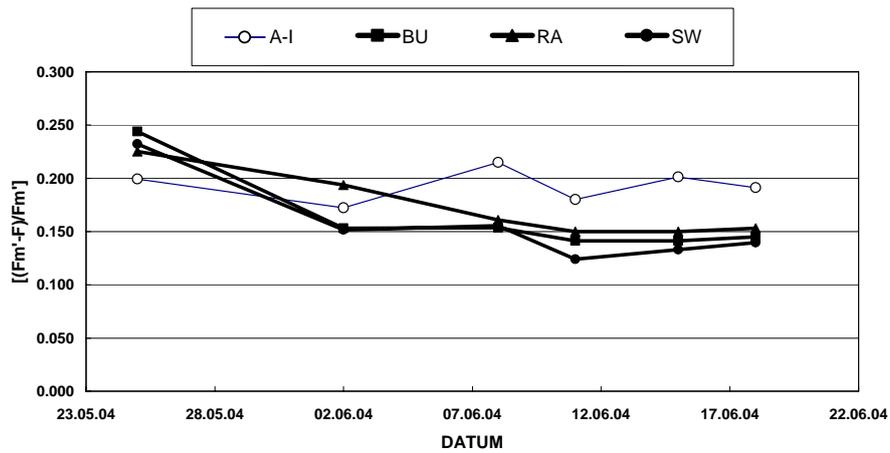


**8.2.28** **Abbildung 28:** Verlauf der relativen Werte der Assimilation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (links), Transpiration ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (mitte) und Stomatären Öffnung ( $\text{mmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ) (rechts) während des Versuchs 2005 für die drei untersuchten Pflanzengruppen (A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, Ang: *F. angustifolia*) nach drei und zehn Tagen Behandlung

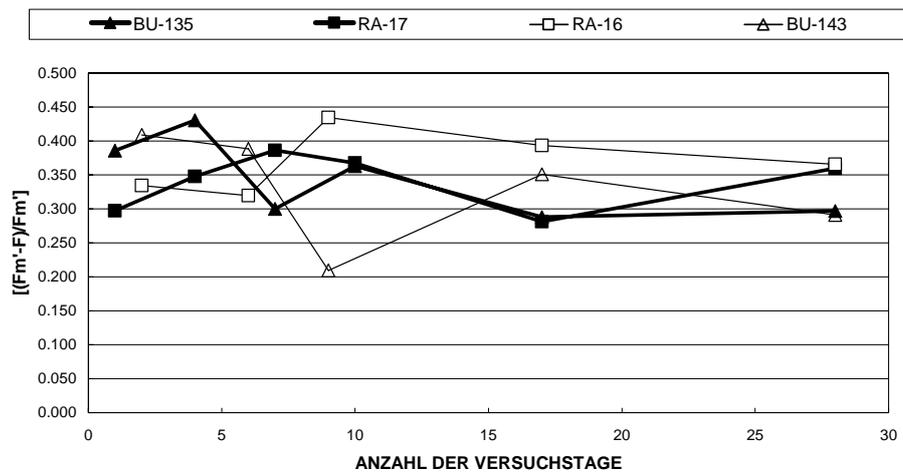
Die Buchstaben zeigen die homogenen Gruppen an jedem Messtag (Signifikanz ANOVA Analyse \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ )



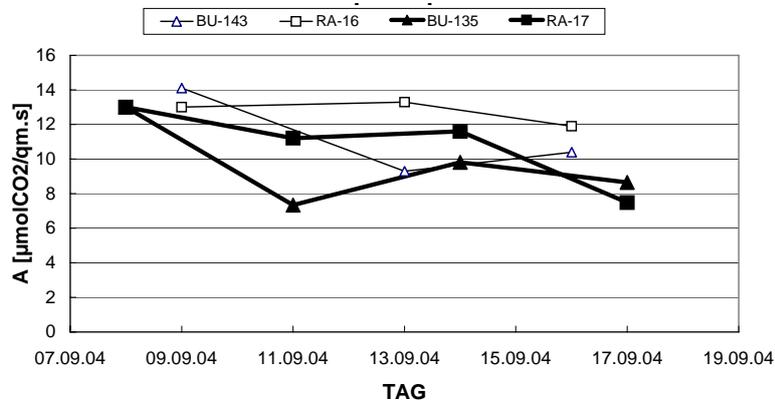
**8.2.29** **Abbildung 29:** Verlauf der photochemischen Quantenausbeute  $((F_m' - F_m)/F_m')$  von jeweils zwei Eschen aus Rastatt (obere Linie) und von der Schwäbischen Alb (untere Linie) während 40 Tagen Überflutung



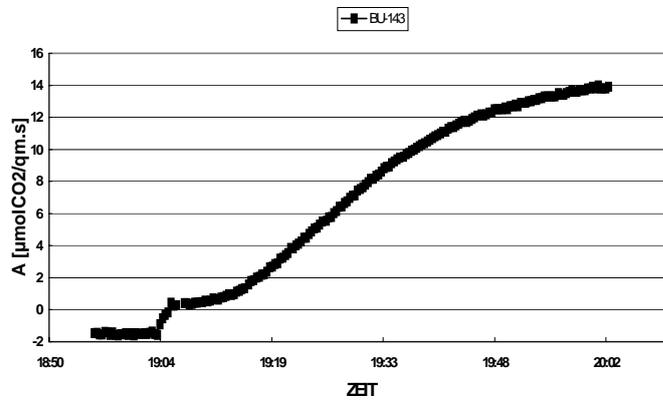
**8.2.30** Abbildung 30: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute  $((Fm' - F)/Fm')$  von nicht überfluteten (A1) und überfluteten Eschen (RA, BU, SW) bei  $1000 \mu\text{mol}/\text{qm s}$  PAR im Frühsommer 2004



**8.2.31** Abbildung 31: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute  $((Fm' - F)/Fm')$  von überfluteten Eschen (BU-135 und RA-17) und nicht überfluteten (RA-16 und BU-143) bei  $1000 \mu\text{mol}/\text{qm s}$  PAR in der Zeit von 08.09.04 zu 04.10.04

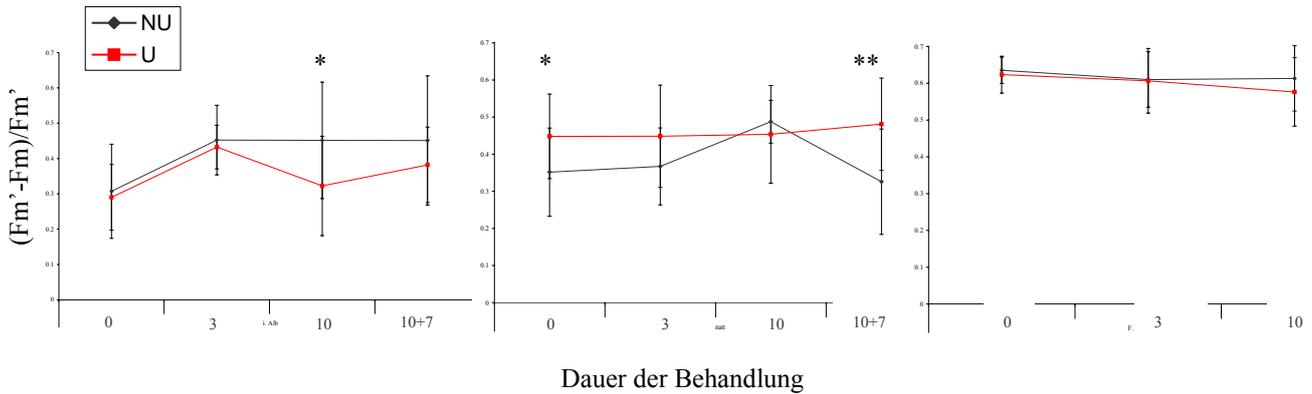


8.2.32 Abbildung 32: Verlauf der Nettoassimilationsrate (A) von Eschenblättern bei 1000 μmol/qm s PAR in Herbst 2004



8.2.33 Abbildung 33: Verlauf der Nettoassimilationsrate (A) eines Eschenblattes bei 1000 μmol/qm s PAR

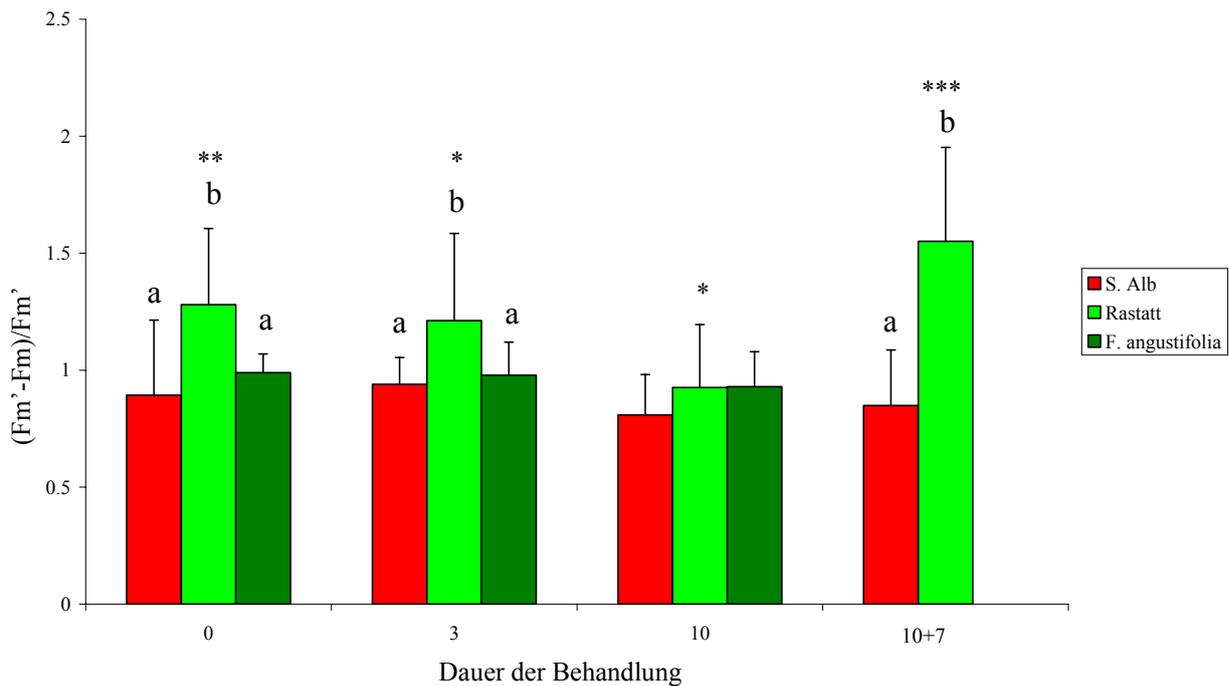
### Quantenausbeute



**8.2.34** Abbildung 34: Verlauf der photochemischen Quantenausbeute  $((Fm' - Fm)/Fm')$  bei überfluteten Eschen (U) und Kontrolle (NU) an den verschiedenen Messtagen (Dauer der Behandlung) bei  $1000 \mu\text{mol}/\text{qm s}$  PAR für jede Pflanzengruppe

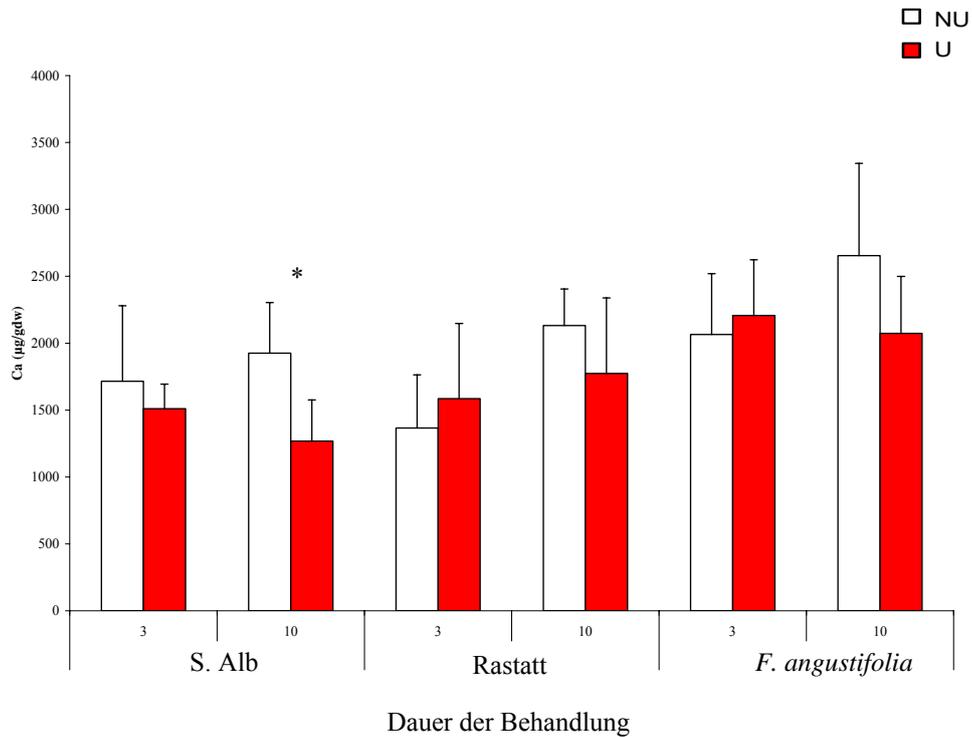
Links: Schwäbische Alb, mitte: Rastatt, rechts: *F. angustifolia*. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### Relative Quantenausbeute



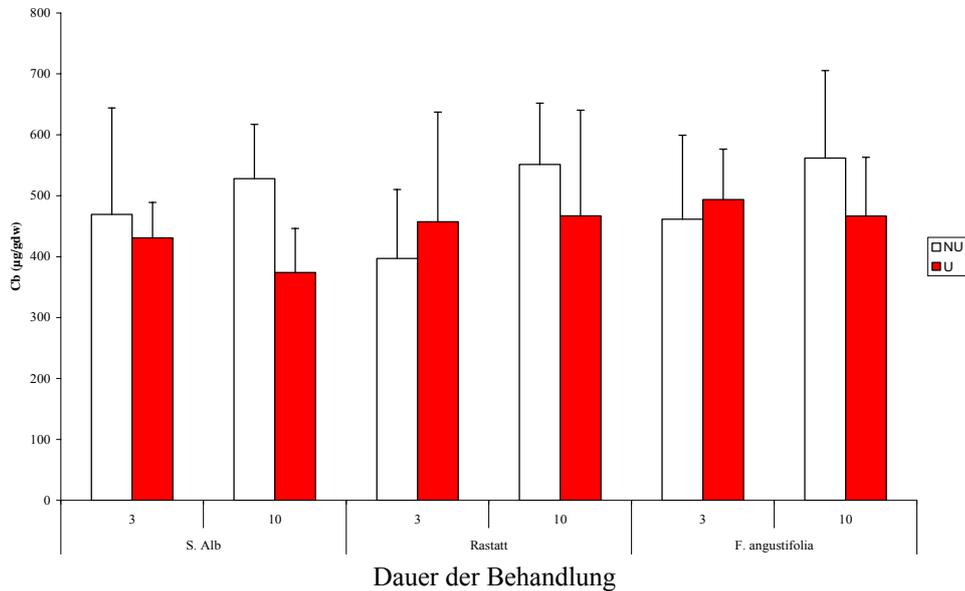
**8.2.35** Abbildung 35: Verlauf der relativen photochemischen Quantenausbeute  $((Fm' - Fm)/Fm')$  an den verschiedenen Messtagen (Dauer der Behandlung) bei  $1000 \mu\text{mol}/\text{qm s}$  PAR für jede Pflanzengruppe

S. Alb: Schwäbische Alb. Die Buchstaben zeigen die Homogenen Gruppen innerhalb jedes Messtags (Signifikanz ANOVA Analyse \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Post Hoc Test: Tukey HSD,  $\alpha = 0.05$ )



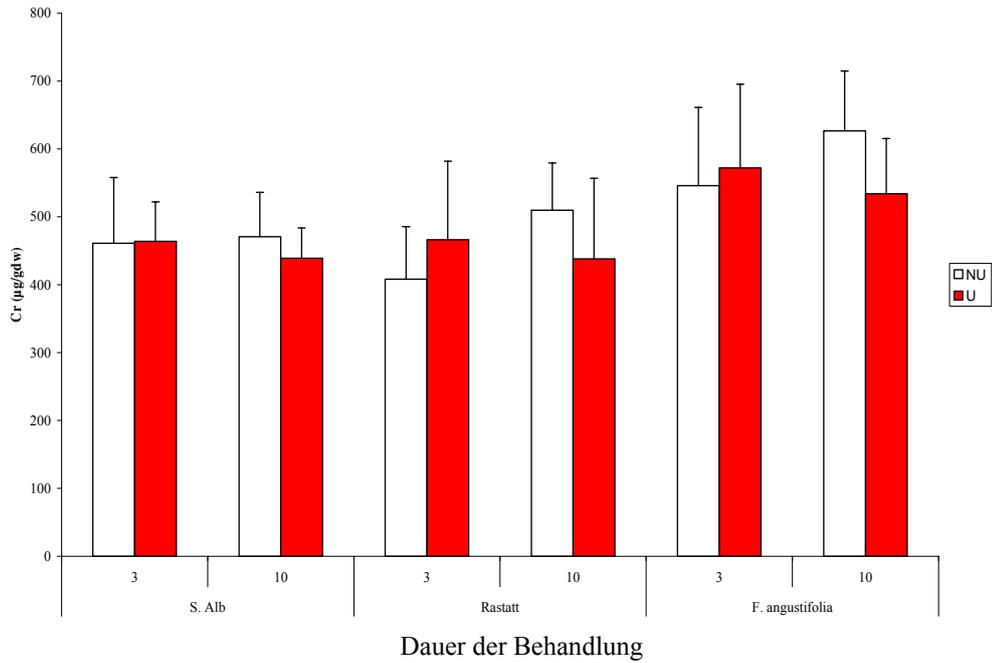
**8.2.36** Abbildung 36: Gehalt am Blattpigment Chlorophyll a (Ca) ( $\mu\text{g/g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe

S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



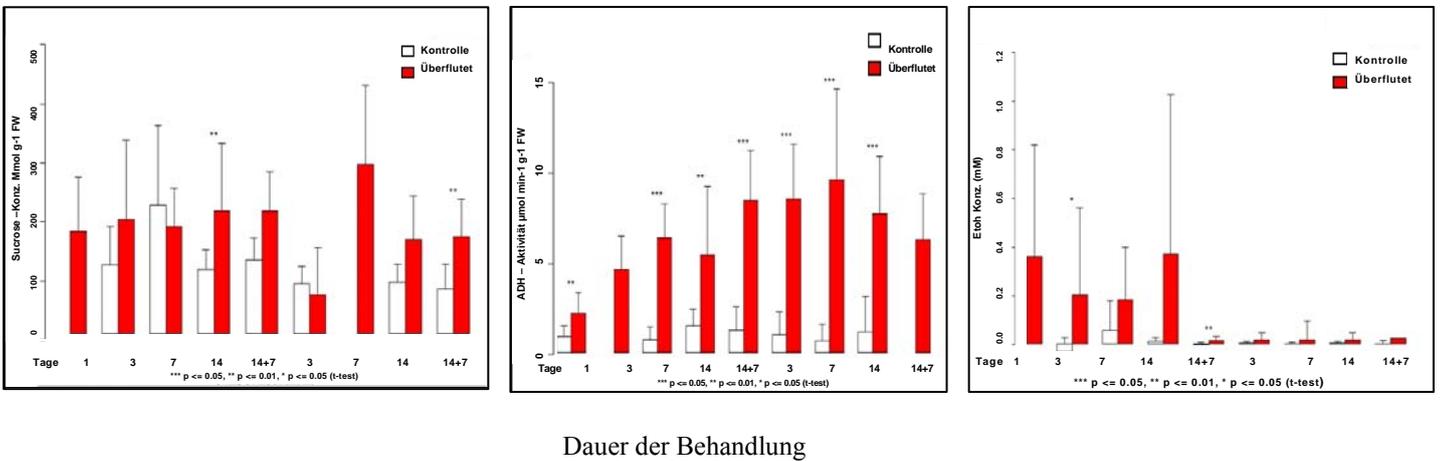
**8.2.37** Abbildung 37: Gehalt am Blattpigment Chlorophyll b (Cb) ( $\mu\text{g/g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe

S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



**8.2.38 Abbildung 38: Gehalt am Blattpigment Cr ( $\mu\text{g/g dW}$ ) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für jede Pflanzengruppe**

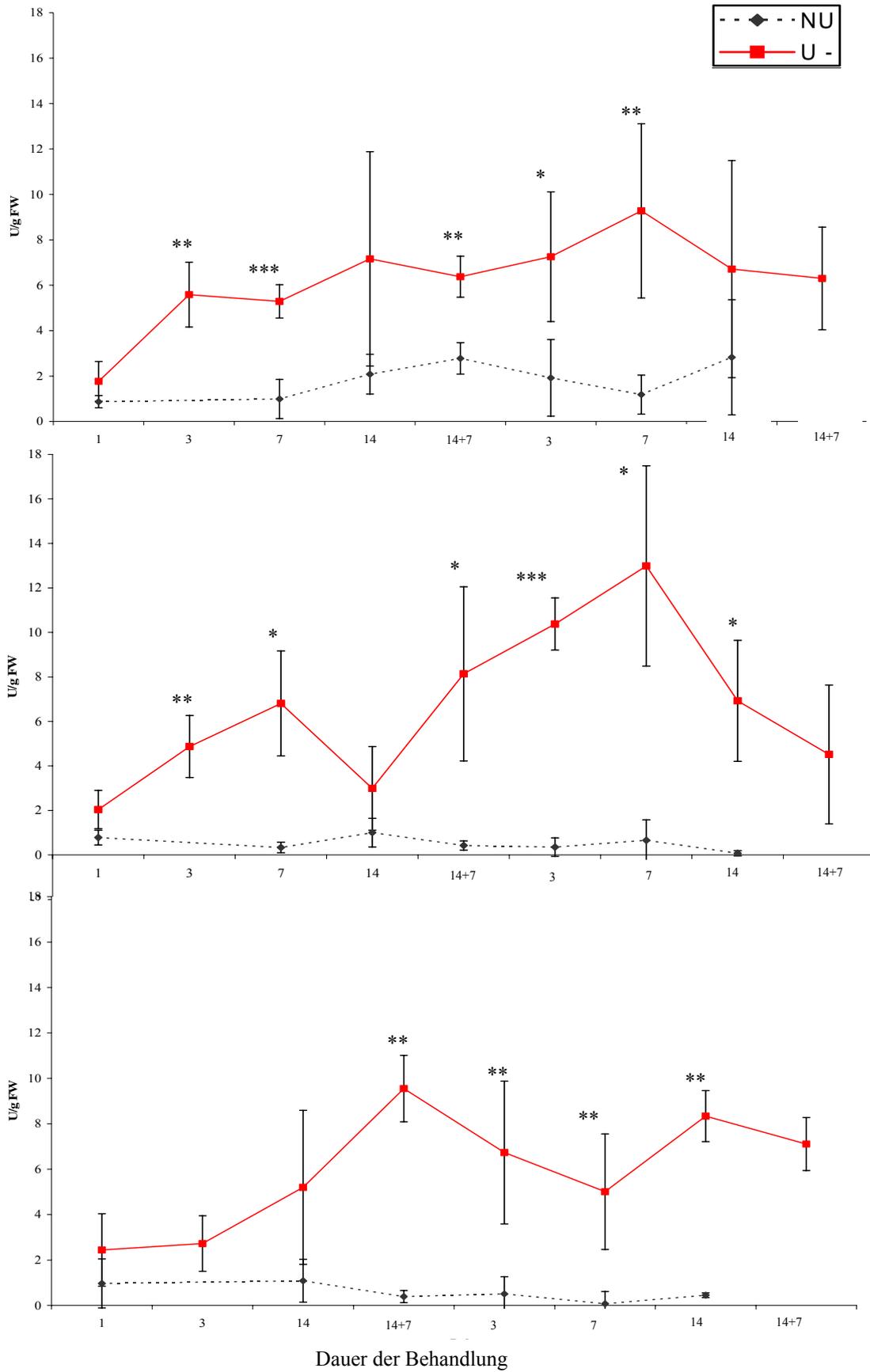
S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$



**8.2.39 Abbildung 39: Verlauf der Saccharose-Konzentration im Phloem (links), ADH-Aktivität im Wurzelgewebe (Mitte) und Ethanol-Konzentration im Xylem (rechts), als Mittelwert aller drei Herkünfte unter überfluteten und Kontroll-Bedingungen während des Versuch 2004**

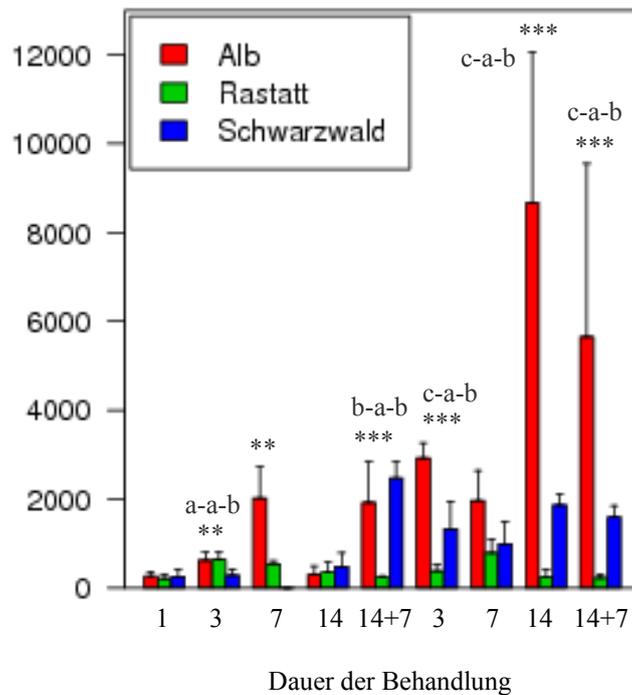
Signifikanz T-Test: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

ADH-Aktivität in Wurzeln



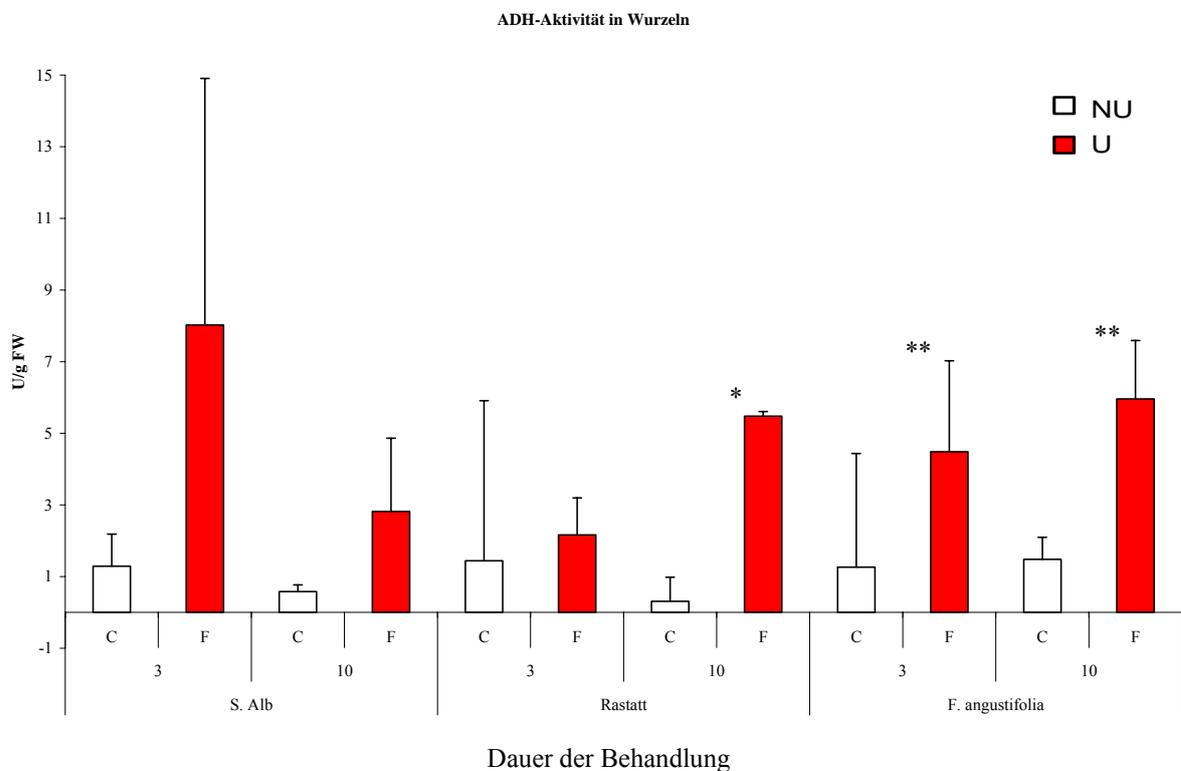
8.2.40 Abbildung 40: Verlauf der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe der Herkünfte Rastatt (oben), Schwäbische Alb (mitte), und Schwarzwald (unten) unter der Behandlungen Kontrolle (NU) und überflutet (U) während beider Überflutungsperioden des Versuch 2004

Signifikanz T-Test: \* P< 0.05, \*\* P< 0.01



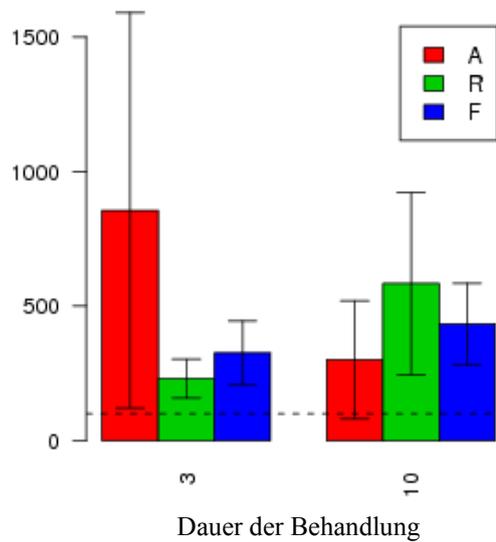
**8.2.41** **Abbildung 41: Verlauf der relativen Werte der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für alle drei Herkunftsgebiete**

Alb: Schwäbische Alb. Die Buchstaben zeigen die Homogenen Gruppen innerhalb jedes Messtags (Signifikanz ANOVA Analyse \* P< 0.05, \*\* P< 0.01. Post Hoc Test: Fisher,  $\alpha = 0.05$ )



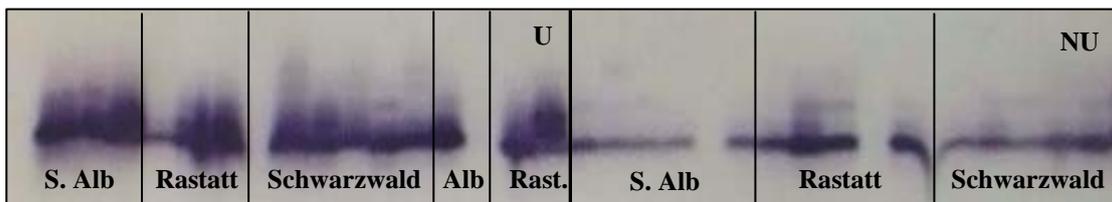
**8.2.42** **Abbildung 42: Verlauf der ADH-Aktivität während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: überflutet) für alle drei Pflanzengruppen**

S. Alb: Schwäbische Alb, Rastatt und *F. angustifolia*. Signifikanz T-Test: \* P< 0.05, \*\* P< 0.01



8.2.43 **Abbildung 43: Verlauf der relativen Werte der ADH-Aktivität im Wurzelgewebe während der Überflutung 2005 für alle drei untersuchten Pflanzengruppen**

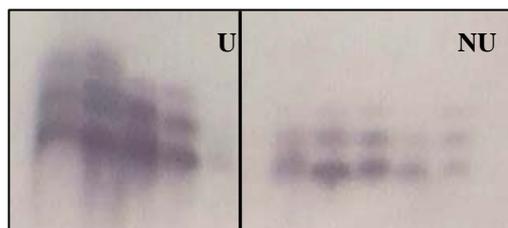
A: Schwäbische Alb. Signifikanz ANOVA Analyse \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .



8.2.44 **Abbildung 44: Vergleich der ADH-Aktivität in den Wurzeln von *F. excelsior* L. an überfluteten (U) und nicht überfluteten (NU) Pflanzen nach 42 Tage Behandlung aus den Herkunftsgebieten Rastatt, Schwarzwald und Schwabische Alb**

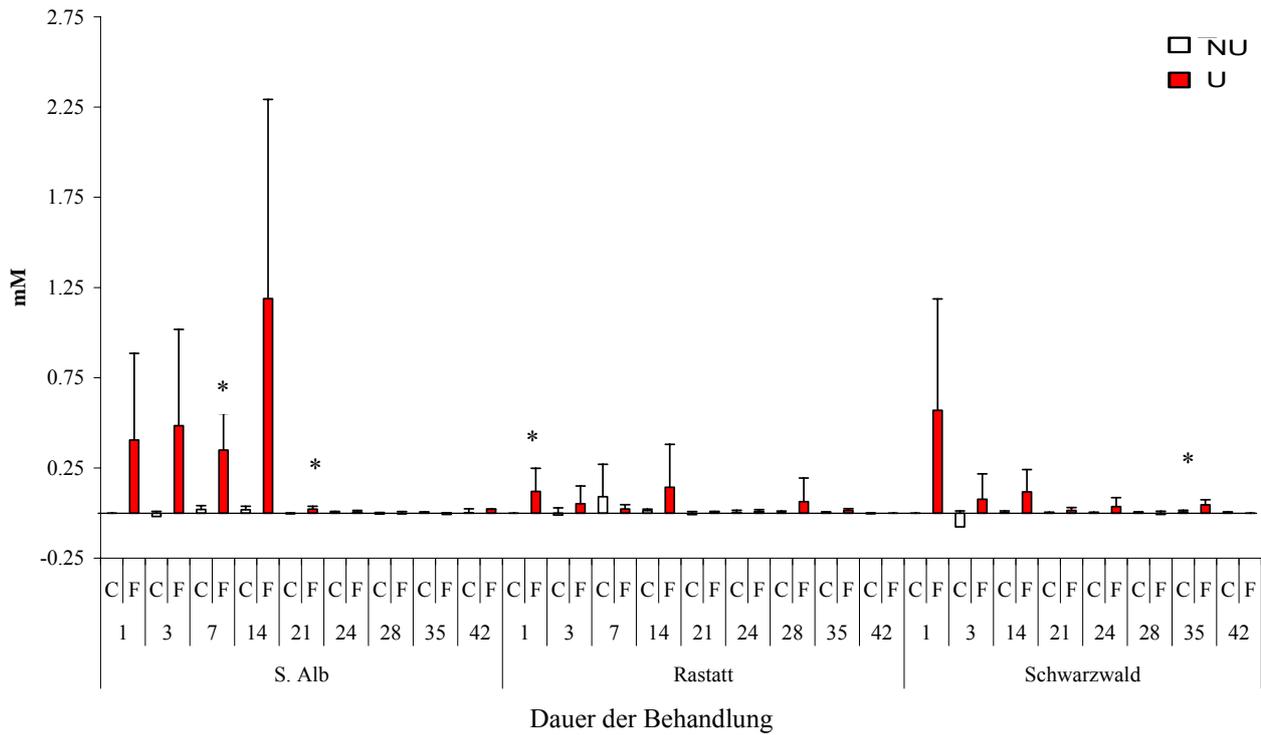


8.2.45 **Abbildung 45: Vergleich der ADH-Aktivität in den Wurzeln der Kontrollpflanzen der Arten *F. angustifolia* L. und *F. excelsior* L.**



8.2.46 **Abbildung 46: Vergleich der ADH-Aktivität in Wurzeln von überfluteten Pflanzen (U) und Kontrollpflanzen (NU) der Art *F. angustifolia* L.**

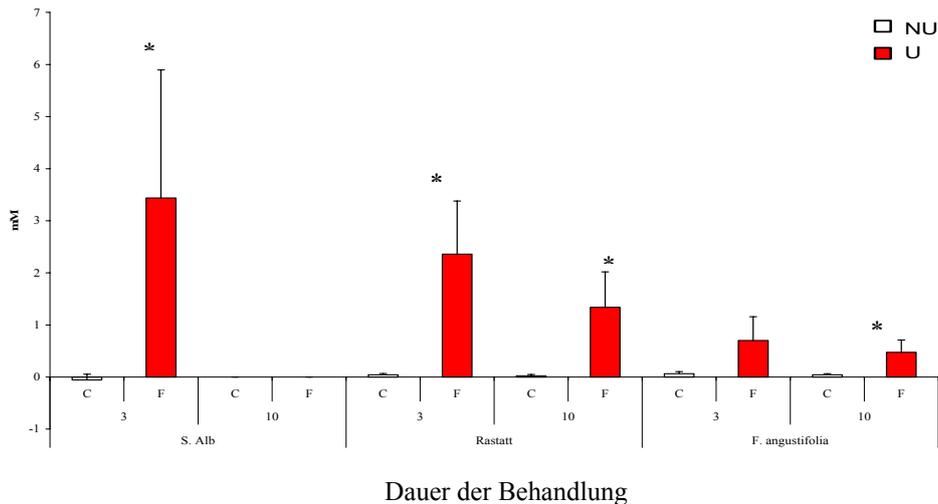
Ethanolkonzentration in Xylem



8.2.47 **Abbildung 47: Veränderung der Ethanolkonzentration im Xylem unter beiden Behandlungen (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) während des Versuchs 2004 bei allen drei untersuchten Pflanzengruppen**

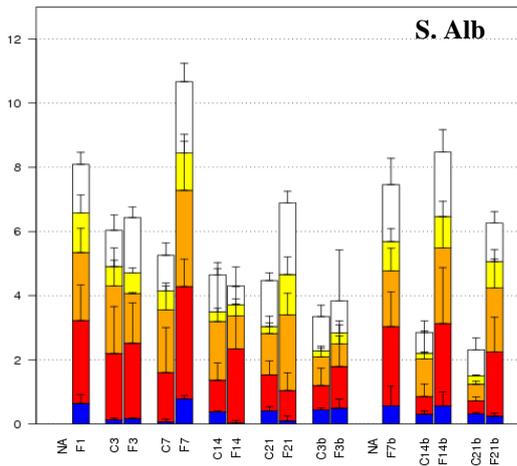
S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test: \* P< 0.05, \*\* P< 0.01

Ethanolkonzentration in Xylem

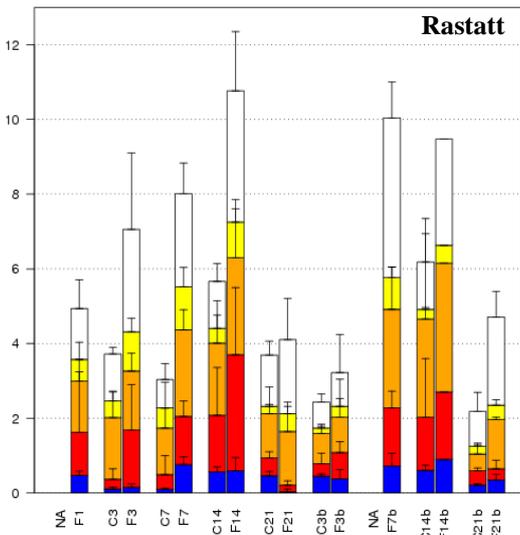


8.2.48 **Abbildung 48: Veränderung der Ethanolkonzentration im Xylem während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen Behandlung (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) für alle drei untersuchten Pflanzengruppen**

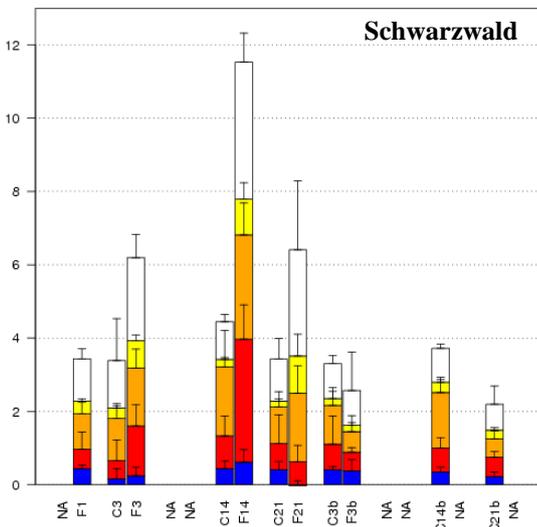
S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test: \* P< 0.05, \*\* P< 0.01



T-Test									
S. Alb	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.18	0	0	0.02	0.75	NA	0.43	0.22
Mannitol	NA	0.83	0.03	0.11	0.58	0.36	NA	0.18	0.03
Glukose	NA	0.42	0.22	0.38	0.03	0.58	NA	0.16	0.02
Fruktose	NA	0.82	0.1	0.72	0.01	0.46	NA	0.1	0.03
Sucrose	NA	0.17	0.01	0.12	0.01	0.94	NA	0.06	0.18
G. Zuc.	NA	0.85	0.01	0.8	0.05	0.77	NA	0.11	0.03



T-Test									
Rastatt	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.5	0	0.88	0	0.59	NA	NA	0.25
Mannitol	NA	0.13	0.02	0.15	0.01	0.09	NA	NA	0.62
Glukose	NA	0.88	0.01	0.42	0.58	0.78	NA	NA	0
Fruktose	NA	0.04	0.15	0.12	0.11	0.19	NA	NA	0.13
Sucrose	NA	0.24	0.01	0.03	0.3	0.68	NA	NA	0.04
G. Zuc.	NA	0.1	0	0.08	0.68	0.54	NA	NA	0.03

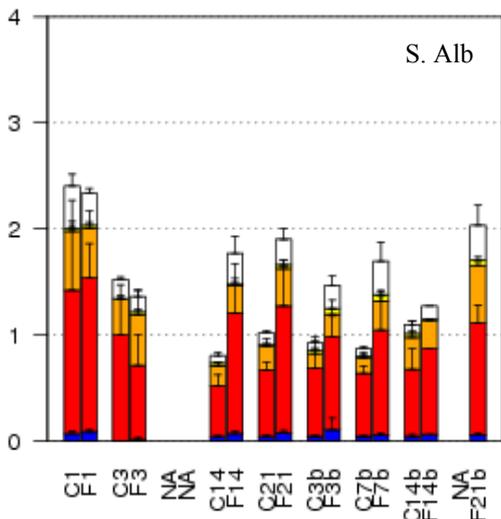


T-Test									
Schwarz.	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.66	NA	0.36	0.02	0.85	NA	NA	NA
Mannitol	NA	0.04	NA	0	0.89	0.61	NA	NA	NA
Glukose	NA	0.18	NA	0.15	0.07	0.13	NA	NA	NA
Fruktose	NA	0	NA	0.02	0.03	0.86	NA	NA	NA
Sucrose	NA	0.15	NA	0	0.11	1	NA	NA	NA
G. Zuc.	NA	0.05	NA	0	0.15	0.51	NA	NA	NA

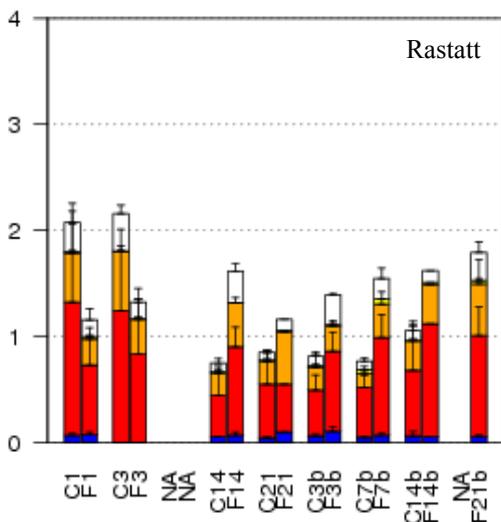
Dauer der Behandlung

**8.2.49** **Abbildung 49: Veränderung der Zuckerkonzentration im Wurzelgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet) für die drei untersuchten Herkünfte**

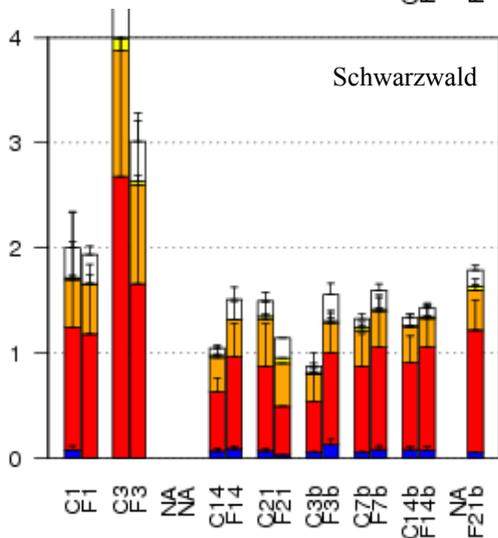
S. Alb: Schwäbische Alb. Jede Abbildung ist von einer Tabelle mit den Ergebnissen des T-Tests (P Wert) zwischen Kontroll-Pflanzen und überfluteten Pflanzen begleitet. G. Zuc.: gesamte Zucker. NA: keine Daten vorhanden



T-Tests									
S. Alb	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	0.22	0.37	NA	0.18	0.36	0.29	0.16	NA	NA
Mannitol	0.8	0.32	NA	0.13	0.27	0.22	0.09	NA	NA
Glukose	0.62	0.34	NA	0.22	0.19	0.04	0.07	NA	NA
Fruktose	0.86	0.09	NA	0.36	0.65	0.54	0.11	NA	NA
Sucrose	0.18	0.34	NA	0.12	0.31	0.01	0.07	NA	NA
<b>G. Zuc.</b>	<b>0.9</b>	<b>0.63</b>	NA	<b>0.14</b>	<b>0.3</b>	<b>0.05</b>	<b>0.07</b>	NA	NA



T-Tests									
Rastatt	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	0.82	NA	NA	0.45	NA	0.1	0.11	NA	NA
Mannitol	0.23	0.39	NA	0.04	NA	0.01	0.02	NA	NA
Glukose	0.15	0.18	NA	0	NA	0.72	0.05	NA	NA
Fruktose	0.2	0.37	NA	0.07	NA	0.48	0.66	NA	NA
Sucrose	0.12	0.04	NA	0.02	NA	0	0.08	NA	NA
<b>G. Zuc.</b>	<b>0.19</b>	<b>0.25</b>	NA	<b>0.01</b>	NA	<b>0.01</b>	<b>0.03</b>	NA	NA

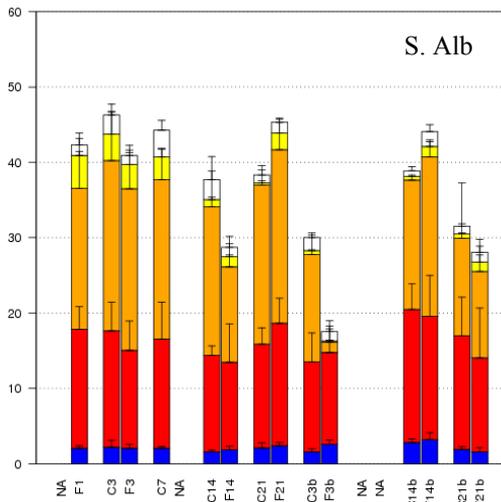


T-Tests									
Schwarz.	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	0.01	NA	NA	0.34	NA	0.04	0.31	0.9	NA
Mannitol	0.99	0.48	NA	0.23	NA	0.13	0.62	0.54	NA
Glukose	0.87	0.69	NA	0.75	NA	0.88	0.99	0.43	NA
Fruktose	0.12	0.43	NA	0.01	NA	0.39	0.85	0.55	NA
Sucrose	0.94	0.52	NA	0.21	NA	0.02	0.07	0.74	NA
<b>G. Zuc.</b>	<b>0.94</b>	<b>0.53</b>	NA	<b>0.25</b>	NA	<b>0.09</b>	<b>0.49</b>	<b>0.79</b>	NA

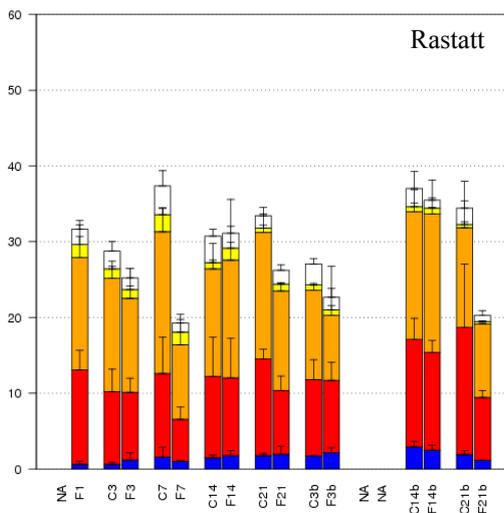
Dauer der Behandlung

**8.2.50 Abbildung 50: Veränderung der Zuckerkonzentration im Phloem während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet, NA: keine Daten vorhanden) für die drei untersuchten Herkünfte**

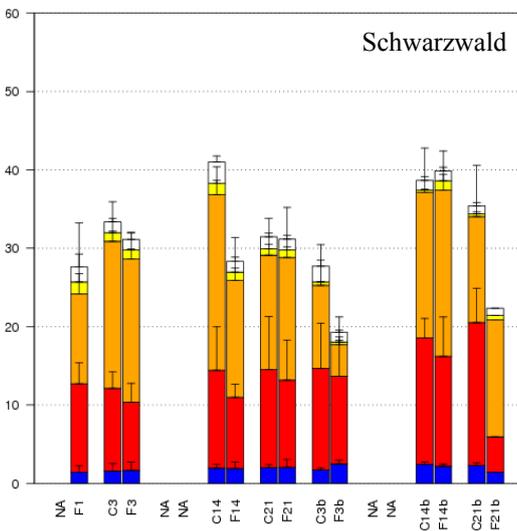
S. Alb: Schwäbische Alb. Jede Abbildung ist von einer Tabelle mit den Ergebnisse des T-Tests (P Wert) zwischen Kontroll-Pflanzen und überfluteten Pflanzen begleitet. G. Zuc.: gesamte Zucker. NA: keine Daten vorhanden.



T-Test									
S. Alb	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.76	NA	0.44	0.45	0.02	NA	0.52	0.37
Mannitol	NA	0.34	NA	0.72	0.2	0.91	NA	0.72	0.54
Glukose	NA	0.78	NA	0.11	0.37	0	NA	0.03	0.71
Fruktose	NA	0.85	NA	0.12	0.07	0	NA	0.12	0.21
Sucrose	NA	0.12	NA	0.06	0.31	0.23	NA	0.08	0.66
G. Zuc.	NA	0.51	NA	0.27	0.06	0.01	NA	0.29	0.69



T-Test									
Rastatt	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.24	0.37	0.5	0.73	0.23	NA	0.54	0.03
Mannitol	NA	0.69	0.06	0.89	0.01	0.74	NA	0.63	0.09
Glukose	NA	0.25	0.01	0.73	0.05	0.34	NA	0.7	0.27
Fruktose	NA	0.7	0.44	0.11	0.15	0.98	NA	0.7	0.63
Sucrose	NA	0.34	0.05	0.03	0.82	0.13	NA	0.54	0.11
G. Zuc.	NA	0.44	0.01	0.96	0.02	0.29	NA	0.77	0.08

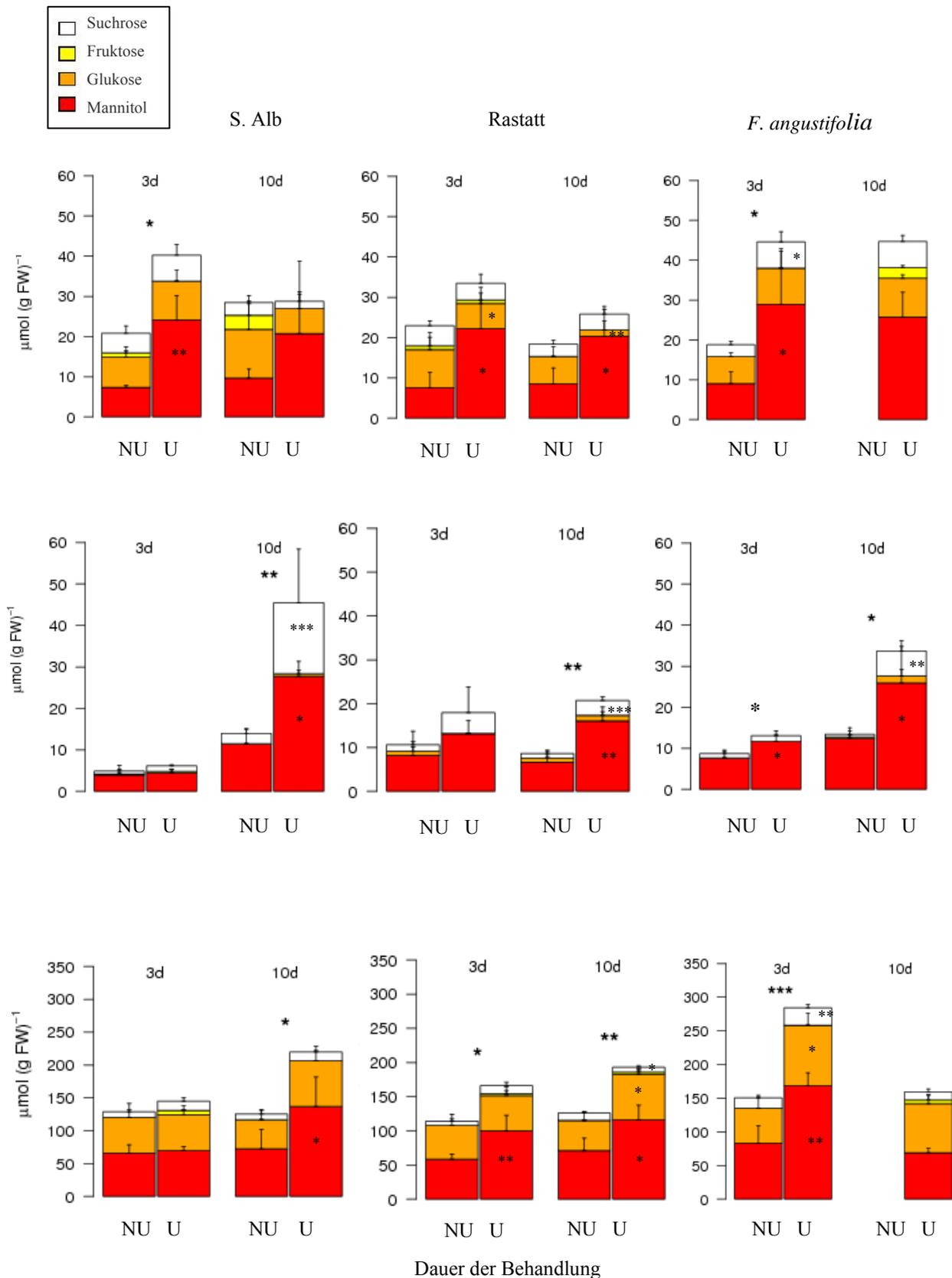


T-Test									
Schwarz.	1	3	7	14	14+7	3	7	14	14+7
Inositol	NA	0.92	NA	0.96	0.93	0.01	NA	0.32	NA
Mannitol	NA	0.23	NA	0.25	0.74	0.6	NA	0.49	NA
Glukose	NA	0.86	NA	0.06	0.78	0.05	NA	0.55	NA
Fruktose	NA	0.47	NA	0.34	0.66	0.48	NA	0.12	NA
Sucrose	NA	0.94	NA	0.02	0.7	0.08	NA	0.96	NA
G. Zuc.	NA	0.59	NA	0.01	0.97	0.18	NA	0.86	NA

Dauer der Behandlung

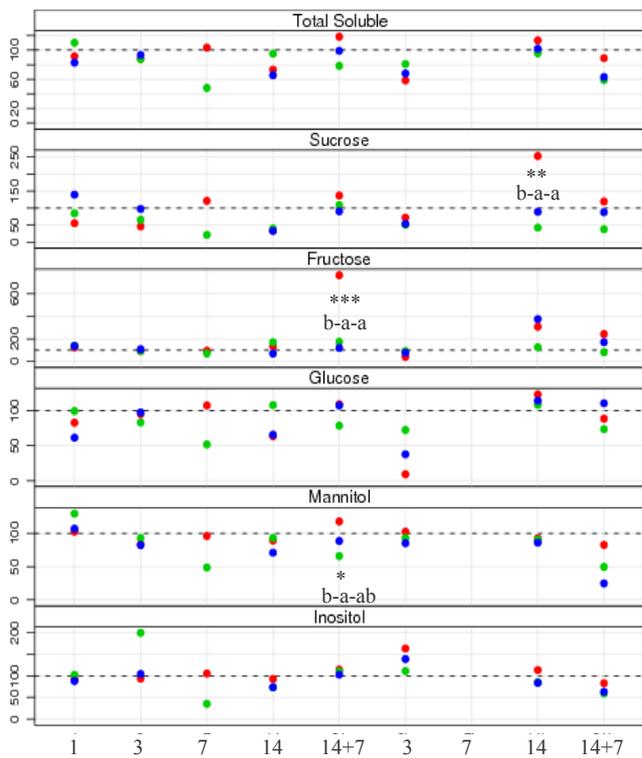
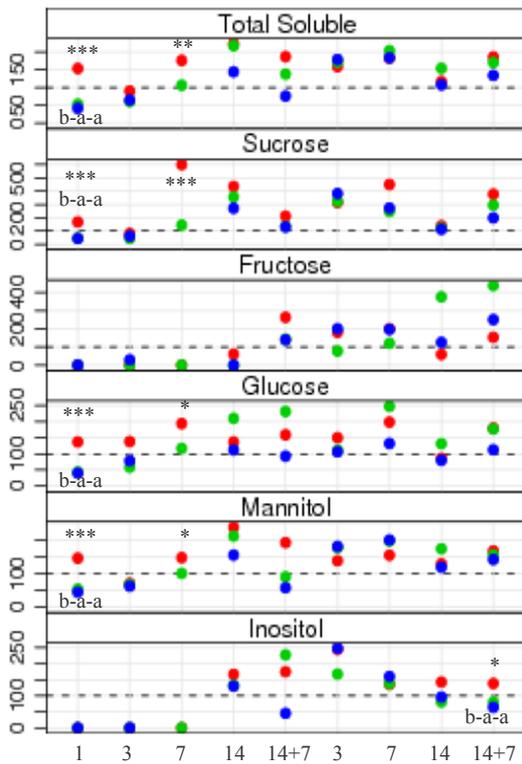
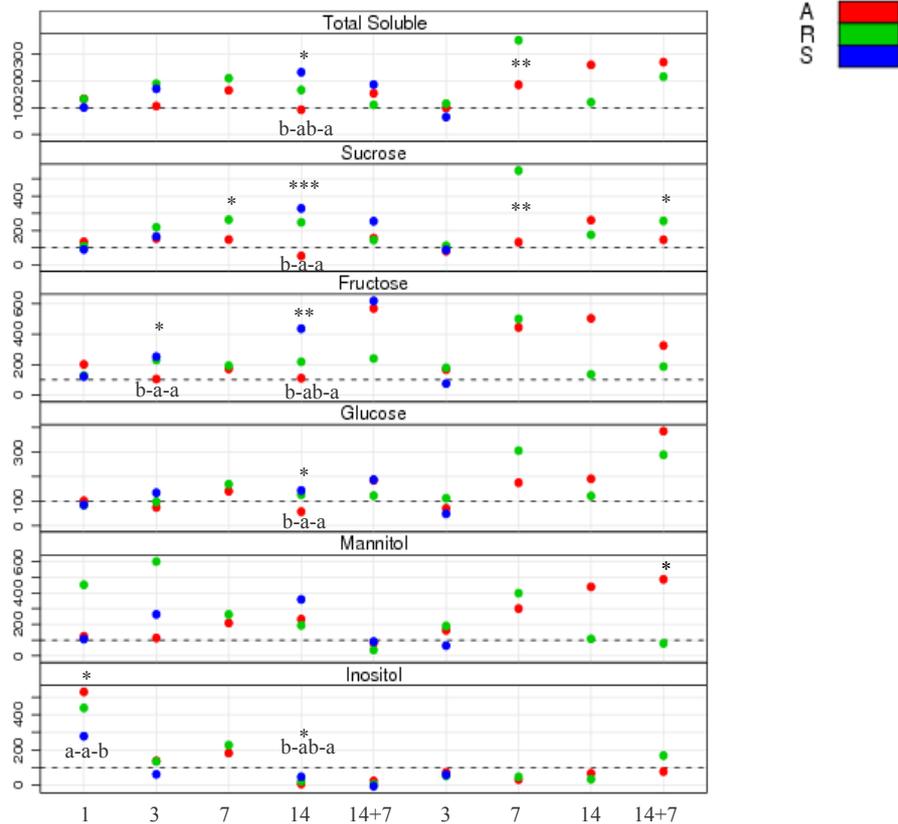
### 8.2.51 Abbildung 51: Veränderung der Zuckerkonzentration im Blattgewebe während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 unter beiden Behandlungen (C: nicht überflutet, F: Überflutet, NA: keine Daten vorhanden) für die drei untersuchten Herkünfte

S. Alb: Schwäbische Alb). Jede Abbildung ist von einer Tabelle mit den Ergebnissen des T-Tests (P Wert) zwischen Kontroll-Pflanzen und überfluteten Pflanzen begleitet. G. Zuc.: gesamte Zucker. NA: keine Daten vorhanden.



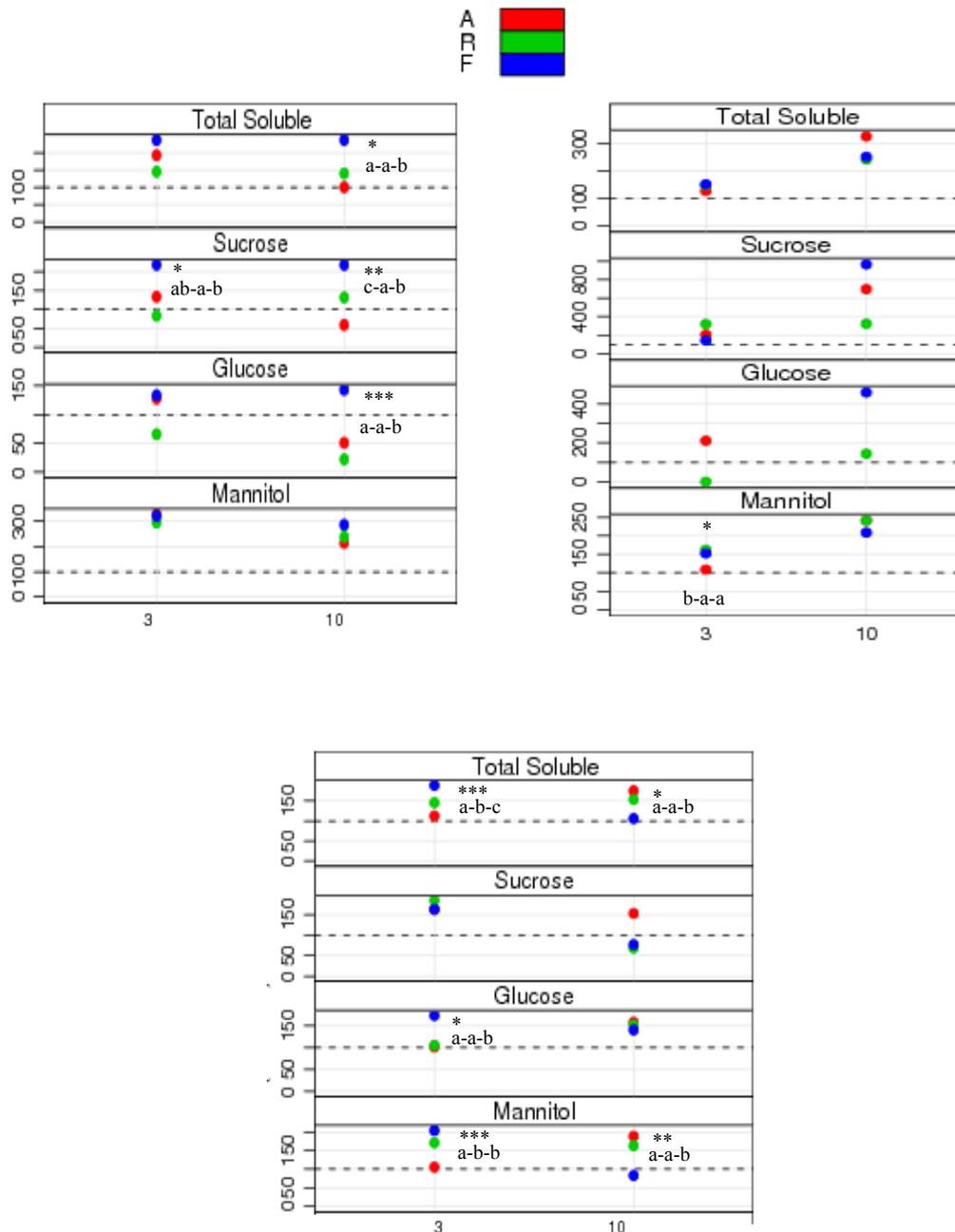
**8.2.52 Abbildung 52: Veränderung der Zuckerkonzentration in Wurzeln (oben), Phloem (mitte) und Blatt (unten) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tagen der Behandlung (NU: nicht überflutet, U: Überflutet) für alle drei untersuchten Pflanzengruppen**

S. Alb: Schwäbische Alb. Signifikanz T-Test zwischen Behandlungen: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Die Signifikanz der Beiträge jeder Zucker ist innerhalb der Balken angegeben.



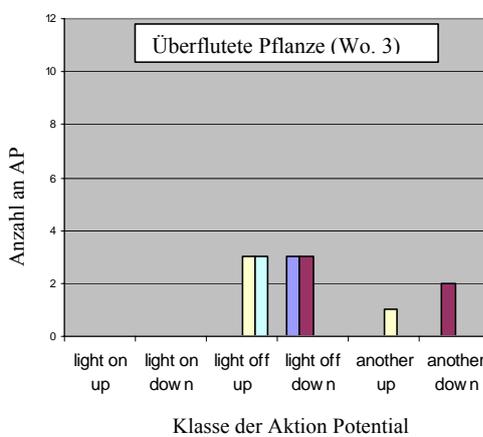
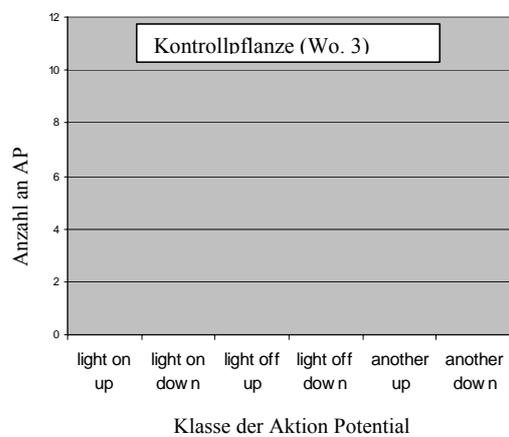
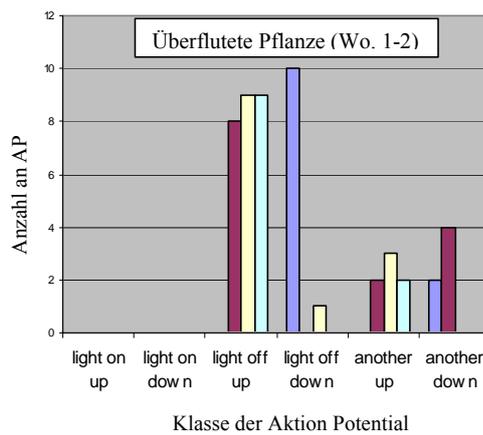
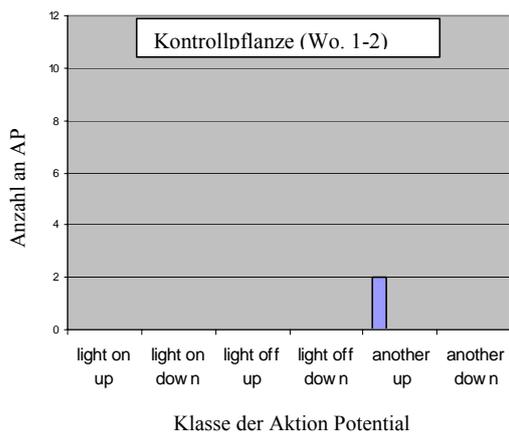
**8.2.53** **Abbildung 53: Veränderung der relativen Zuckerkonzentration in Wurzeln (oben), Phloem (unten links) und Blatt (unten rechts) während beider Überflutungsperioden des Versuchs 2004 für alle drei untersuchten Pflanzengruppen**

A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, S: Schwarzwald. Die Buchstaben zeigen die homogenen Gruppen innerhalb jedes Messtags (Signifikanz ANOVA Analyse \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Post Hoc Test: Fisher,  $\alpha = 0.05$ )



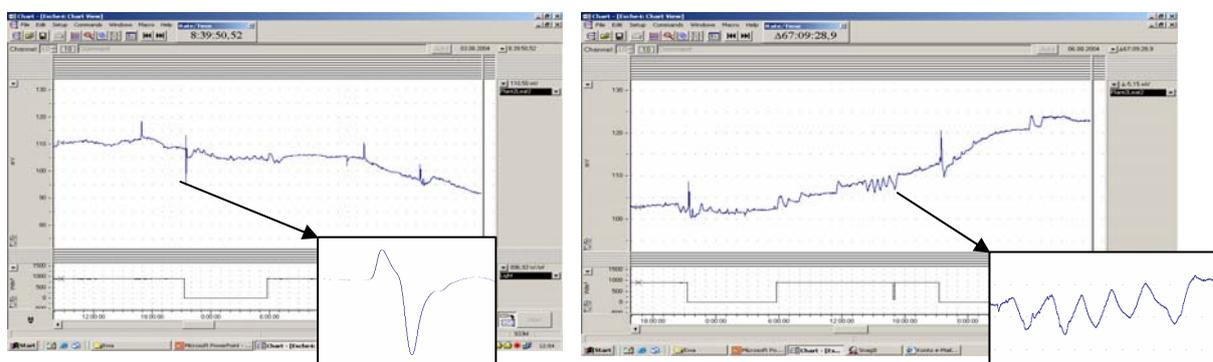
**8.2.54** **Abbildung 54: Veränderung der relativen Werte der Zuckerkonzentration in Wurzel (oben links), Phloem (oben rechts) und Blatt (unten) während des Versuchs 2005 nach drei und zehn Tage der Behandlung für alle drei untersuchten Pflanzengruppen**

A: Schwäbische Alb, R: Rastatt, F: *F. angustifolia*. Die Buchstaben zeigen die homogenen Gruppen innerhalb jedes Messtags (Signifikanz ANOVA Analyse \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Post Hoc Test: Fisher,  $\alpha = 0.05$ )

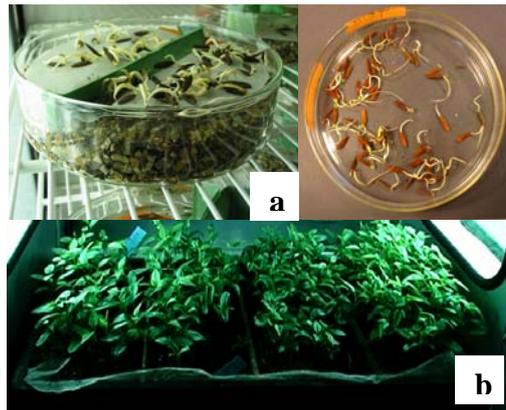


**8.2.55 Abbildung 55: Unterschiede in der Anzahl von Signalen zwischen überfluteten und Kontrollpflanzen.**

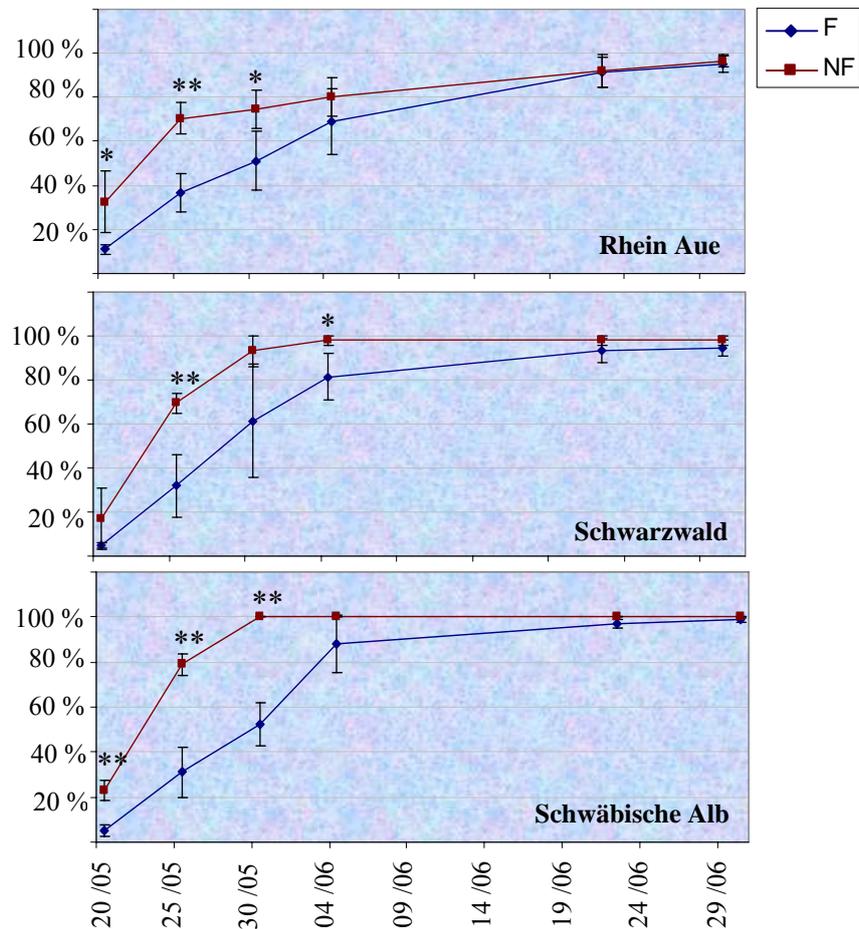
AP: action potential



**8.2.56 Abbildung 56: Licht-Off-Signale (links) und atypische „action Potential“ Signale (rechts) beobachtet an überfluteten Pflanzen**



**8.2.57** **Abbildung 57:** (a) Gekeimte Samen unter aerobischen (links) und anaerobischen Bedingungen (rechts). (b) Gekeimte Sämlinge in der Torf-Erde Mischung

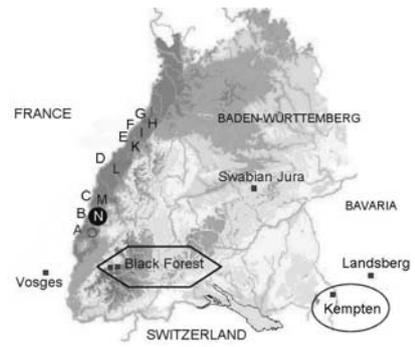
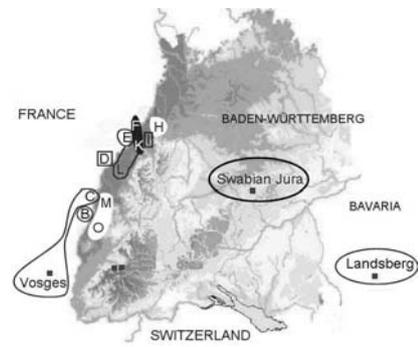
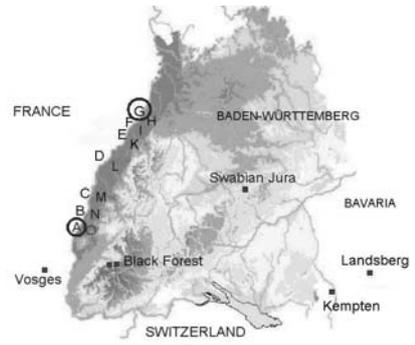
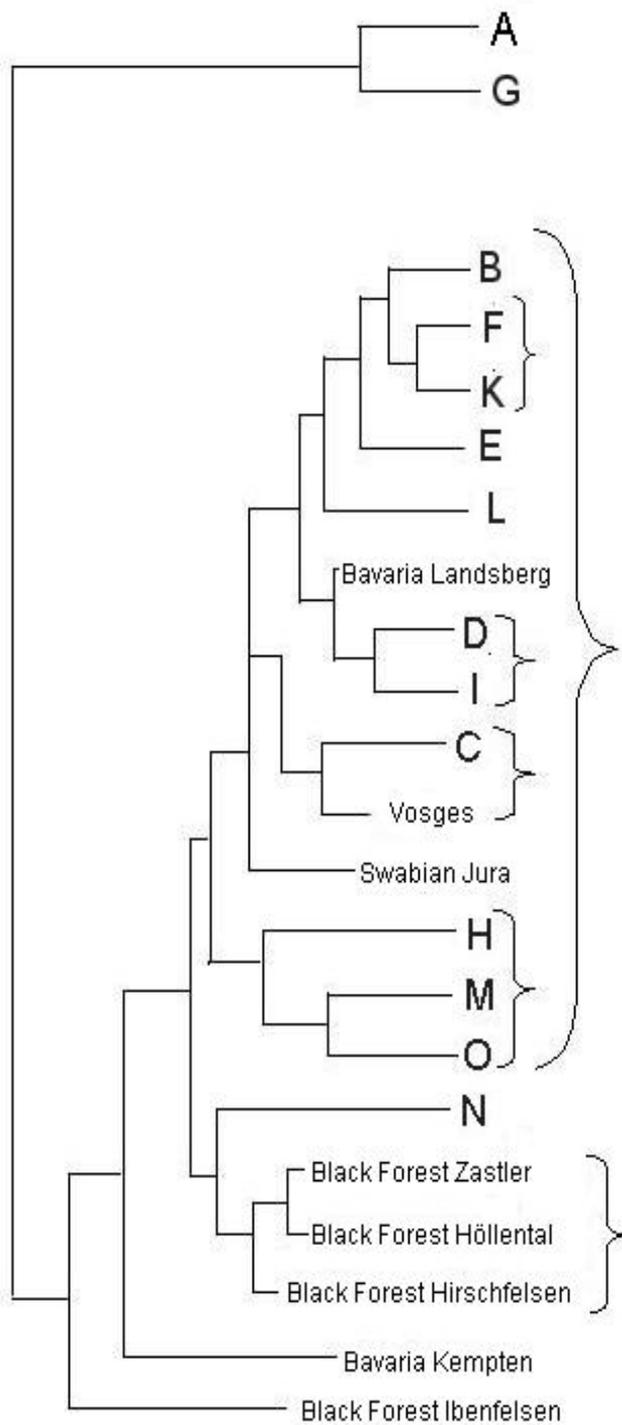


**8.2.58** **Abbildung 58:** Keimungsverlauf der drei Herkunftsgebiete über 48 Beobachtungstage

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. F: Überflutet, NF: nicht überflutet. Die Asterisken stellen das Ergebnis des T-tests dar. Sie zeigen an welchen Tag die Keimungsprozente zwischen Behandlungen signifikant unterschiedlich waren. (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ )

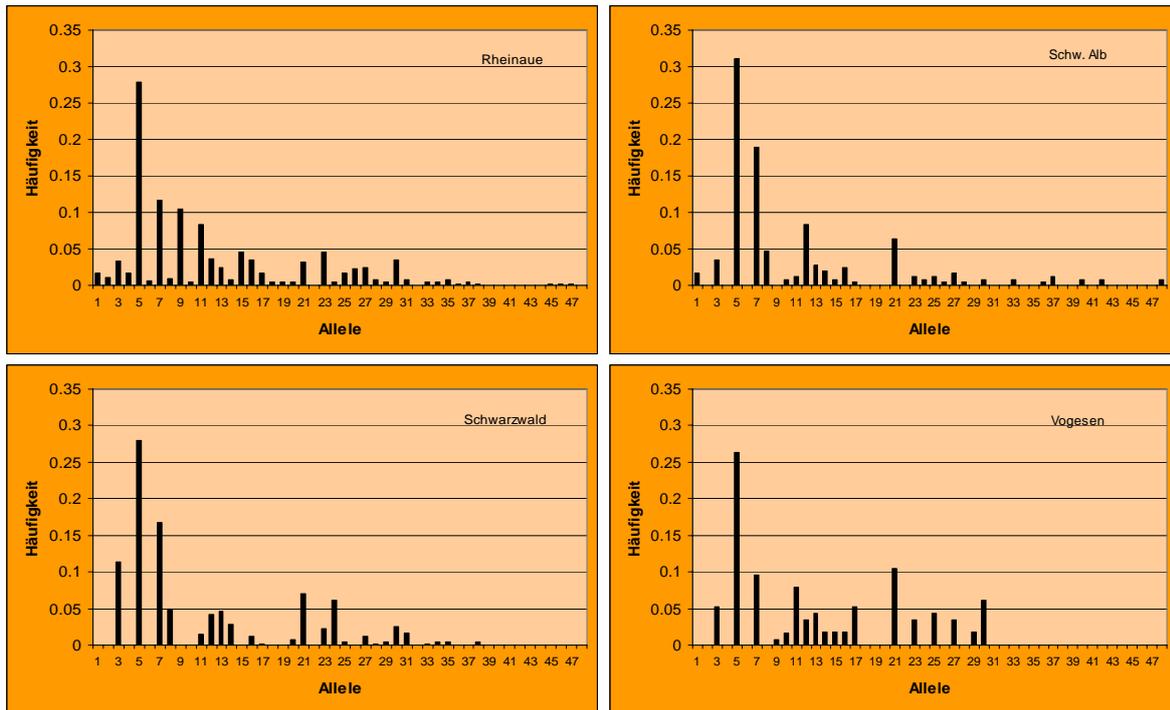


**8.2.59** **Abbildung 59: Aktueller Stand der Fläche in Rastatt (Forstbezirk Rastatt, Revier Bietigheim) nach zwei Hochwasserereignisse (September 2005 und Juli 2006)**

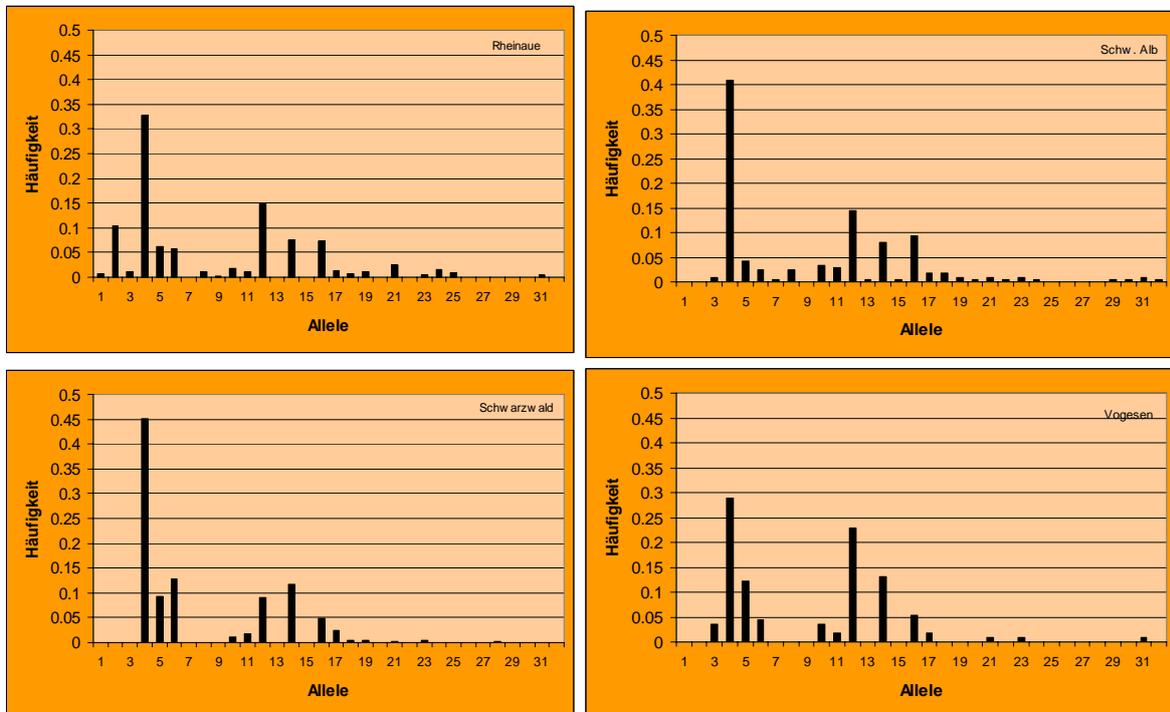


8.2.60 **Abbildung 60: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für die Mikrosatellite Genorte Femsat14, Femst18, Femsat112 und Femsat116 (links) und räumliche Verteilung der untersuchten Populationen (rechts)**

## Femsat14

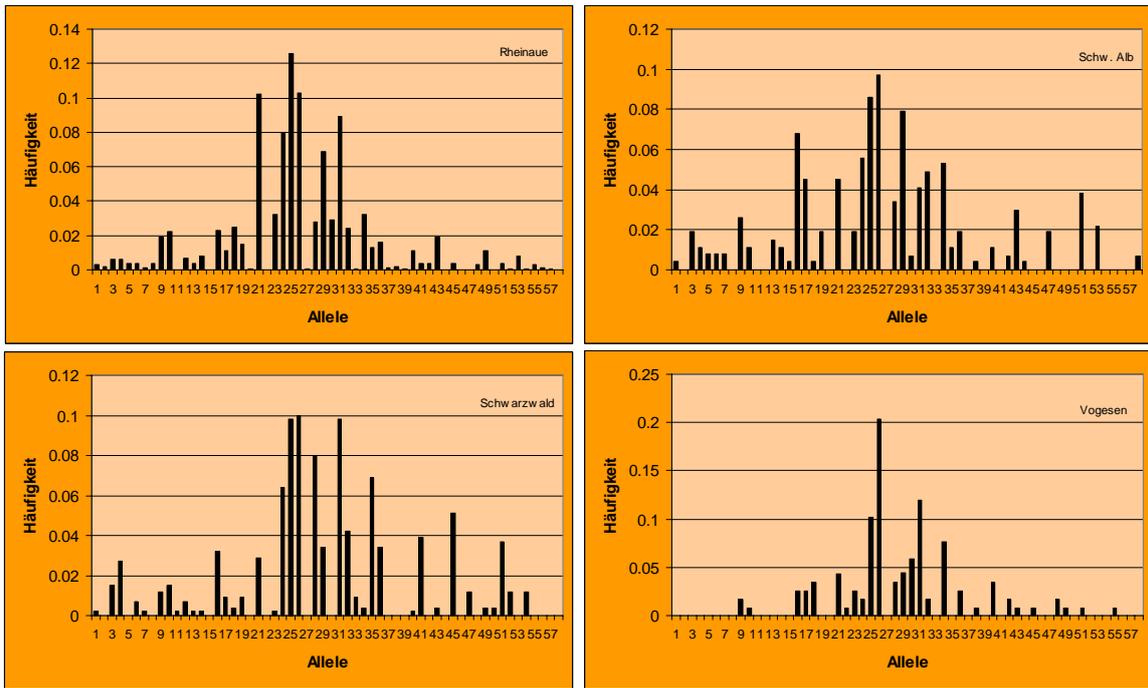


## Femsat12

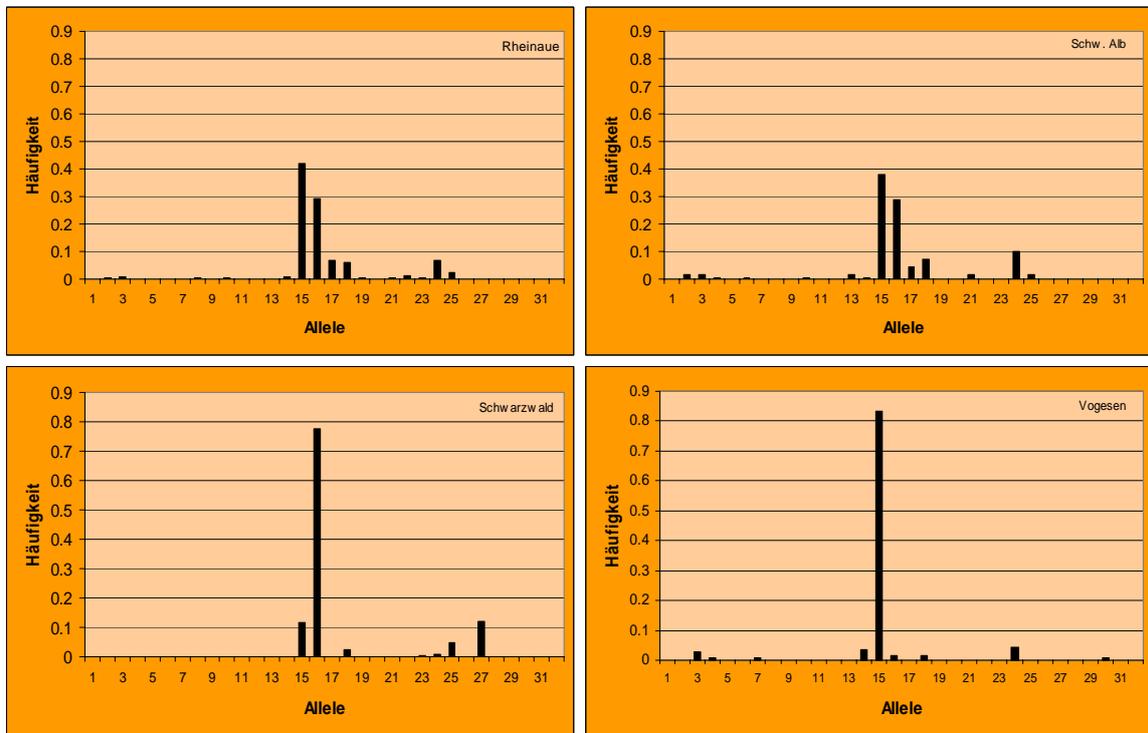


8.2.61 Abbildung 61: : Genetische Strukturen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat4 und Femsat12 für die Herkunftsgebiete Rheintal, Schwäbische Alb (Schw. Alb), Schwarzwald und Vogesen

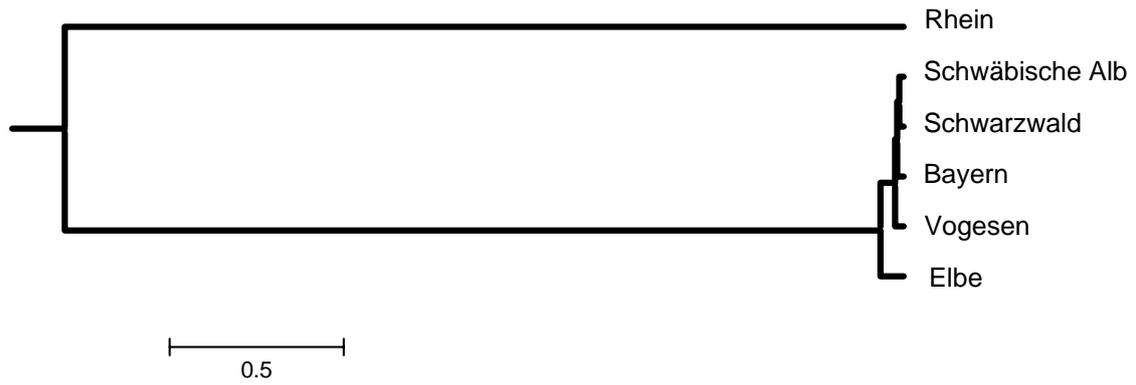
### Femsat18



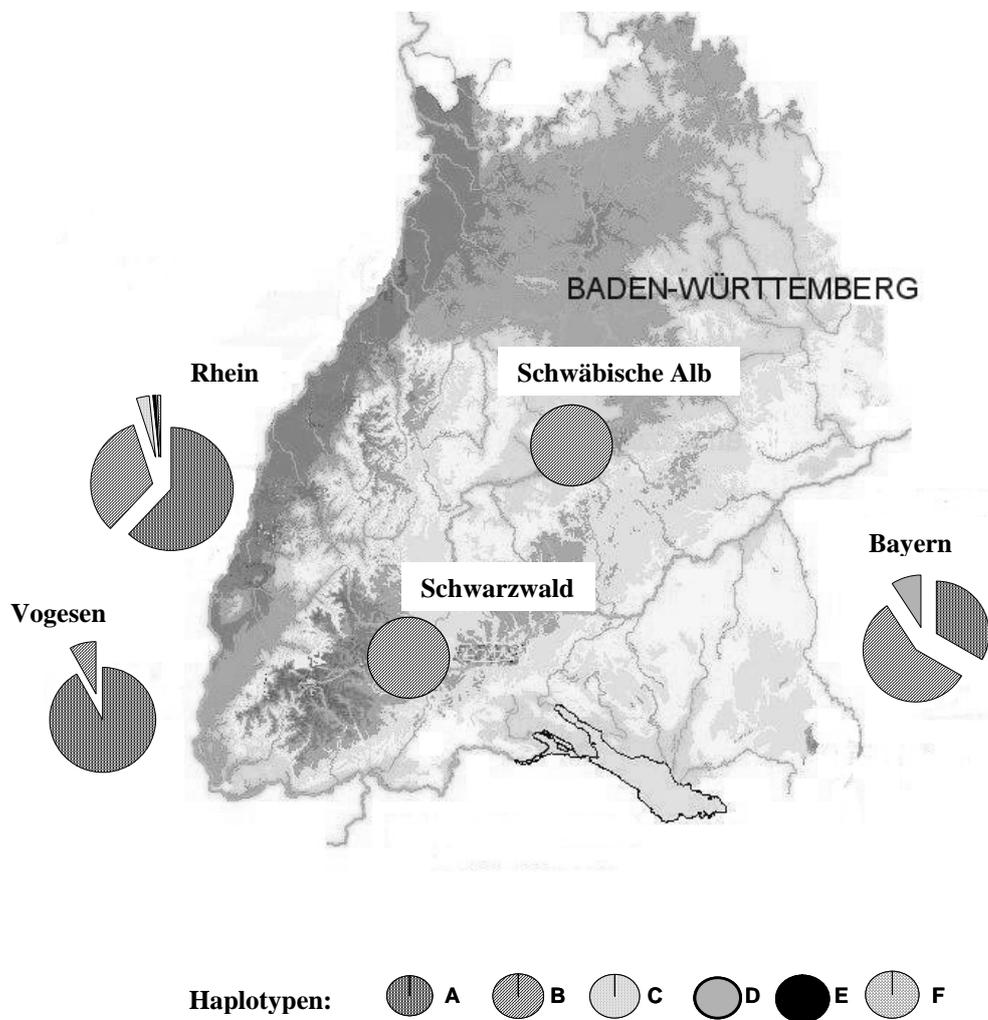
### Femsat16



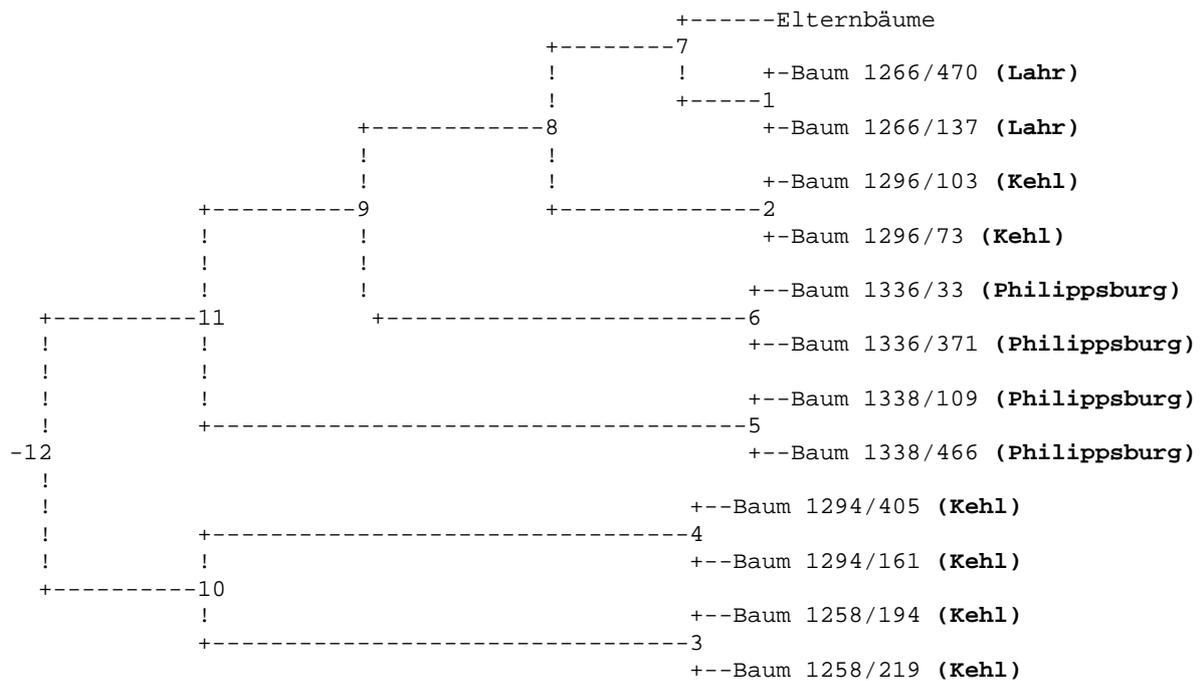
8.2.62 Abbildung 62: Genetische Strukturen an den Mikrosatelliten-Loci Femsat18 und Femsat16 für die Herkunftsgebiete Rheintal, Schwäbische Alb (Schw. Alb), Schwarzwald und Vogesen



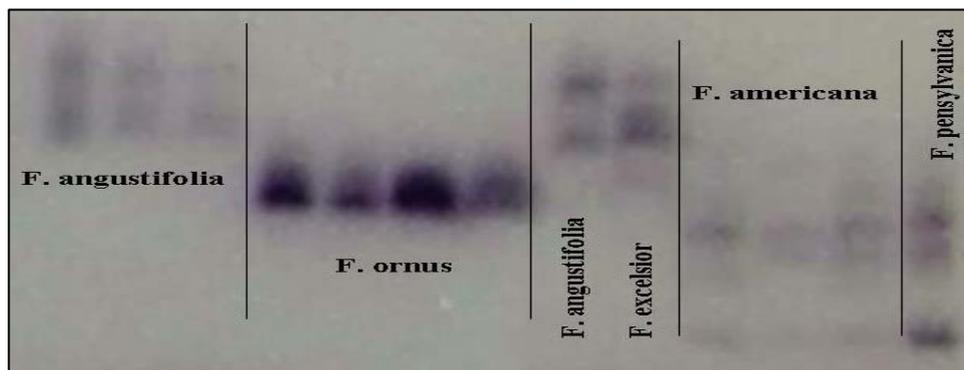
8.2.63 **Abbildung 63:** Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen nach Nei (1972) UPGMA-Methode für die Mikrosatellite Genorte Femsat14, Femst12 und Femsat116 für die sechs untersuchten Herkunftsgebiete



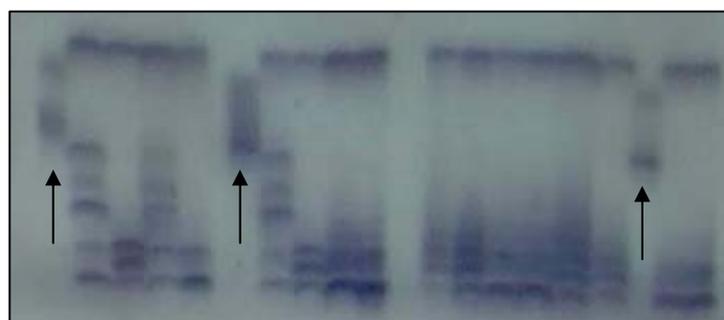
8.2.64 **Abbildung 64:** Verteilung der Haplotypen in Süddeutschland und Vogesen



8.2.65 Abbildung 65: Dendrogramm basierend auf den genetischen Abständen (Nei, 1972) nach der UPGMA-Methode für die Einzelbaumnachkommen der Gesamtklonpopulation (Elternbäume)

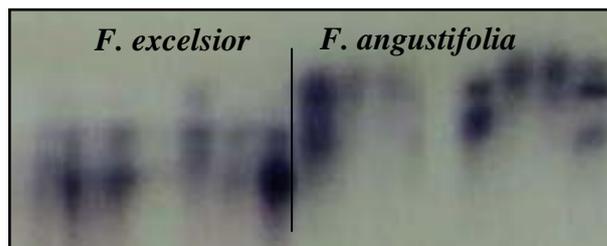


8.2.66 Abbildung 66: Zymogramm für das Enzymsystem ADH im Kambium der Arten *F. angustifolia* L., *F. ornus* L., *F. excelsior* L., *F. americana* L. und *F. pennsylvanica* Marsh

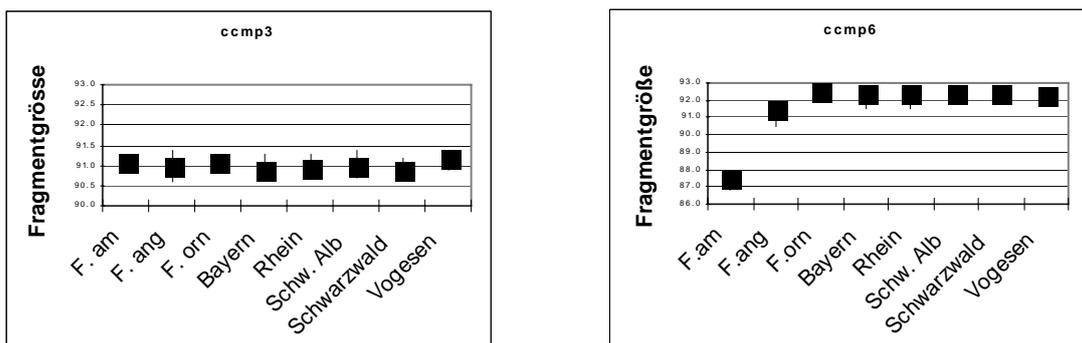


8.2.67 Abbildung 67: Zymogramm für das Enzymsystem PGI im Kambium der Art *F. pennsylvanica* Marsh

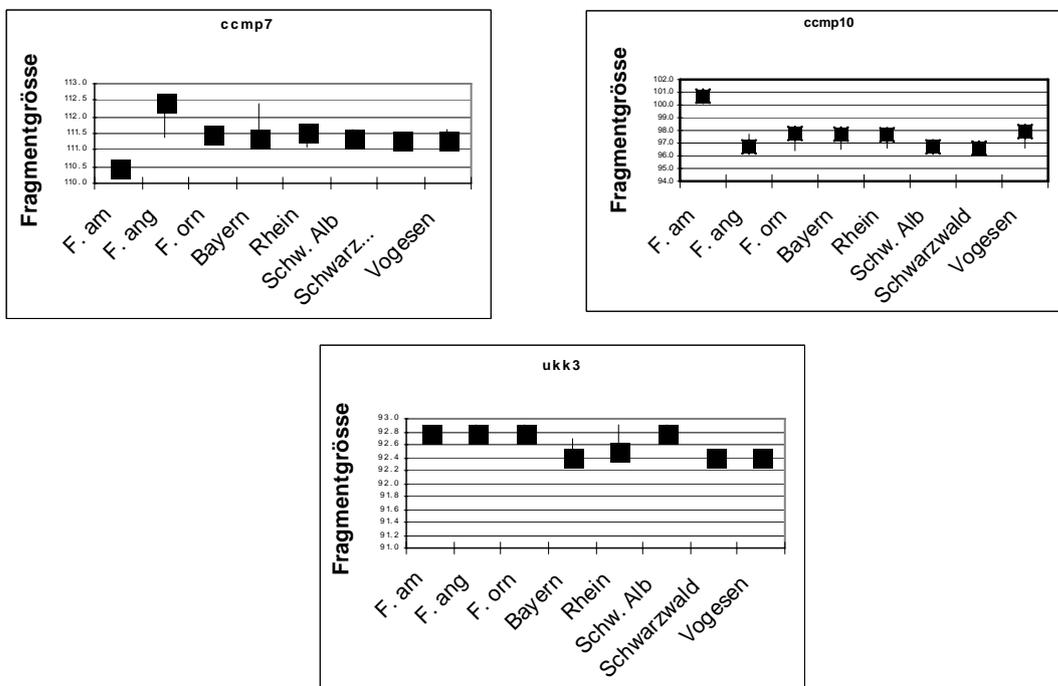
Die Pfeile markieren die einzige *F. excelsior* in der Probe



8.2.68 Abbildung 68: Zymogramm für das Enzymsystem PGM im Kambium der Arten *F. angustifolia* L. und *F. excelsior* L.



8.2.69 Abbildung 69: Fragmentgröße der cpDNA-Mikrosatelliten ccmp3 und ccmp6 für *F. americana* L., *F. angustifolia* L., *F. ornus* L. und *F. excelsior* L. (Bayern, Rhein, Schw. Alb, Schwarzwald, Vogesen).



8.2.70 Abbildung 70: Fragmentgröße der cpDNA-Mikrosatelliten ccmp7, ccmp10 und  $\mu$ kk3 für *F. americana* L., *F. angustifolia* L., *F. ornus* L. und *F. excelsior* L. (Bayern, Rhein, Schw. Alb, Schwarzwald, Vogesen).

### 8.3 Publikationen

Aus diesem Projekt haben sich die folgenden Publikationen ergeben:

**Hebel, I., Haas, R., A. Dounavi, A.** 2006. Genetic variation of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) populations from provenance regions in Southern Germany by using nuclear and chloroplast microsatellites. *Silvae genetica*, 55 (1), 38-44

**Hebel I., Dacasa, M. C., Haas, R., Dounavi, A.** Population genetic structures of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in southern Germany, as revealed by nuclear and chloroplast microsatellite analysis. *Conservation Genetics*. Eingereicht

**Dacasa M. C., Dounavi, A.** Germination potential under water of three distinct provenances of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) from flooded and non flooded sites. *Plant Biology*. Eingereicht

**Dacasa M. C., Gläser, J., Dounavi, A.** Genetic Structures of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) populations in Germany at sites differing in water regimes. *Plant Ecology*. Eingereicht

**Dacasa, M. C., Hebel, I., Haas, R., Dounavi, A.** Differentiation of *Fraxinus* species by means of morphological, biochemical, and molecular markers. In Vorbereitung

**Jaeger, C., Dacasa, M. C., Kreuzwiesser, J., Dounavi, A., Rennenberg, H.** Physiological responses to flooding of three ash ecotypes. In Vorbereitung