

Beta vulgaris subsp. *maritima* an Deutschlands Ostseeküste

Kartierung, genetische und physiologische Charakterisierung und ihre Rolle
als Kreuzungspartner für transgene Zuckerrüben

Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen zur Erlangung des
akademischen Grades einer Doktorin der Naturwissenschaften genehmigte

Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Biologin

Sarah Drießen

aus Aachen

Berichter: Privatdozent Dr. Detlef Bartsch

Universitätsprofessor Dr. Ingolf Schuphan

Tag der mündlichen Prüfung: 03.November.2003

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online
verfügbar.



1. Einleitung und Zielsetzung	1
2. Allgemeine Einführung	7
2.1 Populationsbiologie von <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i>	7
2.1.1 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> – taxonomische Einordnung	7
2.1.2 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> – morphologische Charakterisierung	8
2.1.3 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> – Habitat und globale Verbreitung	8
2.1.4 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> – Historie der Verbreitung im Bereich der Ostsee	9
2.1.5 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> – Ausbreitung und Einbürgerung neuer Populationen	10
2.1.6 <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> im Gefüge von Unkraut- und Kulturrüben	11
2.2 Populationsgenetik von <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i>	12
2.2.1 Schossen, Blühen und das Gen <i>B</i> – der Generationszyklus von <i>B. vulgaris</i>	12
2.2.2 Cytoplasmatisch männliche Sterilität (CMS) als Marker für Kulturrüben	13
2.2.3 Genetische Vielfalt und das Konzept des Molekularen Markers	14
2.2.4 Die gentechnisch veränderte Zuckerrübe – Stand der Entwicklung	15
3. Material und Methoden	17
3.1 Pflanzenmaterial	17
3.1.1 Erfassung des Verbreitungsgebietes	17
3.1.2 Anzucht	17
3.1.3 Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen	19
3.2 Berechnung der klimatischen Winterhärte	20
3.3 Bonitur pflanzenphysiologischer Merkmale	22
3.3.1 Untersuchung des Generationszyklus	22
3.3.2 Untersuchung der Überwinterungsfähigkeit	23
3.4 AFLP-Marker zur Prüfung auf Gen <i>B</i>	23
3.5 Bestimmung der genetischen Diversität	28
3.5.1 DNA-Gewinnung	28
3.5.2 RAPD-PCR	29
3.5.3 RFLP	32
3.6 PCR-RFLP zur Bestimmung von CMS-Markern	34
4. Ergebnisse	37
4.1 Erfassung des Verbreitungsgebietes	37
4.2 Berechnung der klimatischen Winterhärte	42
4.3 Bonitur pflanzenphysiologischer Merkmale	46

4.3.1 Untersuchung des Generationszyklus	46
4.3.2 Untersuchung der Überwinterungsfähigkeit	48
4.4 AFLP-Marker zur Prüfung auf Gen <i>B</i>	49
4.5 Bestimmung der genetischen Diversität	51
4.5.1 RAPD-PCR	51
4.5.2 RFLP	58
4.6 PCR-RFLP zur Bestimmung von CMS-Markern	59
5. Diskussion	61
5.1 Die Ausbreitung von <i>B. vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> im baltischen Raum	61
5.2 <i>B. vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> im Bereich der Ostsee – Fingerprint für wärmere Winter?	63
5.3 Die baltischen Populationen und ihr Generationszyklus	66
5.4 Die baltischen Wildrübenpopulationen: genetische Diversität und Verwandtschaftsverhältnisse	71
5.5 Die Bedeutung der Wildrüben als pflanzen genetische Ressource	76
5.6. Die Bedeutung der Wildrüben als Kreuzungspartner für transgene Zuckerrüben	77
6. Ausblick	79
6.1 Empfehlung für ein Populationsmonitoring	79
7. Zusammenfassung	83
Abstract	84
Résumé	85
8. Verzeichnisse	87
8.1 Literaturverzeichnis	87
8.2 Abbildungsverzeichnis	93
8.3 Tabellenverzeichnis	94

9. Anhang	95
Die berechneten Summen der negativen Tiefsttemperaturdaten aller Wetterstationen in den jeweiligen Jahren	95
Temperaturen von Ende Mai 99 bis Anfang August 99 (zu Kap. 4.3.1)	96
Temperaturen von 01.09.98 bis 30.05.99 (zu Kap. 4.3.2)	97
0/1 Matrix (zu Kap. 4.5.1)	98
Varianzanalyse der Mittelwerte der Polymorphiegrade und Shannon Indices (zu Kap. 4.5.1)	102



1. Einleitung und Zielsetzung

Die Einbürgerung und Ausbreitung von Pflanzenpopulationen in neue Habitate ist seit jeher ein bedeutendes Forschungsgebiet der Ökologie, insbesondere für Pflanzenarten mit Wild-, Unkraut- und Kulturformen. Eine dieser Arten ist *Beta vulgaris* L., welche taxonomisch in die Unterarten *vulgaris* (Zuckerrüben, Mangold, Rote Beete, verschiedene Unkrautrüben) und *maritima* (Meer-Mangold oder Wilde Rübe) unterteilt werden kann. Das Wild-/Unkraut-/Kulturrübengefüge ist deswegen von besonderem Interesse, da in Europa alle Formen gefunden werden und ihr Vorkommen oft sympatrisch ist. Alle Formen sind untereinander kreuzbar und bilden fertile Nachkommen (Boudry et al. 1993).

Lange Zeit galt *B. vulgaris* subsp. *maritima* auf der Insel Helgoland als Deutschlands einzig Wildrübenpopulation. Wildverwandte Kreuzungspartner für Kulturrüben waren aufgrund der Entfernung vom Festland somit zu Deutschlands Rübenanbaugebieten quasi nicht vorhanden. Neu waren deswegen die im Jahre 1997 (Driessen 1999) dokumentierten Vorkommen an der deutschen Ostseeküste. Die Ausbreitung kann mehrere Ursachen haben: Die Art hat nach der letzten Eiszeit ihr potentiell Verbreitungsgebiet noch nicht erreicht (1), die klimatischen und ökologischen Faktoren haben sich geändert (2) oder die physiologischen Eigenschaften der Art haben sich geändert (3). Kausalanalytische Untersuchungen sind hier allerdings sehr schwierig durchzuführen, da historische Daten zu (1) und (3) nicht vorliegen. Dagegen liegen klimatische Daten vor (2) und können mit dem ökologischen Verhalten in Beziehung gesetzt werden. Bezüglich Punkt 3 sind zukünftig neue zusätzliche Entwicklungen durch gentechnische Veränderungen von Kulturpflanzen möglich.

Mit der Möglichkeit der Produktion transgener Pflanzen erlebt die Forschung und Wissenschaft von Pflanzen-Gefügen mit Wild-/Unkraut-/Kulturformen in den letzten Jahren einen regelrechten Boom, wobei insbesondere Genfluss-Untersuchungen im Zentrum des Interesses stehen (Rogers und Parkes 1995, Snow und Palma 1997, Bartsch et al. 1999).

Auch wenn gentechnische Veränderungen von Kulturpflanzen in Europa zur Zeit oft nur wenig akzeptiert werden, sind sie mittlerweile weltweit in der Züchtung etabliert und werden zukünftig nicht mehr aus der Pflanzenzüchtung wegzudenken sein. Kreuzungs-

partner gentechnisch veränderter Kulturpflanzen spielen in diesem Zusammenhang eine bedeutende Rolle, da sie die Möglichkeit bieten, dass Transgene unkontrolliert in die Umwelt entweichen. Es wird befürchtet, dass neue transgene Eigenschaften einen unerwünschten Einfluss auf wildverwandte Kreuzungspartner haben könnten und genetische Ressourcen und ihre natürlichen Habitate verändert werden könnten.

In vorliegender Arbeit sollen verschiedene Aspekte der klassischen Ökologie mit der molekulargenetischen verknüpft werden. Abbildung 1 stellt vereinfacht die verschiedenen biologischen Organisationsebenen in ihrem Wirkungsgefüge mit der biotischen und abiotischen Umwelt dar.

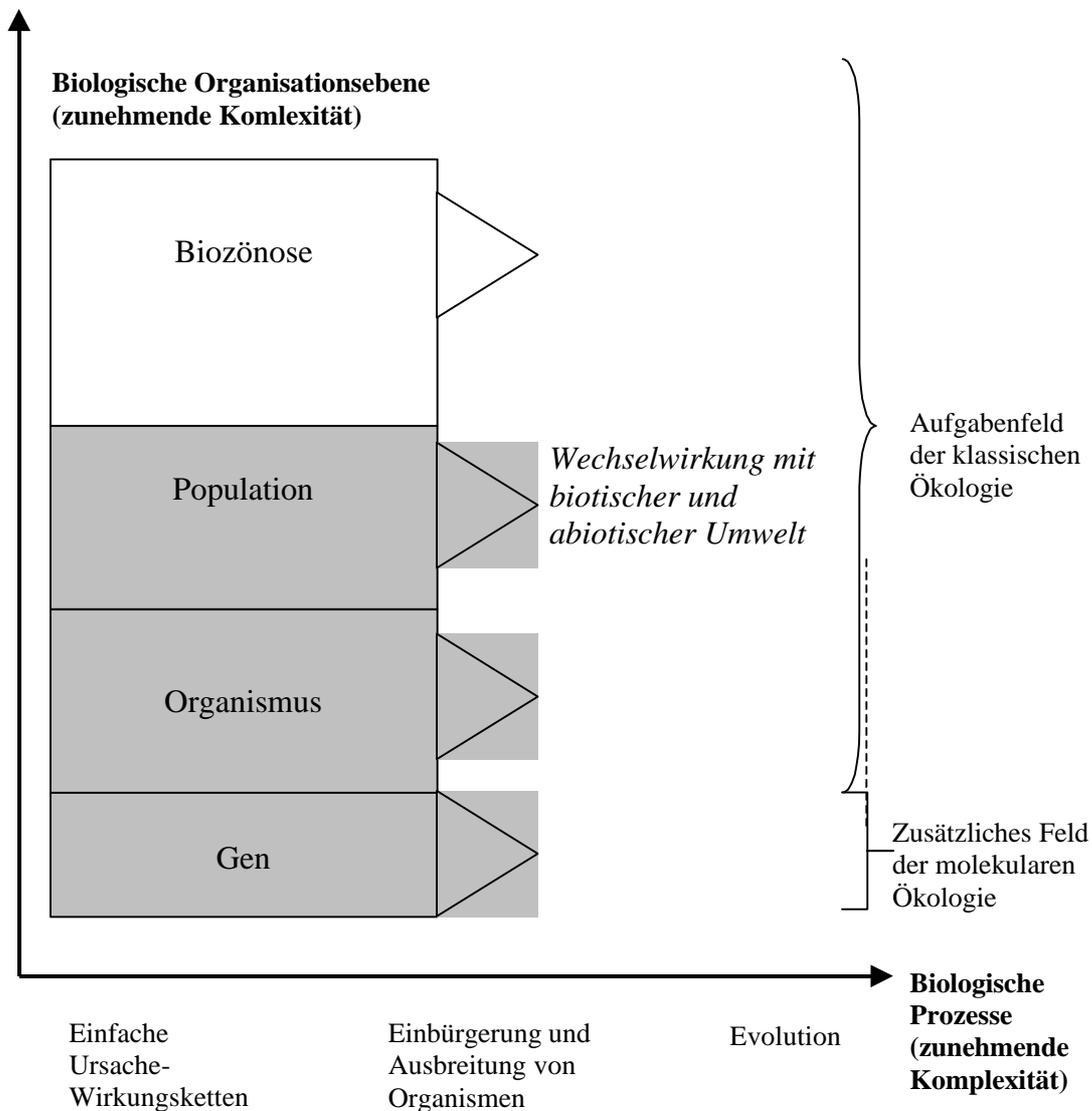


Abb. 1: Prozess- (Ursache- Wirkungsketten, Einbürgerung und Ausbreitung von Organismen, Evolution) und Organisationsebenen (Gen, Organismus, Population, Biozönose) in der klassischen und molekularen (grau unterlegt) Biologie, die in der ökologischen Wissenschaft behandelt werden.

Ziel ist dabei insbesondere die kausal-analytische Untersuchung der Einbürgerung und Ausbreitung von *Beta vulgaris* subsp. *maritima* hinsichtlich abiotischer (Klima), pflanzenphysiologischer (Kältetoleranz und Blühverhalten) und genetischer Merkmale. Vorhandene Populationen werden deswegen nach folgenden Fragestellungen möglichst genau charakterisiert und in den bestehenden populationsbiologischen und -genetischen Kontext zu anderen europäischen Wildrübenpopulationen eingeordnet. Auf diese Weise werden Basisdaten generiert, auf deren Grundlage eventuelle ökologische Effekte der Introgression von gentechnisch veränderten Eigenschaften aus Kulturrüben gemessen werden können:

1. In welchem Maße hat sich *Beta vulgaris* subsp. *maritima* seit 1997 an Deutschlands Ostseeküste ausgebreitet?

Zur Beantwortung dieser Frage, wurden die im Jahre 1997 im Rahmen der Diplomarbeit (Driessen 1999) begonnenen Kartierungsarbeiten fortgeführt und ausgeweitet (Kap. 3.1 und 4.1). Außerdem wurde untersucht, ob die gefundenen Wildrüben als potentielle Kreuzungspartner für blühende Kulturrüben in Frage kommen.

2. Können wärmere Winter eine Ursache für das unerwartet hohe Auftreten sein?

Da im Untersuchungszeitraum (1997-2001) eine stetige Ausbreitung und Neu-besiedelung von Habitaten beobachtet werden konnte, wurde versucht, diese in Beziehung mit einer Änderung der Temperaturen im Winter zu setzen, da die Winterhärte von *B. vulgaris* ein wichtiger Überlebensfaktor ist. Dazu wurden vom Deutschen Wetterdienst (DWD) zur Verfügung gestellte Temperaturdaten von 17 verschiedenen Wetterstationen im Untersuchungsgebiet (Deutschland, Dänemark, Schweden) ausgewertet (Kap. 3.2 und 4.2). Die Daten reichen teilweise über 30 Jahre zurück.

3. Ist ein veränderter Lebenszyklus zu beobachten?

Die Untersuchung von Rüben auf ihren Generationszyklus, d.h. die Eigenschaft einer Pflanze im ersten oder zweiten Jahr zu blühen und Samen zu bilden, kann dann essentiell von Bedeutung sein, wenn die Pflanzen aufgrund niedriger Temperaturen den Winter nicht überleben und nicht in die generative Phase gelangen. Deswegen wurden Nachkommen baltischer Populationen - erstens - sowohl unter natürlichen Bedingungen im Freiland als auch unter konstanten Bedingungen im Gewächshaus auf

ihr Blühverhalten hin untersucht (Kap. 3.3.1 und 4.3.1). Zweitens wurden die Pflanzen auf ihre Überwinterungsfähigkeit (Kap. 3.3.2 und 4.3.2) hin untersucht.

4. Werden molekulare Marker gefunden, die auf das Vorhandensein des Gens *B* schließen lassen?

Das Gen *B* spielt bei der Induktion der Blüte und damit für den Lebenszyklus eine wichtige Rolle. Die molekularen Analysen auf das Vorhandensein des Gens (Kap. 3.4 und 4.4) stehen inhaltlich in engem Zusammenhang mit der dritten Fragestellung.

5. In welchem genetischen verwandtschaftlichen Verhältnis stehen die deutschen, dänischen und schwedischen Populationen zueinander und wie stehen sie zu anderen europäischen Wildrübenpopulationen? Wie hoch ist ihre genetische Diversität?

Bereits in früheren Arbeiten wurden mit Hilfe der RAPD-PCR-Methode (Driessen 1999, Pohl-Orf 1999, Hesse 1999) sowie der RFLP-Methode (Desplanque et al. 1998) Daten zur Berechnung der genetischen Distanzen und Diversitäten verschiedener europäischer Wild-, Unkraut- und Kulturrüben gewonnen. Diese Ergebnisse früherer Untersuchungen sollten mit den baltischen Wildrübenpopulationen vorliegender Untersuchung verglichen werden, um auf diese Weise abschätzen zu können, in welchem verwandtschaftlichen Verhältnis die isolierten Ostseepopulationen zu anderen europäischen Populationen stehen (Kap. 3.5 und 4.5).

6. Handelt es sich bei den gefundenen Populationen um "echte" Wildrüben? Oder stammen die gefundenen Pflanzen von verwilderten Kulturrüben ab?

Mit Hilfe des molekularen Markers für cytoplasmatisch männliche Sterilität (CMS) kann die Frage beantwortet werden, ob es sich bei den baltischen Rübenpopulationen tatsächlich um "echte" Wildrüben handelt oder ob es zur Verwilderung von Kulturrüben gekommen ist (Kap. 3.6 und 4.6). CMS wurde bei Zuckerrüben von Owen (1942) entdeckt und seitdem weltweit in der Rübenzüchtung eingesetzt (Saumitou-Laprade et al. 1993, Kap. 2.7).

Die Tatsache, dass Wildformen der Rübe in Deutschland sympatrisch zu Kultur- und Unkrautrüben vorkommen, ist ein wichtiger Punkt für die Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Kulturrüben. Die Ergebnisse der Untersuchung sollen in Hinblick auf das

Inverkehrbringen transgener Zuckerrüben diskutiert und Punkte für ein durchzuführendes Umweltbeobachtungssystem (Monitoring) abgeleitet werden.

Die Untersuchungen der vorgelegten Arbeit stammen aus den Jahren 1997-2001 und wurden zum Teil im Rahmen eines BMBF-Forschungsprojektes mit dem Titel "Langzeitmonitoring von gentechnisch veränderten Eigenschaften in Unkraut- und Wildrübenpopulationen" (Fördernummer: 0312322) gefördert.

Das Screenen der Populationen auf das Vorhandensein des Gens *B* mit Hilfe der AFLP-Methode (Kap. 3.4 und 4.4) wurde am Institut für Pflanzenzüchtung der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel durchgeführt.

Die RFLP-Analysen der mitochondrialen DNA (Kap. 3.5.3 und 4.5.3) sowie die Untersuchungen auf CMS (Kap. 3.6 und 4.6) wurden im Laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales der Université de Lille durchgeführt.

2. Allgemeine Einführung

2.1 Populationsbiologie von *Beta vulgaris* subsp. *maritima*

2.1.1 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* – taxonomische Einordnung

Beta vulgaris subsp. *maritima* ARCANG., die Wildrübe, gehört zur Familie der *Chenopodiaceae*. Helm (1957) unterteilt die Gattung *Beta* in vier Sektionen (*Vulgares*, *Corrollinae*, *Nanae* und *Procumbentes*) und in elf Arten (Tab. 1). Innerhalb der Gattung *Beta* herrscht, ebenso wie in der Art *B. vulgaris*, eine große geno- und phänotypische Heterogenität (Buttler 1977, Wagner 1990, Letschert 1993). Dies schlägt sich auch in verschiedenen Taxonomien nieder (Helm 1957, Rothmaler 1990, Lange et al. 1998).

Tab. 1: Unterteilung der verschiedenen Arten der Gattung *Beta* nach Helm (1957).

Sektion	Art	Subspezies	Variation
<i>Vulgares</i>	<i>vulgaris</i> L.	<i>maritima</i> Arcang.	(Wildrübe)
		<i>vulgaris</i>	<i>vulgaris</i> (Mangold)
		<i>vulgaris</i>	<i>altissima</i> (Zuckerrübe)
		<i>vulgaris</i>	<i>crassa</i> (Futterrübe)
		<i>vulgairs</i>	<i>conditiva</i> (Rote Beete)
		<i>patula</i> ARR.	
	<i>macrocarpa</i> GUSS.		
	<i>bourgaei</i> COSS.		
	<i>atriplicifolia</i> ROUY.		
	<i>adanensis</i> PAM.		
	<i>Corrollinae</i>	<i>lomatogona</i> F. ET M.	
<i>Nanae</i>	<i>nana</i> BLOSS ET HELD		
<i>Procumbentes</i>	<i>procumbens</i> CHR.SM		
	<i>webbiana</i> MOQ.		
	<i>patellaris</i> MOQ.		

Zur Art *B. vulgaris* subsp. *vulgaris* gehören alle bekannten Kulturformen der Gattung *Beta*, wie Mangold, Rote Beete, Futter- bzw. Runkelrübe und Zuckerrübe (Tab. 1). Dabei wurde im Laufe der Züchtung zum einen auf Wurzelknollenbildung (z.B. Zuckerrübe, Rote Beete), zum anderen auf Blattwuchs (z.B. Mangold) hin selektiert (Barocka 1985). Zur Art *B. vulgaris* subsp. *maritima* gehören die Wildformen (Letschert 1993) und man geht davon aus, dass diese die Stammform aller Kulturformen ist.

2.1.2 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* – morphologische Charakterisierung



Abb. 2: *Beta vulgaris* subsp. *maritima* L.
(Rothmaler 1995).

Wildrüben zeichnen sich gegenüber Kulturformen durch dickfleischigere Blätter, meist plagiotropen Wuchs (am Boden liegend) und einen nur sehr kleinen Rübenkörper aus. *B. vulgaris* subsp. *maritima* kommt einjährig, zweijährig oder perennierend vor. Kulturrüben dagegen sind zweijährig. Die Stängel generativer Pflanzen sind vom Grunde an reich verzweigt und bilden aufrechte (orthotrope Wuchsform) oder am Boden liegende (plagiotrope Wuchsform) kantig-rillige Zweige, die grün oder rot gestreift sein

können. Die Blätter sind grundständig und länglich oval oder länglich herzförmig, am Blattgrund lang keilförmig verschmälert und in eine lange, stielförmige Basis ausgezogen (Abb. 2). Die mittleren und oberen Blätter sind fast dreieckig bis lanzettlich und sitzen am Stängel. Sie sind glatt oder leicht behaart, ganzrandig, schwach gewellt, hell umrandet und stachelspitzig. Die Blüten sitzen gelegentlich einzeln, normalerweise zu zwei bis acht in Knäueln an verlängerten Zweigen locker aufgereiht (Tutin et al. 1964). Die Blütentriebe im oberen Bereich der Infloreszenz sind gedrängt. Schossertriebe (Blütenstände) werden bis zu 150 cm hoch bzw. lang.

2.1.3 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* – Habitat und globale Verbreitung

Bevorzugte Standorte der Wildrübe sind mesohaline, nährstoffreiche Bereiche der Meeresspülsäume, felsige Deiche und Kiesstrände. Insgesamt ist das Vorkommen der Wildrübe in nördlichen Breiten an ozeanisches Klima (Hegi 1979, Schmeil 1990) gebunden, da sie nur über eine geringe Frostfestigkeit verfügt. Das Verbreitungsgebiet der Wildform *B. vulgaris* subsp. *maritima* liegt an den Küsten des Mittelmeers, Westeuropas, Nordwestafrikas und Indiens (Knapp 1958). Darüber hinaus findet man Wildrüben auch in Kalifornien (Bartsch und Ellstrand 1999) und in Australien (Curtis 1967). Nördliche

Populationen sind in Großbritannien, den Niederlanden, Belgien und Südschottland zu finden.

Ältester bekannter deutscher Standort ist die Insel Helgoland. Isoliert vom Hauptverbreitungsgebiet siedeln Wildrüben darüber hinaus an den Küsten der deutschen und dänischen Ostsee (Christensen 1996, Driessen 1999, Driessen et al. 2001) sowie an der schwedischen Kattegatküste (Kap. 2.1.4). Daneben kommt *B. vulgaris* subsp. *maritima* auch adventiv vor, einerseits an den Küsten, andererseits anthropogen verschleppt im Binnenland in Ruderalgesellschaften (Aellen 1979, Desplanque 1999).

2.1.4 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* – Historie der Verbreitung im Bereich der Ostsee



Abb. 3: Dänische Ostsee und angrenzende Gebiete (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.).

Nach Christensen (1996) wurde der erste Nachweis von Wildrüben im Bereich der Ostsee gegen Ende des 18. Jahrhunderts in Marstal erbracht. Marstal liegt auf der Insel Ærø und war eine bedeutende Hafenstadt. Aus diesem Grund wird vermutet, dass die Pflanze mit Ballastsand eingeschleppt worden ist und sich danach auf den Ostseeinseln ausgebreitet und eingebürgert hat (Hansen 1968, Christensen 1996). Die Funde des 18. Jahrhunderts beziehen sich zunächst fast ausschließlich auf Ærø und den Großen Belt, insbesondere die Westküste Seelands. Es folgen weitere Nachweise für die Nordwestküste Seelands und die Insel Samsø (nördlich Fünen). Erst zu Anfang des 19. Jahrhunderts kommt es zum Nachweis von *B. vulgaris* subsp. *maritima* an den Küsten Ostjütlands und der Westküste Schwedens.

Noch jüngeren Datums sind die Nachweise an der Ostküste Fünens, auf Südwestseeland sowie auf Lolland und Falster (Hansen und Pedersen 1959, Hansen 1968, Christensen

1996). Letzteres verwundert vor allem aufgrund der Nähe zum mutmaßlichen Ausgangszentrum Ærø. 1991/92 wurde ein Fund in Norwegen dokumentiert (Engan 1994).

Von der deutschen Ostseeküste (Schleswig-Holstein) waren bis 1997 folgende Funde dokumentiert: 1967 in Großenbrode (Raabe 1970), 1980 an der Steilküste von Surendorf (Diekjobst 1981), 1984 am Strand des Geltinger Birk, 1993 bei Todendorf und 1995 am Strand des Naturschutzgebietes „Kleiner Binnensee“. Die scheinbare Vielzahl von Funden sollte nicht darüber hinwegtäuschen, dass die Wilde Rübe im Bereich der Ostsee grundsätzlich selten war (Raabe 1987, Christensen 1996). Im Rahmen der Diplomarbeit (Driessen 1999) konnten 1997 weitere Funde von *B. vulgaris* subsp. *maritima* an der deutschen und dänischen Ostseeküste dokumentiert werden, so dass eine weitere Ausbreitung in Deutschland für den nachfolgenden Zeitraum zu erwarten war.

2.1.5 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* – Ausbreitung und Einbürgerung neuer Populationen

Neben klimatischen Faktoren kann die Ausbreitung und Einbürgerung von *B. vulgaris* subsp. *maritima* das Resultat verschiedener initialer Ausgangsprozesse sein: Es kann zu einer Einschleppung von Wildpopulationen kommen (Hypothese 1), zu einer Einschleppung und Verwilderung von Kultur- oder Unkrautformen (Hypothese 2) oder zu einer Kombination beider Prozesse mit anschließender Hybridisierung und Rückkreuzung zu einem intermediären Typ (Hypothese 3).

Die Diasporen der Wilden Rübe können im Ostseeraum vermutlich mit dem Meerwasser verbreitet werden. Sie können nach Hansen und Pedersen (1959) 3-5 Tage im Meerwasser schwimmend erhalten bleiben, losgerissene Stängelteile mit Früchten auch noch länger. In einer Untersuchung von Driessen et al. (2001) zur Überlebensfähigkeit von Rübensamen im Salzwasser konnte nachgewiesen werden, dass noch nach 28 Wochen zwei Prozent der getesteten Samen keimfähig waren. Neben der Ausbreitung über die Meeresströmung ist aber auch eine anthropogene Verschleppung oder eine Verbreitung durch Tiere möglich.

2.1.6 *Beta vulgaris* subsp. *maritima* im Gefüge von Unkraut- und Kulturrüben

Alle domestizierten Arten haben wilde Ursprungsformen, deren geographische Verbreitung oftmals mit dem landwirtschaftlichen Anbau übereinstimmt. Kultur-/Wildpflanzen-Hybridisierungen sind für viele Gattungen beschrieben, wie z.B. für *Brassica* (Lefol et al. 1991; Kerlan et al. 1992; Darmency 1994), *Helianthus* (Cronn et al. 1997), *Lactuca* (De Vries 1997), *Raphanus* (Klinger et al. 1992), *Sorghum* (Arriola und Ellstrand 1996) und *Zea* (Doebley 1990). Das Interesse an Untersuchungen zu den Interaktionen von Wild- und Kulturpflanzen sowie zum Genfluss in Wild-, Unkraut- und Kulturpflanzen-Gefügen ist mit der Möglichkeit der Produktion transgener Pflanzen stark gestiegen (Rogers und Parkes 1995, Snow und Palma 1997, Bartsch et al. 1999, Ellstrand 2001).

Der Interaktionskomplex von Wild-, Unkraut- und Kulturrüben ist aus folgenden Gründen von besonderem Interesse: In Europa werden alle Formen gefunden, ihr Vorkommen ist oft sympatrisch, alle Formen sind untereinander kreuzbar und fertile Nachkommen werden gebildet (Boudry et al. 1993) (Abb. 4). Die Möglichkeit der Hybridisierung besteht (Kapteijns 1993, Raybould und Gray 1993) und konnte auch in der Praxis mehrfach nachgewiesen werden (Bartsch und Pohl-Orf 1996). Entsprechend ihrer Habitate unterscheidet man vier Formen: 1.) Wildrüben (*B. vulgaris* subsp. *maritima* ARCANG.), 2.) Kulturrüben (*B. vulgaris* subsp. *vulgaris* L.), wie z.B. Zuckerrübe, Mangold, Rote Beete (Kap. 2.1.1), 3.) Unkrautrüben, die in Kulturrübenfeldern gefunden werden und dort zu ernststen agronomischen Problemen führen (Horsney und Arnold 1979) und 4.) Ruderalrüben (Abb. 4).

Ruderalrüben zeichnen sich durch inländische, anthropogen beeinflusste Habitate aus und werden in Saatgutproduktionsgebieten von Zuckerrüben, insbesondere in Südfrankreich, beschrieben (Desplanque et al. 1998). Unkrautrüben scheinen das Resultat einer Kreuzung von Kultur- und Ruderalrüben bzw. Wildrüben in Saatgutproduktionsgebieten zu sein (Santoni und Bervillé 1992, Boudry et al. 1993, Desplanque et al. 1998). Ihr mütterlicher Kulturrübenursprung wurde mit Hilfe cytoplasmatischer Marker bewiesen (Kapitel 2.2.2). Der väterliche Ursprung von Unkrautrüben wird auf Basis von veränderten Vernalisations-Anforderungen und molekularbiologischen Analysen postuliert (Desplanque et al. 1998, Kap. 2.2.1). Unkrautrüben schossen und blühen, im Gegensatz zu den zweijährigen

Kulturrüben, im ersten Jahr. Da ihre Stoffwechselenergie in die Produktion von Samen investiert wird, werden nur geringe bzw. keine Zuckererträge erreicht.

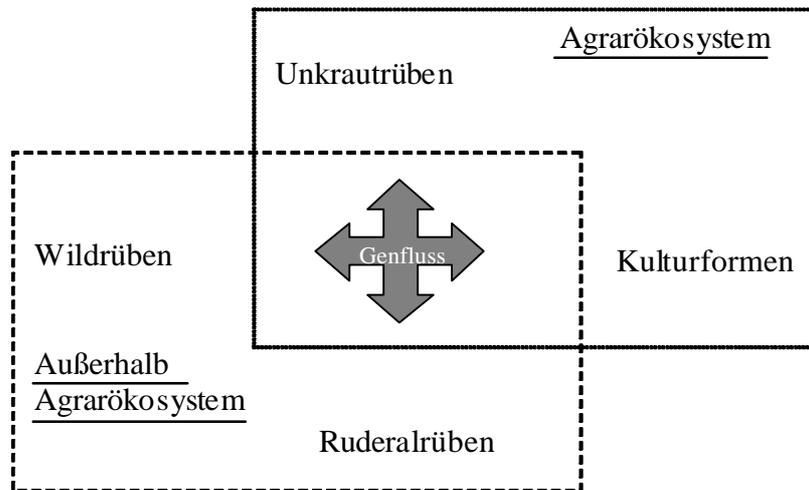


Abb. 4: Intraspezifischer Genfluss im Wild-/Unkraut-/Kulturrübengefüge innerhalb und außerhalb des Agrarökosystems (Bartsch & Schmitz 2002, modifiziert).

Da Rüben seit mehr als 200 Jahren in der östlichen Mittelmeerregion kultiviert werden und zu ihrer Züchtung bis heute immer wieder Wildrübenmaterial verwendet wurde, sind die einzelnen Formen genetisch oft nur schwierig voneinander zu unterscheiden (Bartsch und Ellstrand 1999).

2.2 Populationsgenetik von *Beta vulgaris* subsp. *maritima*

2.2.1 Schossen, Blühen und das Gen *B* – der Generationszyklus von *B. vulgaris*

Umweltreize (Licht, Temperatur) und innere Hormonsignale (Gibberelline) entscheiden darüber, ob eine Pflanze blüht und aus der vegetativen in die reproduktive Phase eintritt. Der Schlüsselprozess ist die Vernalisierung. Bei *B. vulgaris* steht der *B*-Locus in engem Zusammenhang mit der Vernalisierung. Der *B*-Locus ist verantwortlich für frühes Schossen (Einjährigkeit) und wurde zum ersten Mal in Zuckerrübenkulturen beschrieben (Munerati 1931). Später konnte gezeigt werden, dass das Blühen im ersten Jahr bei normalerweise zweijährigen Kulturrüben durch das *B*-Allel kontrolliert wird, welches Schossen unter Langtag-Konditionen ohne Vernalisationsanforderungen induziert (Abe et al. 1997). Das Gen *B* wird demzufolge sowohl durch Umweltfaktoren (photothermische

Induktion) als auch durch genetische Faktoren bestimmt (Abegg 1936, Sadeghian 1993). Nach Abegg (1936) wird das Gen dominant-monogen vererbt und ist in Pflanzen vorhanden, die ohne photothermische Induktion schossen. Bei Rüben, die eine thermische Induktion bzw. Vernalisation zur Einleitung ihrer reproduktiven Phase benötigen, fehlt *B*, sie sind also homozygot rezessiv für dieses Merkmal (*bb*).

In den Wildformen von *Beta* (wie z.B. *B. vulgaris* subsp. *maritima*, *B. patula*) variieren die Entwicklungsrythmen zwischen einjährig, zweijährig und perennierend. Dabei blühen perennierende Rüben im ersten oder zweiten Jahr zum ersten Mal. Es besteht eine zunehmende Tendenz zur Einjährigkeit bzw. zum Blühen im ersten Jahr (*B*-Genotypen) mit der geographischen Herkunft in Europa von Nord nach Süd und von Ost (zweijährig bzw. im zweiten Jahr blühend) nach West (einjährig bzw. im ersten Jahr blühend) (Van Dijk et al. 1997). *bb*-Genotypen sind nach Boudry et al. (2002) alle Kulturrüben und nordeuropäischen Wildrüben. Sie benötigen eine vorhergehende kalte Periode, um unter Langtags-Bedingungen zu blühen. 8°C gelten dabei als optimale Temperatur (Smit 1983).

Die Länge der benötigten Kälteperiode richtet sich nach der „Quantitativen Vernalisations-Anforderung“ der *bb*-Genotypen. Um das Schossen von Kulturrüben in Zuckerrübenfeldern zu vermeiden, wurde bei Kulturrüben auf diese Eigenschaft hin selektiert (Desprez 1980, Le Cohec und Soreau 1989). Dabei konnte festgestellt werden, dass die Vernalisations-Sensitivität mit dem Alter und der Größe der Pflanzen (Smit 1983) sowie mit der Tageslänge (Margara 1960) zunimmt. Dagegen liegen nur wenige Daten zur Variation von Vernalisations-Anforderungen bei Wildrüben vor (Boudry et al. 2002). Boudry et al. (2002) konnten bei Wildrüben verschiedener Populationen entlang eines Breitengrad-Gradienten herausfinden, dass die Vernalisations-Anforderungen in nördlichen Populationen größer waren als in Pflanzen südlicher Herkunft.

2.2.2 Cytoplasmatisch männliche Sterilität (CMS) als Marker für Kulturrüben

In eukaryotischen Organismen wird die genetische Information auf zwei Wegen an die Nachkommenschaft weiter gegeben: Die Kerninformation wird durch beide Eltern weitergegeben, die cytoplasmatisch genetische Information entweder mütterlicher-, väterlicherseits oder biparental. Die Interaktion zwischen den verschiedenen Sätzen

genetischer Information stellt die Basis für die Vererbung wichtiger Merkmale dar. Darunter wird das Merkmal für die cytoplasmatische, männliche Sterilität (CMS) bei *Beta* mütterlich vererbt und prägt sich durch die Unfähigkeit zur Produktion intakten Pollens aus. In den meisten Fällen wird die Pollensterilität durch Mitochondriengene bestimmt, durch Kerngene kann die männliche Fertilität wieder hergestellt werden.

In zweigeschlechtlichen Kulturpflanzen wie z.B. Mais, Sonnenblume, Hirse oder Zuckerrübe wurde CMS kommerziell für die Hybridsaatgutproduktion entwickelt. Bei Zuckerrüben wurde CMS von Owen (1942) entdeckt, das Cytoplasma wird Owen Plasma, CMS Owen oder Svulg genannt und wird weltweit bei der Zuckerrübenzüchtung eingesetzt (Saumitou-Laprade et al. 1993). Auch Unkrautrüben zeigen den typischen mitochondrialen Haplotypen von Kulturrüben, der mit der cytoplasmatisch männlichen Sterilität (CMS) von Owen assoziiert ist (Kap. 2.1.6), womit ihr mütterlicher Kulturrübenursprung bewiesen wurde. CMS wurde nach Cuguen et al. (1994) dagegen nicht in Wildrübenpopulationen gefunden.

2.2.3 Genetische Vielfalt und das Konzept des Molekularen Markers

Die genetische Vielfalt innerhalb von Arten ist - neben ihrer Bedeutung als genetische Ressource für die Pflanzenzüchtung - eine Voraussetzung für die Anpassungsfähigkeit an sich ändernde Umweltbedingungen. Sie ist damit für das Überleben von Arten und Populationen über evolutionäre Zeiträume von großer Bedeutung. Eine starke genetische Verarmung – z.B. durch Inzucht als Folge kleiner Populationen – kann durch eine verminderte Fortpflanzungsfähigkeit (Fitness) zum weiteren Rückgang von Populationen bis hin zum Aussterben führen (Inzuchtdepression). Kenntnisse zur genetischen Variabilität (Diversität) von Arten und Populationen sind daher von Bedeutung, um Gefährdungspotentiale durch genetische Faktoren (Verarmung, Inzucht) in wildlebenden Populationen zu erkennen (Tiedemann 2001).

Die genetische Diversität legt die Variationsbreite eines Phänotyps fest, die einem bestimmten Genotyp bei unterschiedlichen Umweltbedingungen zur Verfügung steht. Durch komplexes Zusammenspiel von Genotyp und Umweltbedingungen wird der Phänotyp ausgeprägt. Die herrschenden Umweltbedingungen bestimmen aus dem

möglichen Spektrum einen biotopspezifischen Variationsbereich. Um den Fortbestand einer Population zu sichern, ist ein stetiges Erneuern der Diversität nötig. Hierzu gibt es für eine Population drei Quellen: Gen- und Chromosomenmutationen, Rekombination und Migration (Suzuki et al. 1991).

Zur molekularen Messung genetischer Variabilität wird das Konzept des molekularen Markers angewendet: Ein oder mehrere Genorte (Marker) werden auf ihre Variabilität hin untersucht. Diese Variabilität wird dann als Maß für die zu erwartende Variabilität im gesamten Erbmaterial angesehen. Als Marker kann auch funktionsloses genetisches Material dienen (neutraler Marker, z.B. Mikrosatelliten, RAPDs). Neben der Beschreibung von vorhandenen wilden Populationen sind genetische Variabilität und Inzuchtvermeidung auch von Bedeutung bei der Wiederherstellung genetischer Vielfalt, z.B. im Zuge von Ansaaten bzw. Auswilderungen zur Stützung/Wiederherstellung stark dezimierter oder ausgestorbener Arten (Tiedemann 2001).

2.2.4 Die gentechnisch veränderte Zuckerrübe – Stand der Entwicklung

Herbizidresistenz, Virenresistenz und veränderte Stoffwechselwege, die zu neuen oder optimierten Inhaltsstoffen führen, stehen derzeit im Zentrum des Interesses bei der gentechnischen Veränderung von Zuckerrüben.

In den USA sind bereits seit 1998 zwei gentechnisch veränderte Zuckerrüben mit Herbizidresistenz zugelassen, die inzwischen auch angebaut werden. In Kanada sind herbizidresistente Zuckerrüben für den Anbau wie zur Verarbeitung als Lebensmittel zugelassen. In der EU dagegen liegt zwar ein Genehmigungsantrag für Lebensmittel aus gentechnisch veränderten Zuckerrüben vor, eine Entscheidung steht aber noch aus. Obwohl die Markteinführung von transgenen Zuckerrüben voran getrieben wird, ist mit einem Anbau innerhalb der EU vor 2004 nicht zu rechnen. In Deutschland befinden sich die ersten gentechnisch veränderten Sorten in der Sortenprüfung und 2001 waren an 213 Standorten Freisetzungen mit Zuckerrüben geplant¹.

¹ Alle Angaben entstammen der informellen Homepage www.transgen.de.

3. Material und Methoden

3.1 Pflanzenmaterial

3.1.1 Erfassung des Verbreitungsgebietes

Nachdem 1997 verschiedene Populationen von *B. vulgaris* ssp. *maritima* an Deutschlands Ostseeküste gefunden werden konnten (Driessen 1999), wurde die Suche nach weiteren Populationen und Pflanzen in den darauf folgenden Jahren intensiviert und ausgeweitet. Bekannte Populationen wurden mindestens alle zwei Jahre kontrolliert.

Mit Hilfe von Wissenschaftlern vor Ort, die regelmäßig Kartierungsarbeiten im Bereich der deutschen Ostseeküste vornehmen, konnte ein breiter Überblick über die Verbreitung von *B. vulgaris* ssp. *maritima* gewonnen werden. Insbesondere zwischen der Insel Fehmarn und Kiel konnte weitgehend flächendeckend der Meeresspülsaum und der Strand auf Wildrübenbestände kontrolliert werden. Darüber hinaus wurden in Deutschland zwischen Rügen und Flensburg regelmäßig stichprobenweise potentielle Habitate auf das Vorhandensein von *B. vulgaris* subsp. *maritima* hin untersucht. Die dänischen Standorte und der schwedische Standort Torekov wurden gezielt aufgesucht.

Neben der Kartierung von *B. vulgaris* ssp. *maritima* wurden im September 2001 auf Fehmarn, im Abstand von ca. 2 km der Standorte, auch Zuckerrübenfelder aufgesucht, deren Größe abgeschätzt und das Vorhandensein von blühenden Schosser- bzw. Unkrautrüben überprüft und deren Anzahl pro Hektar gezählt. Dass *B. vulgaris* subsp. *maritima* im Bereich der Ostsee zeitgleich mit schossenden Unkrautrüben blüht, konnte im Untersuchungszeitraum vermehrt festgestellt werden.

3.1.2 Anzucht

In Tabelle 2 sind sowohl die Populationen aller Standorte, die in den Untersuchungen berücksichtigt wurden, wie auch deren Lage inklusive der Angaben zu Längen- und Breitengraden aufgeführt. Weiterhin sind in der Tabelle die im Folgenden verwendeten Abkürzungen für die Populationen aufgelistet. Zur DNA-Gewinnung wurden Blätter und, soweit vorhanden, auch Samen gesammelt (Kap. 3.5.1).

Material und Methoden

Die Anzucht der Samen erfolgte im Gewächshaus. Repräsentative Stichproben wurden ausgewählt und in Pikierkisten ausgelegt. Einige der gekeimten Pflanzen wurden später vereinzelt und zum Teil für weitere Versuche verwendet (Kap. 3.3.1 und 3.3.2). Samen der schwedischen S-1-Population (Standort Glommen) wurden freundlicherweise von der Firma Novartis, Sitz Landskrona zur Verfügung gestellt.

Für die Anzucht im Gewächshaus betrug die Temperatur nachts 15°C und tagsüber mindestens 20°C. Zur Bestimmung der von Gen *B* abhängigen Schosserrate (Kap. 3.3.1) betrug die Temperatur Tag und Nacht 20°C. Die Beleuchtung erfolgte in einem Tag-/Nachtrhythmus (16h/8h) mit einer Beleuchtungsstärke von 12000 Lux.

Tab. 2: Übersicht über die untersuchten Populationen, deren Fundorte und die im Folgenden verwendeten Abkürzungen.

Nr.	Population	Herkunft	Längengrad	Breitengrad	Lage
1	GE-1	Deutschland	011°10'E	54°25'N	Burger Binnensee
2	GE-2	Deutschland	011°11'E	54°24'N	Burgtiefe
3	GE-3	Deutschland	011°07'E	54°23'N	Großenbroderfähre
4	GE-4	Deutschland	011°11'E	54°24'N	Wulfener Hals
5	GE-5	Deutschland	011°13'E	54°30'N	Puttgarden
6	GE-6	Deutschland	011°06'E	54°24'N	Fehmarnsund - Insel
7	GE-7	Deutschland	011°02'E	54°31'N	Fastensee
8	GE-8	Deutschland	011°03'E	54°31'N	Salzensee
9	GE-9	Deutschland	011°09'E	54°24'N	Wulfen - Binnensee
10	GE-10	Deutschland	010°56'E	54°22'N	Steinwarder Ufer
11	GE-11	Deutschland	010°54'E	54°22'N	Dazendorf
12	GE-12	Deutschland	011°06'E	54°23'N	Fehmarnsund - Festland
13	GE-13	Deutschland	011°56'E	54°22'N	Großenbrode
14	DK-1	Dänemark	010°40'E	54°45'N	Bagenkop - Fischhafen
15	DK-2	Dänemark	010°40'E	54°45'N	Bagenkop - Fährhafen
16	DK-3	Dänemark	011°20'E	54°39'N	Rodbyhavn
17	DK-4	Dänemark	010°42'E	54°56'N	Rudkobing
18	DK-5	Dänemark	011°01'E	54°52'N	Tars
19	DK-6	Dänemark	010°47'E	55°18'N	Nyborg
20	DK-7	Dänemark	011°04'E	55°40'N	Kalundborg
21	DK-8	Dänemark	011°06'E	55°20'N	Korsor
22	S-1	Schweden	012°21'E	56°55'N	Glommen
23	S-2	Schweden	012°37'E	56°25'N	Torekov

Die Pflanzen wurden je nach Befall mit den üblichen Insektiziden und Fungiziden behandelt: Bei Befall mit Blattläusen wurde PIRIMOR® (Firma Schering AG, Berlin/Bergkamen) mit dem Wirkstoff Pirimicarb mit einer Anwendungskonzentration von 0,05 % angewendet. Bei Befall mit Mehltau wurde SAPROL (Firma SHELL AGRAR

GmbH & Co KG, Ingelheim) mit dem Wirkstoff Triforin (Anwendungskonzentration 0,1%) verwendet.

Für die Auswertung der RAPD-Analysen (Kap. 3.5.2 und 4.5.1) wurden neben Daten des in den Tabellen 2 und 4 aufgelisteten Pflanzenmaterials die Ergebnisse drei verschiedener bei Hesse (1999) beschriebenen Kulturrüben der Sorten Dora, Gabriella und Bianca mit ausgewertet. Das Saatgut wurde von der Firma KWS zur Verfügung gestellt.

Tab. 3: Übersicht über Pflanzenmaterial und dessen Herkunft aus früheren Untersuchungen anderer Autoren.

Herkunft	Form	Original- Bezeichnung	Hier verwendete Bezeichnung	Nachweis
Deutschland, Warden	Unkrautrübe	Warden 61, W9	(UR-) Wa 61	Pohl-Orf 1999
Deutschland, Warden	Unkrautrübe	Warden 58, W6	(UR-) Wa 58	Pohl-Orf 1999
Portugal, Aveiro	Wildrübe	B57735, Port	(WR-) Po	Pohl-Orf 1999
Frankreich, Morbihan	Wildrübe	B54809, Bre55	(WR-) F	Pohl-Orf 1999
Irland, Waterford	Wildrübe	B54225, Irl	(WR-) Ir	Pohl-Orf 1999
Griechenland, Euboea	Wildrübe	B51421, Grie	(WR-) Gr	Pohl-Orf 1999
Deutschland, Helgoland	Wildrübe	HL	(WR-) HI	Driessen 1999
Italien, Calcore	Unkrautrübe		(UR-) Cal	Hesse 1999
Italien, San Pietro	Unkrautrübe		(UR-) SP	Hesse 1999
Italien, Appolinare	Unkrautrübe		(UR-) Ap	Hesse 1999
Italien, Albarella	Wildrübe		(WR-) Al	Hesse 1999
Italien, Fusina	Wildrübe		(WR-) Fu	Hesse 1999

3.1.3 Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen

Aufgrund der kontinuierlichen Suche neuer Vorkommen und durch das Hinzukommen fast jährlich neuer Standorte, wurde Pflanzenmaterial zwar sukzessive mit in die Untersuchungen und Kartierungen aufgenommen, aber nicht mit allem Material konnten alle Analysen durchgeführt werden. Tabelle 3 bietet eine Übersicht darüber, welche Untersuchungen bei den jeweiligen Populationen durchgeführt wurden.

Tab. 4: Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen bei den jeweiligen Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2).

	Schosserrate		Überwinterungs- fähigkeit	AFLP	RAPD- PCR	RFLP	PCR- RFLP
	a) im Freiland	b) im Gewächshaus					
Kapitel	3.3.1	3.3.1	3.3.2	3.4	3.5.2	3.5.3	3.6
Population							
GE-1		X		X	X	X	X
GE-2	X	X	X	X	X	X	X
GE-3		X	X	X	X	X	
GE-4	X	X	X	X	X	X	
GE-5			X		X	X	X
GE-6		X		X		X	X
GE-7		X				X	
GE-8		X		X		X	
GE-9		X				X	
GE-10		X		X		X	X
GE-11		X		X		X	X
GE-12		X					X
GE-13		X		X		X	X
DK-1	X	X	X	X		X	X
DK-2			X		X		
DK-3	X	X	X	X	X	X	X
DK-4	X	X	X	X	X	X	X
DK-5	X		X			X	X
DK-6		X		X		X	X
DK-7		X		X		X	
DK-8		X		X		X	
S-1						X	X
S-2		X				X	X

3.2 Berechnung der klimatischen Winterhärte

Zur Abschätzung der Winterhärte im Bereich der Ostsee und zur Feststellung, ob sich diese in den letzten Jahren bzw. Jahrzehnten geändert hat, wurden alle Tagestiefsttemperaturen unter 0°C eines Winters summiert. Dazu wurden beim Deutschen Wetterdienst über den Zeitraum von Meßbeginn (je nach Station ab 1967) bis Ende 2001 Klimadaten von 36 deutschen, 23 schwedischen und 17 dänischen Stationen aus dem baltischen Küstenbereich von Deutschland, Schweden und Dänemark angefordert. Aus diesen Daten wurden repräsentative Stationen im Bereich des Untersuchungsgebietes sowie des näheren Umkreises extrahiert (Kap. 4.2).

Pohl-Orf et al. (1999) fanden zwar heraus, dass bei *B. vulgaris* subsp. *vulgaris* eine bessere Korrelation von Kältesumme (Summe aller negativen Tagesdurchschnittstemperaturen)

und Überlebensrate gegeben war, wenn alle Werte unter -4°C berücksichtigt werden. Die Berechnung solcher Kältesummen war in vorliegender Untersuchung aber technisch nicht möglich, da nicht für alle Stationen über den gesamten Zeitraum Daten zu den durchschnittlichen Tagestemperaturen zur Verfügung standen.

Die Stationen, die jeweiligen vom Deutschen Wetterdienst (DWD) verwendeten Kennziffern und die geographische Lage sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Im weiteren Verlauf (Kap. 4.2 und 5.2) ist unter **hohen** Kältesummen (bzw. Summen der negativen Tagestiefsttemperaturen) ein großer, wenn auch negativer Wert für die Summe tiefer Temperaturen gemeint ist, der mit strengen Winter assoziiert ist. Mit **geringen** Summen hingegen ist die Summe weniger tiefer Temperaturen gemeint, d.h. eher milde Winter.

Tab. 5: Übersicht über die genaue Lage der in dieser Arbeit berücksichtigten Wetterstationen.

Station	Kennziffer DWD	Lage	Längengrad	Breitengrad
GE-A	10033	Glücksburg (D)	009°5'E	54°8'N
GE-B	10044	Leuchtturm Kiel (D)	010°2'E	54°5'N
GE-C	10055	Westermakelsdorf (D)	011°0'E	54°5'N
GE-D	10156	Lübeck-Blankensee (D)	010°7'E	53°8'N
GE-E	10170	Rostock (D)	012°0'E	54°1'N
GE-F	10091	Arkona (D)	013°3'E	54°4'N
GE-G	10184	Greifswald (D)	013°4'E	54°1'N
DK-A	06041	Skagen (DK)	010°4'E	57°4'N
DK-B	06120	Odense (DK)	010°2'E	55°2'N
DK-C	06180	Kopenhagen (DK)	012°4'E	55°4'N
DK-D	06190	Rønne (DK)	014°4'E	55°1'N
S-A	02636	Malmø (S)	013°2'E	55°3'N
S-B	02611	Helsingborg (S)	012°4'E	56°0'N
S-C	02605	Hallands Vaderø (S)	012°3'E	56°3'N
S-D	02512	Göteborg (S)	011°5'E	57°5'N
S-E	02664	Ronneby (S)	015°2'E	56°3'N

3.3 Bonitur pflanzenphysiologischer Merkmale

3.3.1 Untersuchung des Generationszyklus

Die Eigenschaft des Schossens und Blühens entscheidet darüber, ob eine Pflanze im ersten oder zweiten Jahr Samen bildet. Dies kann insbesondere dann essentiell von Bedeutung sein, wenn die Pflanzen aufgrund niedriger Temperaturen den Winter nicht überleben würden und somit nicht in die generative Phase gelangen. Das Fortbestehen einer Population kann davon abhängig sein, ob das Überleben der Pflanzen durch rechtzeitige und ausreichende Samenproduktion gesichert ist. Die Bestimmung der Eigenschaft, ob Samen im ersten oder zweiten Jahr nach Keimung der Pflanze gebildet werden, lässt bei kälteempfindlichen Pflanzen eine Aussage darüber zu, inwiefern das Überleben einer Population von der Temperatur im Winter abhängt. Werden Samen erst im zweiten Jahr gebildet, ist das Überleben und Fortbestehen einer Population stärker von der Winterhärte abhängig als bei Populationen, die durch eine Samenproduktion im ersten Jahr ihr Überleben sichern und somit unabhängig vom Winter sind.

Die Schosserrate wurde a) unter natürlichen Bedingungen im Freiland und b) unter konstanten Bedingungen im Gewächshaus bestimmt.

a) im Freiland

Zur Untersuchung des Schoss- und Blühverhaltens unter möglichst natürlichen Bedingungen wurden exemplarisch 196 Rüben von sieben verschiedenen Standorten am 30. März 1999 im Gewächshaus angezogen und Ende Mai ins Freiland gepflanzt (Tab. 4). Die Temperatur im Feld wurde gemessen und aufgezeichnet. Das Schossen und Blühen wurde vier Monate nach Aussaat, Anfang August, bestimmt. Zeigten Pflanzen bis August keine Bildung von Blütentrieben, wurden sie als nicht-schossende Individuen eingestuft.

b) im Gewächshaus

Die Bestimmung der Schosserrate im Gewächshaus erlaubt eine Aussage über das Vorhandensein des Gens *B*, welches für frühes Schossen bzw. Einjährigkeit verantwortlich gemacht wird (Kap. 2.2.1). 361 Pflanzen von 19 verschiedenen Standorten (ca. 20 Pflanzen pro Standort) sowie 10 Kontrollpflanzen wurden nach der Methode von van Dijk et al. (1997) im Gewächshaus unter Langtag-Konditionen (16h Licht) am 23. März 2000

ausgesät und Tag und Nacht bei 20°C kultiviert. Die Pflanzen wurden als schossend eingestuft, wenn sich zwischen der sechsten Woche und dem fünften Monat Blütentriebe gebildet hatten. Zeigten Pflanzen innerhalb dieser Periode keine Bildung von Blütentrieben, wurden sie als nicht-schossende Individuen bewertet.

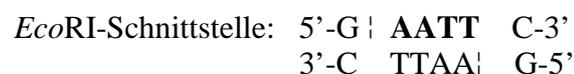
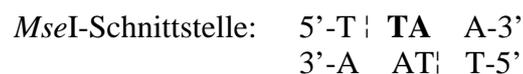
3.3.2 Untersuchung der Überwinterungsfähigkeit

Pohl-Orf et al. (1999) führen die geringe Invasivität von Zuckerrüben, *B. vulgaris* subsp. *maritima* auf ihre geringe Kältetoleranz zurück. Und nach Doney (1990) und Rothmaler (1990) können die zweijährigen Formen der Wildverwandten nur dort stabile Populationen bilden, wo klimatisch milde Winter vorherrschen (Kap.2.1.3).

Die Fähigkeit der Überwinterung wurde 1998/99 an Pflanzen durchgeführt, die zuvor zur DNA-Gewinnung im Gewächshaus angezogen wurden (Kap. 3.5.1). Die Pflanzen wurden im Sommer 1998 ins Freiland gepflanzt. Am 3.5.1999 wurde die Überlebensrate bestimmt. Für die gesamte Zeitspanne wurde die Temperatur gemessen und aufgezeichnet.

3.4 AFLP-Marker zur Prüfung auf Gen B

Bei der AFLP (Amplified fragment length polymorphism)-Methode wird die DNA (Isolation mit dem Kit "DNeasy Plant System" der Firma Quiagen GmbH, vgl. Kap. 3.5.1) einem doppelten Restriktionsverdau unterzogen, d.h. mit zwei verschiedenen Restriktionsenzymen restringiert. In vorliegender Arbeit kamen die häufig verwendeten Enzyme *EcoRI* und *MseI* zum Einsatz, die überhängende Enden produzieren: *MseI* erzeugt zwei überhängende, spezifische Basen bekannter Sequenz, *EcoRI* vier:



An diese überhängenden Enden werden im weiteren Verlauf mit Hilfe einer Ligase die Adaptoren angelagert (16bp lange doppelsträngige DNA-Stücke mit einem überhängenden

Ende, das komplementär zum überhängenden Ende der Schnittstelle ist) (Ligation). Bei der darauf folgenden Präamplifikation werden Primer verwendet, die zur Sequenz der Adaptoren passen und zusätzlich eine weitere Base (+1) haben, die in das Amplifikat hinein ragt. Dies ermöglicht bei der weiteren Amplifikation eine Reduktion auf ein Viertel aller Fragmente. Als letzter Schritt folgt die Amplifikation, deren Primer mit drei Basen in das zu amplifizierende Fragment hineinreicht, was eine weitere Reduktion der amplifizierten Fragmente zur Folge hat.

Auch mit der AFLP-Methode können Verwandtschaftsverhältnisse untersucht und die genetische Variabilität eines Genoms gemessen werden. Sie findet weiterhin Anwendung in der Pflanzenzüchtung, bei Genomkartierungen oder in der Forensik. El-Mezawy et al. (2002) konnten mit Hilfe von AFLP's eine hochauflösende Genkarte der Zuckerrübe, insbesondere der Region um das Gen B (Kap. 2.2.1) erstellen. Genetisch eng mit dem B-Gen gekoppelte Marker wurden mit Hilfe der Bulk Segregant Analyse angereichert, wobei DNA von schossenden und nicht schossenden Genotypen gepoolt wurde. Die Bulk Segregant Analyse (BSA) ist eine Möglichkeit, Individuen zu genotypisieren. Dabei werden die Individuen unterschiedlicher Phänotypen zusammengefasst und die DNA entsprechend gepoolt. Kopplungsanalysen werden durchgeführt. Treten Unterschiede in der Allelfrequenz zwischen beiden Gruppen auf, werden die entsprechenden Banden mit dem Phänotyp assoziiert (Mitchelmore et al. 1991). Zu diesem Zweck wurde eine F₂-Population mit 775 Pflanzen durch Kreuzung einer einjährigen (BB) mit einer zweijährigen (bb) Rübe erzeugt. In dieser Population wurde das Merkmal "Schossen" anhand der Verlängerung der Sprossachse ohne Einwirkung kühler Temperaturen erfasst. Von 247 AFLP- und 2 RFLP-Markern, die in dieser Population kartiert wurden, konnten 4 AFLP Marker identifiziert werden, die genetische Distanzen zwischen 0.14 und 0.5 cM zum Schossgen aufwiesen. Die genetische Ausflösung der Karte wurde durch das Hinzuziehen weiterer 1359 F₂- Pflanzen für die Kartierung auf 0.05 cM erhöht (Abb. 5).

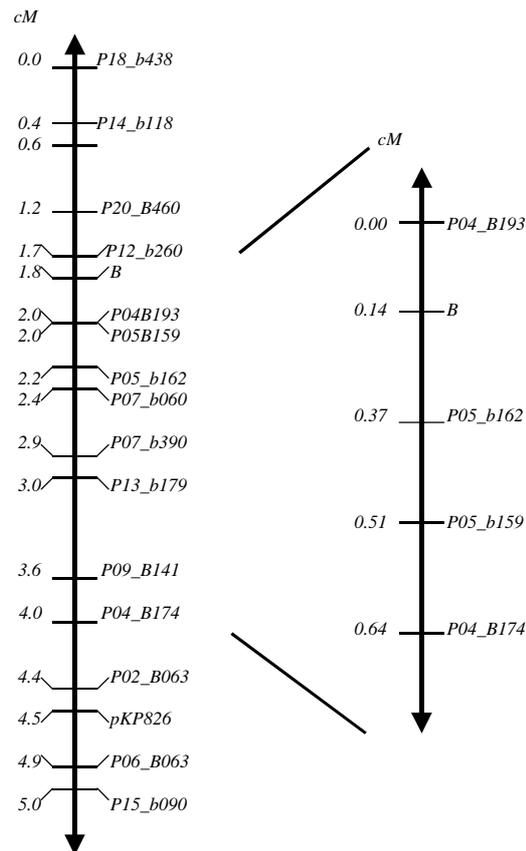


Abb. 5: Genkarte im Bereich des *B*-Locus auf Chromosom II der Zuckerrübe. Die linke zeigt einen Abschnitt von 5 cM inklusive 17 Markern und das *B*-Gen. Die rechte Abbildung zeigt ein 0,64 cM großes Intervall im Bereich des *B*-Gens mit vier streng gekoppelten AFLP-Markern (nach El-Mezawy et al. 2002).

Die AFLP Analyse der F_2 -Population zeigt mit der Primerkombination P05 unterschiedliche Bandenintensitäten (Abb. 6) bei den Banden der schossenden Pflanzen, die mit den Ergebnissen der *B*-spezifischen Markers P05_B159 korrelieren. El-Mezawy et al. (2002) interpretieren starke und intensive Banden dieses Fragments als homozygot im *B*-Locus (*BB*) und weniger intensive Banden als heterozygote (*Bb*). Bei dem *b*-spezifischen Marker P05_b162 werden Individuen mit starken, intensiven Banden als homozygot für *bb* betrachtet, solche mit weniger intensiven Banden als heterozygot.

In vorliegender Studie wurde Pflanzenmaterial, welches auch bei den Gewächshausversuchen (Kap. 3.3) zum Einsatz kam, auf die molekularen Marker (P05) hin untersucht und mit den Ergebnissen, die im Gewächshaus erzielt wurden, verglichen. Jeweils zehn Individuen folgender Populationen wurden untersucht: GE-1, GE-2, GE-3, GE-4, GE-6, GE-8, GE-10, GE-11, GE-13, DK-1, DK-3, DK-4, DK-6, DK-7, DK-8 (Tab. 4).

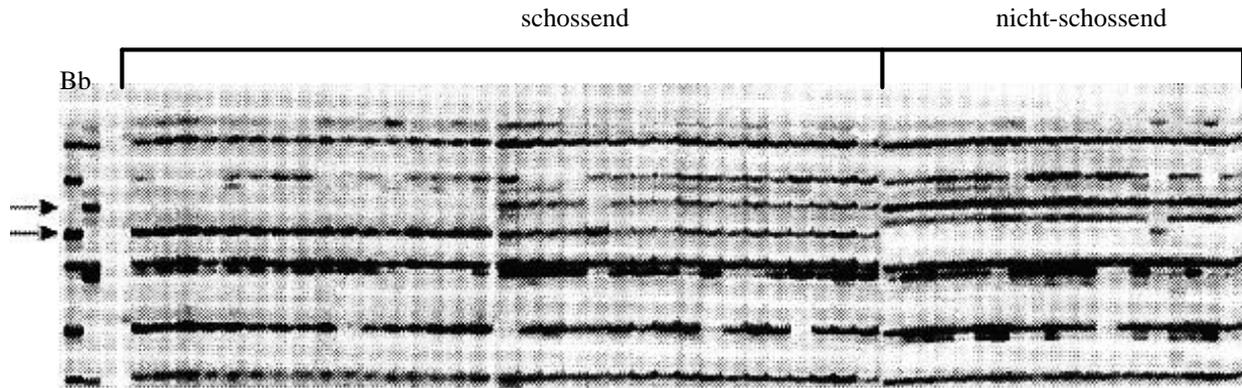
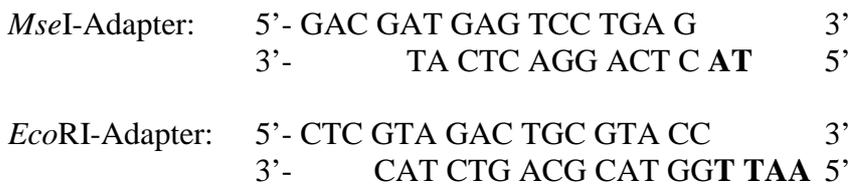


Abb. 6: AFLPs individueller Pflanzen der F2-Population mit der Primer-Kombination P05. Der obere Pfeil zeigt das AFLP-Fragment b162, der untere Pfeil das Fragment B159. Beide Fragmente sind streng gekoppelt mit dem B-Gen. Schossende (B) und nicht schossende (b) Eltern dienten als Kontrolle (El Mezavy et al. 2002).

Für die AFLP-Analyse wurde das Standardprotokoll von Vos et al. (1995) verwendet. Das Reaktionsvolumen für die Restriktion betrug 30µl und setzte sich zusammen aus 100 ng DNA, vier Einheiten *EcoRI*, vier Einheiten *MseI* (New England Biolabs) und 5x RL-Puffer (für 4ml: 2ml 10x OPA-Puffer von Pharmacia, 200 µl 0,5M DTT, 100µl 10mg/ml BSA). Nachdem der Mix für eine Stunde bei 37°C inkubiert, wurden je Ansatz 10 µl Ligations-Mix (5pmol/µl *EcoRI*-Adapter, 50pmol/µl Einheiten *MseI*-Adapter, 10mM ATP, eine Einheit T4-Ligase, 5x RL-Puffer) hinzugefügt und 3h bei 37°C ligiert.

Die verwendeten Adaptersequenzen sahen folgendermaßen aus:



Zur Pre-Amplifikation wurden 5µl der ligierten DNA mit Hilfe des *EcoRI*-Primers+C (E01: 5'-GAC TGC GTA CCA ATT C-3') und des *MseI*-Primers+A (M02: 5'-GAT GAG TCC TGA GTA A-3') amplifiziert. Der Pre-Amplifikations-Reaktionsmix betrug 15µl pro Ansatz und setzte sich zusammen aus 2µl 10x Taq-Puffer, 2µl 2mM dNTP's, 0,6µl Primer E01 (50ng/µl), 0,6 µl Primer M02 (50ng/µl), 0,08µl Taq-Polymerase und 9,72µl aqua bidest.

Für die PCR wurde ein Perkin-Elmer Thermocycler (GeneAmp 9600) verwendet. 23 Zyklen wurden durchlaufen, jeder bestehend aus 30 Sekunden bei 94°C für die

Denaturierung, 30 Sekunden bei 56°C für die Anlagerung und eine Minute bei 72°C für die Synthesephase. Vor Abschluss des PCR-Programms gab es eine letzte fünfminütige "fill in" Stufe bei 72°C. Nach der Pre-Amplifikation wurde die DNA 1:10 (20µl Pre-Amplifikations-Mix + 180µl 0,1 TE) verdünnt.

Zur Anreicherung einer weiteren Auswahl der Fragmente wurde eine zweite Amplifikation mit Primern durchgeführt, die weitere drei Nukleotide (Primer+3) besaßen. Zur Amplifikation wurden 5µl des Pre-Amplifikations-Gemisches mit Hilfe des *EcoRI*-Primers+3 (E45: 5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAT T-3') und des *MseI*-Primers+3 (M50: 5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA T-3') amplifiziert. Der Reaktionsmix betrug 15µl pro Ansatz und setzte sich zusammen aus 2µl 10X Taq-Puffer, 2µl 2mM dNTPs, 0,6µl Primer E45 (50ng/ml), 0,1µl Primer M50 (50ng/µl), 0,088µl Taq-Polymerase und 10,21µl aqua bidest.

Für die PCR wurde ebenfalls der oben genannte Thermocycler verwendet. Das Temperaturprogramm für die einzelnen Reaktionsschritte ist in Tab. 6 dargestellt. Die AFLP-Amplifikation startete bei höheren Annealing-Temperaturen, um eine optimale Primerselektivität zu garantieren und wurde dann graduell auf eine Temperatur erniedrigt, bei der eine effiziente Primerbindung erfolgen konnte.

Tab. 6: PCR-Bedingungen für die AFLP-Amplifikation.

Zyklus	Reaktion	Temperatur	Dauer	Wiederholung
1	Denaturierung	94°C	30''	1X
2	Denaturierung	94°C	30''	
3	Anlagerung	65°C? 56°C	30''	} 13X
4	Synthese	72°C? 60°C	1'	
5	Denaturierung	94°C	30''	} 23X
6	Anlagerung	56°C	30''	
7	Synthese	72°C	1'	
8	„fill in“	72°C	5'	} 1X
9	Kühlung	4°C	8	

Die AFLP-Produkte wurden mit einem gleichen Volumen Farbmaler gemixt (98% Formamid, 10 mM EDTA, pH 8,0, Xylex Cyanol und 0,05 % Bromphenolblau), 3 Minuten bei 94°C denaturiert und vor der Gel-Elektrophorese auf Eis gekühlt. Die Elektrophorese wurde in einem Licor-Sequenzierer (MWG Ebersberg) durchgeführt. Aliquots (1µl) der

Probenlösung wurden auf ein 8%iges Polyacrylamidgel (Long Ranger, Biozym) geladen, welches mit 1x TBE gepuffert war. Die Gele liefen bei 35 W und 48°C. Das resultierende Gelbild wurde visuell auf An- bzw. Abwesenheit der Banden ausgewertet.

3.5 Bestimmung der genetischen Diversität

3.5.1 DNA-Gewinnung

Zur DNA-Gewinnung wurde einerseits auf im Freiland gesammeltes Blattmaterial zurückgegriffen, welches in dünne saugfähige Zellstofftücher gewickelt und über Silikagel getrocknet wurde (für die RFLP-Analyse (Kap. 3.5.3) und die PCR-RFLP-Analyse (Kap. 3.6)). Andererseits wurden Pflanzen aus gesammelten Samen im Gewächshaus angezogen und hieraus die DNA präpariert (AFLP-Analyse (Kap. 3.4), RAPD-PCR-Analyse, (Kap. 3.5.2)).

Im Freiland gesammeltes Blattmaterial bietet den Vorteil, auch Pflanzen untersuchen zu können, die noch keine Samen gebildet haben. Insgesamt kann damit ein größerer Umfang verschiedener Pflanzen erfasst werden. DNA aus getrocknetem Pflanzenmaterial wurde aber nur in solchen Analysen eingesetzt, wo spezifische Marker vorhanden waren. Aufgrund der sehr heterogenen Verschmutzung der Pflanzen unterschiedlicher Standorte mit beispielsweise Bodenpartikeln, sollte bei einer Verwandtschaftsanalyse mit Hilfe empfindlicher Methoden wie RAPDs (Kap. 3.5.2) oder AFLPs (Kap. 3.4) nur mit einheitlich angezogenem Blattmaterial gearbeitet werden. Darüber hinaus haben sich bei den AFLP-Analysen einsetzende Degradierungsprozesse der DNA bei der Trocknung über Silikagel als störend heraus gestellt.

Für die DNA-Extraktion der Gewächshaus-Pflanzen wurden diese im Alter von 4-5 Wochen beprobt, indem ein Primärblatt geerntet und sofort im Eppendorf-Tube in flüssigem Stickstoff tiefgefroren wurde. Die Primärblätter sind zu diesem Zeitpunkt vollständig ausgebildet, weiteres Wachstum erfolgt hier vor allem durch Zellstreckung und nicht durch Zellteilung, d.h. die Menge genomischer DNA ist bei allen Proben vergleichbar. Die Lagerung der eingefrorenen Blätter erfolgte bei -50°C.

Für die DNA Isolation wurde eine modifizierte Phenol-Chloroform-Extraktion durchgeführt: Das Blattmaterial wurde gemörsert und sofort in 1 ml SDS-Extraktionspuffer (0.1 M Tris/HCl, pH 8.5; 0.1 M NaCl; 0.05 M EDTA; 2 % SDS) und 1 ml Phenol/Chloroform (2:1) aufgenommen. Anschließend wurden die Proben 10 Minuten geschüttelt und bei 5000 rpm 10 Minuten abzentrifugiert. Von der wässrigen Phase wurden 750µl abgenommen, mit dem gleichen Volumen Chloroform/Isoamylalkohol (24:1, v/v) versetzt und nach fünf Minuten Schütteln wieder abzentrifugiert. Die DNA wurde in 100% Isopropanol gefällt und nach Zentrifugation (5000 rpm, 10 Minuten) wurde das DNA-Pellet in 70%igem Ethanol gewaschen (anschließend wurde 10 Minuten bei 10000 rpm zentrifugiert). Die aufgereinigte DNA wurde getrocknet, in 100 µl 0,1 TE (10 mM Tris/HCl; 1mM EDTA, pH 8) aufgenommen und bei 4°C gelagert (Driessen et al 2001).

3.5.2 RAPD-PCR

Bei der RAPD-PCR (Randomly Amplified Polymorphic DNA-PCR) handelt es sich um eine modifizierte Form der PCR, bei der Primer eingesetzt werden, die relativ kurz (in vorliegender Arbeit 10 bp), von beliebiger Sequenz und deren Hybridisierungsorte zufällig sind. Um die Anlagerungswahrscheinlichkeit zu erhöhen, sollte der GC-Gehalt des Primers dem der DNA angeglichen sein (Williams et al. 1990). Statistisch gesehen sind bei komplexen, großen Pflanzengenomen (die Genomgröße von *Beta* liegt bei 760 Mbp, Martin 1998) mit solchen Primern alle 10^6 Basen komplementäre Bindungsorte zu erwarten (Wink und Wehrle 1994). Die zwischen diesen Hybridisierungsstellen liegende DNA wird amplifiziert, solange die Länge im amplifizierbaren Bereich liegt. Voraussetzung ist, dass die Primer auf verschiedenen Strängen der DNA so binden, dass die von ihnen gestartete Synthese auf die jeweils andere Primer-Bindungsstelle zuläuft.

Unterscheiden sich zwei individuelle Pflanzengenome in den entsprechenden Bindungsorten, so entstehen nach gelelektrophoretischer Auftrennung der Amplifikationsprodukte variierende Bandenmuster, anhand derer Polymorphismen innerhalb und zwischen den einzelnen Populationen sichtbar gemacht werden können (Williams et al. 1990, Waugh und Powell 1992). Auf diese Weise können mit Hilfe der

RAPD-PCR Verwandtschaftsverhältnisse untersucht und die genetische Variabilität molekular gemessen werden (vgl. Kap. 2.2.3).

Um die bereits in früheren Arbeiten gewonnenen Daten einiger Rüben aus dem Ostseegebiet (Driessen 1999) mit weiteren europäischen Wild-, Unkraut- und Kulturrüben vergleichen zu können, wurden Bilder von RAPD-Analysen anderer Untersuchungen (Pohl-Orf (1999), Driessen (1999) und Hesse (1999)) visuell analysiert und zur Berechnung eines Stammbaums gemeinsam ausgewertet. Der Vollständigkeit halber werden das Protokoll und die Auswertungsmethodik dennoch aufgeführt, obwohl diese spezielle DNA-Amplifikation nicht praktischer Bestandteil dieser Arbeit war.

Für die RAPD-PCR wurde ein modifiziertes Protokoll von Williams et al. (1990) angewendet und Decamer-Primer mit einem GC-Gehalt von über 60 % (Tab. 5) verwendet. Das Reaktionsvolumen betrug 25 µl und setzte sich zusammen aus 1x Reaktionspuffer [10x Reaktionspuffer: 750mM Tris/HCl, pH 9; 200mM (NH₄)₂SO₄; 0,1% (w/v) Tween (Eurogentec company)], 0,001% Gelatine, 1,5mM MgCl₂, 0,2mM dNTP's, 1µM Primer, ca. 20 ng DNA und einer halben Einheit Taq-Polymerase (Eurogentec company). Für die Amplifikation wurde ein PTC-100TM (MJ RESEARCH, Inc.) Thermocycler verwendet. 40 Zyklen wurden durchlaufen, jeder bestehend aus einer Minute bei 94°C für die Denaturierung, einer Minute bei 35°C für die Anlagerung und zwei Minuten bei 72°C für die Synthesephase. Vor der abschließenden Kühlung gab es eine letzte 5-minütige „fill in“ Stufe bei 72°C. Die Trennung der amplifizierten Produkte erfolgte unter Verwendung von TAE-Puffer (40mM TRIS/HCl, 1mM EDTA, pH 8) elektrophoretisch in einem 1,5%igem Agarosegel bei 3,6 Vcm⁻¹ für 2,5 h. Die Visualisierung erfolgte mit Hilfe von Ethidiumbromid unter UV-Licht. Lambda DNA/*Eco471* (Avall) von MBI Fermentas diente als Längenmarker. Die Reproduzierbarkeit wurde dadurch sichergestellt, dass alle Untersuchungen zwei Mal durchgeführt wurden.

Allen Arbeiten gemeinsam waren sieben verschiedene Decamer-Primer (Tab. 7), die entsprechenden Gel-Bilder wurden im Rahmen dieser Arbeit neu ausgewertet. Die Auswertung der RAPD-Profile auf das Vorhandensein von monomorphen und polymorphen Banden erfolgte visuell. Der Polymorphiegrad PG wurde in Prozent ausgedrückt, indem die Anzahl polymorpher Banden p durch die Anzahl aller insgesamt auftretenden Banden n geteilt wird: $PG \text{ (in \%)} = p/n * 100$. Zur Berechnung der

genetischen Diversität wurde der Shannon Index herangezogen (Elseth und Baumgardner 1981).

Tab. 7: Übersicht über die Basensequenz der verwendeten Primer.

<u>Primer-Bezeichnung</u>	<u>Basensequenz</u>
Deca 2	5`-GGC ATC GGC C-3`
Deca 3	5`-CCC AAG GTC C-3`
Deca 7	5`-CCA CGG GAA G-3`
Deca 21	5`-GTC TCG TCG G-3`
Deca 23	5`-GTG TAG GGC G-3`
Deca 28	5`-GGC CTT CAG G-3`
Deca 29	5`-GCT CTC ACC G-3`

Die Bandenmuster wurden in eine 0/1 Matrix übersetzt (0 für Abwesenheit, 1 für Anwesenheit einer speziellen Bande bzw. eines DNA-Markers) und in das Cluster-Analysen-Programm TREECON 1.2 eingespeist (van de Peer und DeWachter 1994), welches auch die prozentualen Distanzwerte berechnet (Nei und Li 1979). Dabei basierten die Berechnungen der genetischen Distanz (GD) aller möglichen Paarbildungen auf der Formel von Nei und Li (1979):

$$GD = (1 - (2n_{xy} / (n_x + n_y))) \times 100$$

n_x bzw. n_y : Anzahl der ausgeprägten Merkmale des jeweiligen Individuums

n_{xy} : Anzahl der gemeinsamen Merkmale beider Individuen

Anhand der so berechneten Distanzmatrix lassen sich die genetischen Distanzen jedes Individuums zu jedem anderen in Prozentanteilen angeben. Die Distanzmatrix ist außerdem Grundlage für die Anwendung verschiedener numerischer Clusteranalysen, deren Ergebnisse in Phänogrammen graphisch dargestellt werden können. Clusteranalysen wurden mit Hilfe der UPGMA- (unweighted pairgroup method using arithmetic averages, Sneath und Sokal, 1973) und der Neighbour-Joining- (Saitou und Nei 1987) Methode durchgeführt. Die Neighbour-Joining-Methode verläuft über mehrere Zyklen. In jedem Zyklus wird von zwei ähnlichen OTU's (Operational Taxonomic Units) ein Paar gebildet. Im weiteren Verlauf werden diese Paare als neue Einheit mit jeweils einem dritten OTU kombiniert. Bei der UPGMA Methode werden die OTU's aufgrund der arithmetischen Mittel der jeweiligen Distanzen miteinander verbunden. Der Vorteil der Mittelung der

Distanzen liegt darin, dass diese beiden Methoden eine stärkere Unabhängigkeit von „Ausreißern“ in den Distanzwerten besitzen.

Berechnungen des Shannon Index basieren auf dem PC-Programm POPGENE (Yeh et al. 1997). Signifikante Bootstrap-Werte (Felsenstein 1985) >89% wurden berechnet und in den UPGMA-Stammbaum eingefügt.

3.5.3 RFLP

Variieren DNA-Fragmente nach dem Verdau mit einem bestimmten Restriktionsenzym in ihrer Länge, so spricht man von Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP). Zurückzuführen sind diese Änderungen vor allem auf Basenaustauschmutationen in den Erkennungsstellen für das eingesetzte Enzym. RFLP treten auch durch Insertionen, Deletionen oder Duplikationen auf. Veränderungen in der Erkennungssequenz eines Restriktionsenzym führen zum Verlust oder zum Auftreten eines neuen DNA-Fragmentes bzw. zur Verlängerung oder Verkürzung anderer Fragmente. Die Analyse der Änderungen im Spaltungsmuster werden durch vergleichende Gelelektrophorese durchgeführt (Ibelgaufts 1993). RFLP können für Verwandtschaftsanalysen genutzt und die genetische Variabilität molekular gemessen werden (Kap. 2.2.3).

In vorliegender Arbeit wurde zur Bestimmung der Restriktionslängenpolymorphismen die genomische DNA aus getrockneten Blättern isoliert (Kap. 3.5.1), mit *EcoRI* verdaut, auf einem 0,8%igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt (16h bei 30V, TAE Puffer: 40mM TRISacetat, 20mM Natriumacetat, 2mM EDTA, 18mM NaCl, pH 8) und mit Hilfe einer Southern Transfer Apparatur (Pharmacia) auf eine Nylon Membran transferiert (Biodyne A von Pall). Nach dem Transfer wurde die DNA mit UV-Licht (1,2 J/cm²) auf den Nylonträger fixiert (Saumitou-Laprade et al. 1993, Cuguen et al. 1994, Desplanque et al. 1998, Wehres 2001).

Die Markierung der Zuckerrüben-Sonden (10ng Plasmid-DNA) erfolgte mit Hilfe des „Dig labeling Mix“ (Boehringer Mannheim) und einer Einheit Taq Standard (Perkin Elmer). Die Hälfte der so gewonnenen markierten Sonden wurde für die Hybridisierung über Nacht bei 68°C verwendet. Anschließend wurde die Membran gewaschen und die

Hybridisierungssignale mit der Chemilumineszenz-Methode nach Allefs et al. (1990) detektiert (Desplanque et al. 1998, Wehres 2001).

In früheren Studien (Saumitou-Laprade et al. 1993) erwiesen sich von neun mitochondrialen Sonden zwei als besonders polymorph. Diese zwei Sonden wurden auch in dieser Studie verwendet. Es handelt sich um eine heterologe Sonde von Mais, die ATPase Untereinheit 6 (Dewey et al. 1985) und um eine nicht kodierende mitochondriale Sequenz von Zuckerrüben, pBv4 (Saumitou-Laprade et al. 1993). Die Analyse von Restriktionsfragmentmustern, die mit *EcoRI* erzeugt wurden, führt nach Kombination der von den Sonden abgeleiteten Informationen zu verschiedenen Mitotypen. Weil eine dritte Sonde keine zusätzliche Information mehr gebracht hätte, wurde auf sie verzichtet. Die Mitotypen wurden nach der gleichen Nomenklatur wie bei Cuguen et al. (1994) und Desplanque et al. (2000) benannt (Tab. 8). Anhand der entsprechenden Fragmente, die nach Hybridisierung mit den Sonden sichtbar werden, kann der Mitotyp abgeleitet werden. Können z.B. nach Hybridisierung mit der Sonde pBv4 Fragmente der Größe 3 kb und 3,7 kb sichtbar gemacht werden, kommen theoretisch die Mitotypen A, E und N in Betracht. Die Hybridisierung mit der Sonde Atp6 kann dann weiter darüber Aufschluss geben, um welchen Mitotyp es sich handelt. Wird z.B. ein Fragment von 4 kb sichtbar gemacht, handelt es sich um den Mitotyp A.

Tab. 8: Mögliche Fragmentmuster nach Hybridisierung mit den Sonden Atp6 und pBv4. Die jeweiligen Fragmentgrößen und -muster sowie die daraus resultierenden Mitotypen (A-S, Svulg und Nvulg) sind angegeben.

		Mitotyp	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	Svulg	Nvulg
Sonde	Fragmentgröße in kb																						
Atp6	3						X										X	X	X	X		X	
	4		X	X	X	X			X	X	X	X	X	X							X		X
	3,2							X							X	X	X	X		X			
	2,5																						
pBv4	3								X														
	3; 3,7		X				X								X								
	3; 4,4			X				X		X	X		X	X		X	X			X			
	3; 7,2				X							X											X
	4,4					X							X						X				
	5,1																					X	
	2,6; 4,4																		X				

In früheren Arbeiten, bei der Wild-, Ruderal- und Kulturrüben eines französischen Untersuchungsgebiet analysiert wurden, konnten die Populationen mit Hilfe von Mitotypen

gemäß Tabelle 9 verglichen und insgesamt 14 verschiedene Mitotypen festgestellt werden (Desplanque 1999) .

Tab. 9: Verteilung der mitochondrialen Haplotypen in unterschiedlichen Populationsgruppen nach Desplanque (1999). Untersuchungsgebiet war Südwest-Frankreich. N: Anzahl der untersuchten Populationen. A: Anzahl der unterschiedlichen Mitotypen. H_e : Diversität nach Nei (1987). Ruderalrüben 1: Habitat < 15km zur Küste. Ruderalrüben 2: > 15km zur Küste. Ruderalrüben 3: Umgebung von Agen.

Gruppe	N	A	H_e	Mitotypen														Total
				A	B	D	E	F	G	H	I	O	P	Q	R	Nv	Sv	
Wildrüben Mittelmeer	15	5	0.660	32			9	5							1	34		81
Ruderalrüben 1	9	7	0.736	5				1	4		7		1	1		16		35
Ruderalrüben 2	32	8	0.514				20	30		2	2	1			1	112	1	169
Ruderalrüben 3	23	5	0.431				4	3		10						64	6	86
Wildrüben Atlantik	3	3	0.622		2	6										2		10
Wildrüben Gironde	10	5	0.618	6	26		1			1						14		48
Rote Beete		3														4	1	6
Total	92	13		43	28	6	34	39	4	14	9	1	1	1	2	246	7	439

Der am häufigsten vertretene Mitotyp, der auch durchgängig bei allen Populationsgruppen zu finden war, ist der Mitotyp Nv. Häufig wurden weiterhin die Mitotypen A, B, E und F gefunden. Selten waren die Mitotypen D, G, O, P, Q und R.

3.6 PCR-RFLPs zur Bestimmung von CMS-Markern

Das Owen Cytoplasma (Kap. 2.2.2) männlich steriler Zuckerrüben ist verknüpft mit verschiedenen Änderungen mitochondrialer DNA und einer *HindIII*-Schnittstelle der cpDNA (Saumitou-Laprade et al. 1993). Desplanque et al. (2000) konnten zudem ein strenges Kopplungsgleichgewicht zwischen verschiedenen Chloro- und Mitotypen bei Wildrüben nachweisen. Ran und Michaelis (1995) klonierten und sequenzierten die *HindIII*-Schnittstelle der cpDNA männlich steriler Zuckerrüben und fanden heraus, dass durch den Austausch von Thymin gegen Cytosin an Nucleotid 519 in der Genregion von *petG*, *ycf 7*, *psb E* und *psb F* eine neue *HindIII*-Schnittstelle entstanden ist (Abb. 7). Der gefundene Chlorotyp ist verbunden mit dem Mitotyp Svulg bzw. CMS (Kap. 2.2.2). Mit Hilfe der bekannten Sequenz konnten Primer entwickelt werden, um die Region spezifisch zu amplifizieren. Ein anschließender Verdau mit *HindIII* erbringt den Nachweis, ob die mit

CMS in Verbindung stehende Schnittstelle vorhanden ist oder nicht (PCR-RFLP). Ist die Schnittstelle vorhanden, können zwei Fragmente im Minigel sichtbar gemacht werden.

Die Analyse von Rübenpopulationen auf das Vorhandensein von CMS bietet die Möglichkeit, in einem ersten Schritt zu kontrollieren, ob es sich bei den Populationen um wilde Vorkommen handelt oder ob es durch Samenverdriftung aus Kulturrübenfeldern in Wildrübenhabitats zu Genfluss gekommen ist.

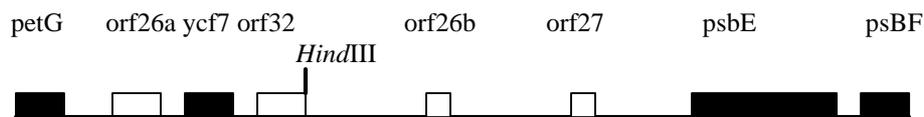


Abb. 7: Karte der sequenzierten cpDNA-Region. Schwarze Kästchen zeigen kodierende Regionen an. Die Lage der polymorphen *HindIII*-Schnittstelle ist eingezeichnet (Ran und Michaelis 1995).

Für die PCR-RFLP wurde ein modifiziertes Protokoll von Ran und Michaelis (1995) angewendet. Synthetisierte Primer waren: upstream 5' CAG TTA CAA ATA ATC CAG 3'; downstream 5' CAC GAT ATG TGT AGA TG 3'. Das Reaktionsvolumen betrug 15 µl und setzte sich zusammen aus 1x Reaktionspuffer [10x: 750mM TRIS/HCl pH 9,0; 200mM (NH₄)₂SO₄; 0,1% (w/v) Tween), 1% BSA (Bovine Serum Albumine, Appligene), 3,5mM MgCl₂, 100µM dNTP's, 2pmol/µl Primer, ca. 40ng DNA und einer halben Einheit Taq-Polymerase pro 25µl (Eurogentec Company). Für die Amplifikation wurde ein Perkin Elmer Thermocycler verwendet. 32 Zyklen wurden durchlaufen, jeder bestehend aus 45 Sekunden bei 92°C für die Denaturierung, 45 Sekunden bei 43°C für die Anlagerung und zwei Minuten bei 72°C für die Synthesephase. Vor der abschließenden Kühlung gab es eine letzte 10 minütige „fill in“ Stufe bei 72°C.

Nach Amplifikation wurden 5 µl des Ansatzes auf einem 1,2%igem Agarose-Minigel (gepuffert mit 1x TBE) aufgetragen, um die PCR zu überprüfen. Anschließend wurden weitere 5 µl des Ansatzes mit 0,5 µl *HindIII* (5U, Boehringer Mannheim), 1 µl Spermidine und 1 µl Enzympuffer B (1x, Boehringer Mannheim) versetzt und bei 37°C 2h30 lang verdaut. Anschließend wurde der Verdau ebenfalls auf ein 1,2%iges Minigel (gepuffert mit 1x TBE) aufgetragen und nach der Elektrophorese (45 Minuten bei 80 V) fotografiert. Die Visualisierung erfolgte mit Hilfe von Ethidiumbromid. Als Größenmarker wurde ein 100kb Marker (Promega) verwendet.

4. Ergebnisse

4.1 Erfassung des Verbreitungsgebietes

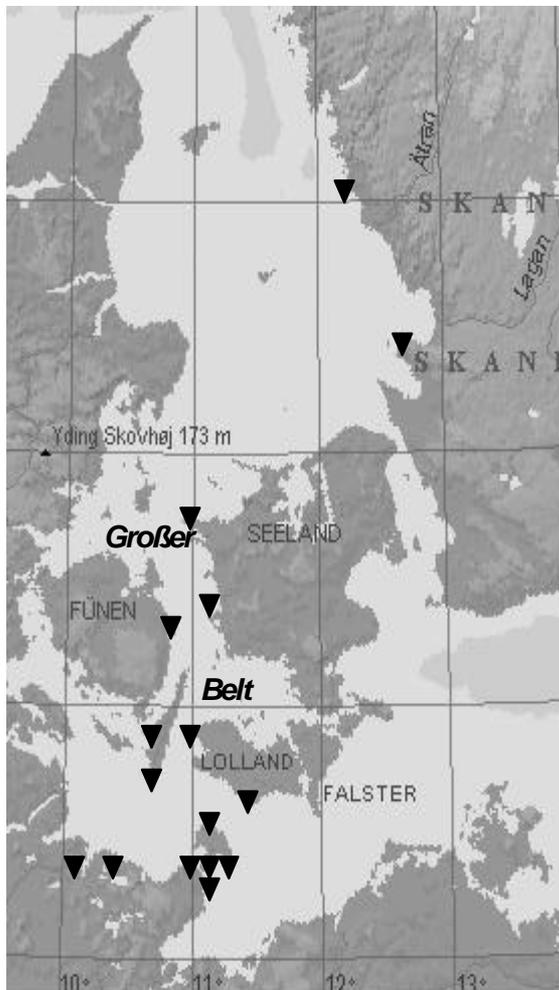


Abb. 8: Übersicht über die untersuchten Rübenfundorte (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.).

Abbildung 8 bietet einen Überblick über das Untersuchungsgebiet und einige Standorte der gefundenen Populationen (Dreiecke). Abbildung 9 zeigt die Standorte speziell an der deutschen Ostseeküste, die in Abbildung 8 aufgrund der örtlichen Häufung nicht alle abgebildet werden konnten. *B. vulgaris* subsp. *maritima* konnte im Zeitraum von 1997 bis 2001 an 17 verschiedenen Standorten der deutschen Ostseeküste gefunden werden. Populationen von 13 Standorten wurden in die molekularen Analysen mit einbezogen. Zusätzlich wurden acht repräsentative dänische und zwei schwedische Populationen untersucht. Acht der deutschen Standorte befinden sich auf der ostholsteinischen Insel Fehmarn, fünf weitere in unmittelbarer Nähe der Insel (<20km). Die genaue Lage der Fundorte inklusive der Angaben zu Längen- und Breitengraden befindet sich in Tabelle 2. Angaben zur

Habitatgröße und zur Größe der Populationen selbst sind in Tabelle 10 aufgelistet. Maximal wurden 23 Populationen in die Untersuchungen mit einbezogen. Die Anzahl der Individuen pro Fundort reicht von einer Pflanze bis zu ca. 1000 Exemplaren. Der Probenumfang gibt die Anzahl der beprobten Mutterpflanzen an, auf deren Basis die weiteren Untersuchungen durchgeführt worden sind.



Abb. 9: Übersicht über die Fundorte von *B. vulgaris* subsp. *maritima* an der deutschen Ostseeküste (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.). Die Angabe der Jahreszahl zeigt den Erstfund.

Tabelle 11 bietet einen Überblick über die Anzahl der Individuen an den einzelnen deutschen Standorten sowie deren Entwicklung im Beobachtungszeitraum. 1997 waren lediglich fünf Standorte bekannt, 1999 waren es 15 und 2001 16. Insgesamt konnten, mit Ausnahme des Standortes Schmoel, bei allen Standorten zu den jeweiligen Untersuchungsterminen Wildrüben gefunden werden.

Tab. 10: Übersicht über die Anzahl der Individuen im gesamten Habitat (1999), den Stichprobenumfang sowie die Größe des Habitats (Abkürzungen siehe Tab. 2).

Population	Anzahl v. Individuen, 1999	Probenumfang	Habitatgröße / m ²
GE-1	40	21	1000-2000
GE-2	100	26	1000
GE-3	5	5	3000-4000
GE-4	100	16	2000-3000
GE-5	4	4	3000-4000
GE-6	50-100	25	3000-4000
GE-7	15-20	11	2000
GE-8	30-40	>30	1000
GE-9	50	20	3000-4000
GE-10	>50	20	500
GE-11	>150	30	>10000
GE-12	15-20	13	1000-2000
GE-13	5	5	>10000
DK-1	200-400	17	500
DK-2	>50	12	1000
DK-3	ca. 100	25	1000
DK-4	>100	30	1000
DK-5	4	4	>100
DK-6	30-40	20	500
DK-7	ca. 1000	25	2000-3000
DK-8	ca. 200	30	2000-3000
S-1	n.d.	3	n.d
S-2	ca. 200	20	3000

Das Fortbestehen der Fundorte konnte somit für alle Jahre bestätigt werden. Die Populationsgrößen blieben dabei annähernd gleich. Die Individuenzahl am Standort GE-1 (Burger Binnensee) nahm von ca. 20 im Jahr 1997 auf mehr als 70 im Jahr 2001 zu. Die Population am Standort Puttgarden (GE-5) expandierte von einer Pflanze auf 11. Aufgrund von deutlich erkennbarer Deichsäuberung konnten am Standort Burgtiefe (GE-2) im Jahr 2001 nur noch ca. 20 Individuen gezählt werden. 1999 waren es ungefähr 100. Darüber hinaus konnte 2001 ein blühendes Exemplar von *B. vulgaris* subsp. *maritima* an der Mecklenburgischen Küste auf der Vogelinsel Langenwerder festgestellt werden (Russov 2002).

Tab. 11: Entwicklung der Populationsgrößen im Beobachtungszeitraum (1997 (Driessen 1999) -2001), Abkürzungen der Populationen, siehe Tab. 2, S. 16; n.d. = nicht detektiert.

Nr.	Population	Lage	Anzahl v. Individ./1997	1999	2001
1	GE-1	Burger Binnensee	20	40	>70
2	GE-2	Burgtiefe	35	100	17
3	GE-3	Großenbroderfähre	2	5	5
4	GE-4	Wulfener Hals	4	100	20
5	GE-5	Puttgarden	1	4	11
6	GE-6	Fehmarnsund - Insel	n.d.	50-100	>100
7	GE-7	Fastensee	n.d.	15-20	7
8	GE-8	Salzensee	n.d.	30-40	>30
9	GE-9	Wulfen - Binnensee	n.d.	50	35
10	GE-10	Steinwarder Ufer	n.d.	>50	ca. 35
11	GE-11	Dazendorf	n.d.	>150	>200
12	GE-12	Fehmarnsund - Festland	n.d.	15-20	21
13	GE-13	Großenbrode	n.d.	5	5
14	GE-14	Schmoel	n.d.	1	0
15	GE-15	Strande	n.d.	1	1
16	GE-16	Grasswarder Ufer	n.d.	n.d.	1

Alle Meeresfundorte befinden sich im mesohalinen Bereich der Spülsäume, meist an steinigen Deichen, oft in der Nähe zu Häfen mit nur karger Begleitvegetation und nährstoffreichem Spülgut. Alle Rüben hatten eine für *B. vulgaris* subsp. *maritima* typische plagiotrope Wuchsform (Abb. 10, Kap. 2.1.2). Die Höhe der Meeresfundorte lag zwischen einem und ca. fünf Metern über NN. Der Boden, soweit zwischen den Steinen vorhanden, hatte teilweise einen hohen organischen Anteil.



Abb. 10: Typische plagiotrope Wuchsform einer Wildrübe, hier am Standort GE-1.

Neben der Kartierung wilder Vorkommen von *B. vulgaris* subsp. *maritima* wurden im Jahr 2001 auf der ostholsteinischen Insel Fehmarn, im Abstand von bis zu 2 km von den Standorten der Wildvorkommen entfernt, auch Zuckerrübenfelder aufgesucht. Damit sollte belegt werden, dass Zuckerrübenfelder bzw. blühende Kulturrüben in der Nähe der Standorte von Wildrüben existieren und Genfluss zwischen Kultur- und Wildrüben in Deutschland somit möglich ist. Insgesamt konnten fünf verschiedene Felder mit blühenden Rüben gefunden werden. Die Größe der Felder und die Anzahl der auf diesen blühenden Rüben sowie deren Abstand zu den Vorkommen von *B. vulgaris* subsp. *maritima* konnte lediglich abgeschätzt werden. Angaben dazu befinden sich in Tabelle 12.

Tab. 12: Übersicht über kartierte Zuckerrübenfelder in der Nähe zu Wildrüben-Vorkommen auf Fehmarn. Die Größe des Feldes, die geschätzte Anzahl blühender Rüben/ha und der ungefähre Abstand zu den natürlichen Habitaten ist angegeben.

Feld Nr.	Größe des Feldes / ha	Geschätzte Anzahl blühender Rüben pro Hektar	Ungefäher Abstand zu Vorkommen von <i>B. vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i>
1	ca. 10	200	600-800 m
2	ca. 5-6	20	1 km
3	ca. 4	10	600-800 m
4	ca. 5-6	50	1 km
5	ca. 6	50	1 km

Die Lage der Felder ist den Karten in Abbildung 11 zu entnehmen. Das Vorkommen von Wildrüben ist mit Symbolen (Dreiecke) eingezeichnet. An allen übrigen Standorten auf Fehmarn konnten im Jahr 2001 bis zu einem Abstand von ca. zwei Kilometern keine Zuckerrübenfelder gefunden werden.

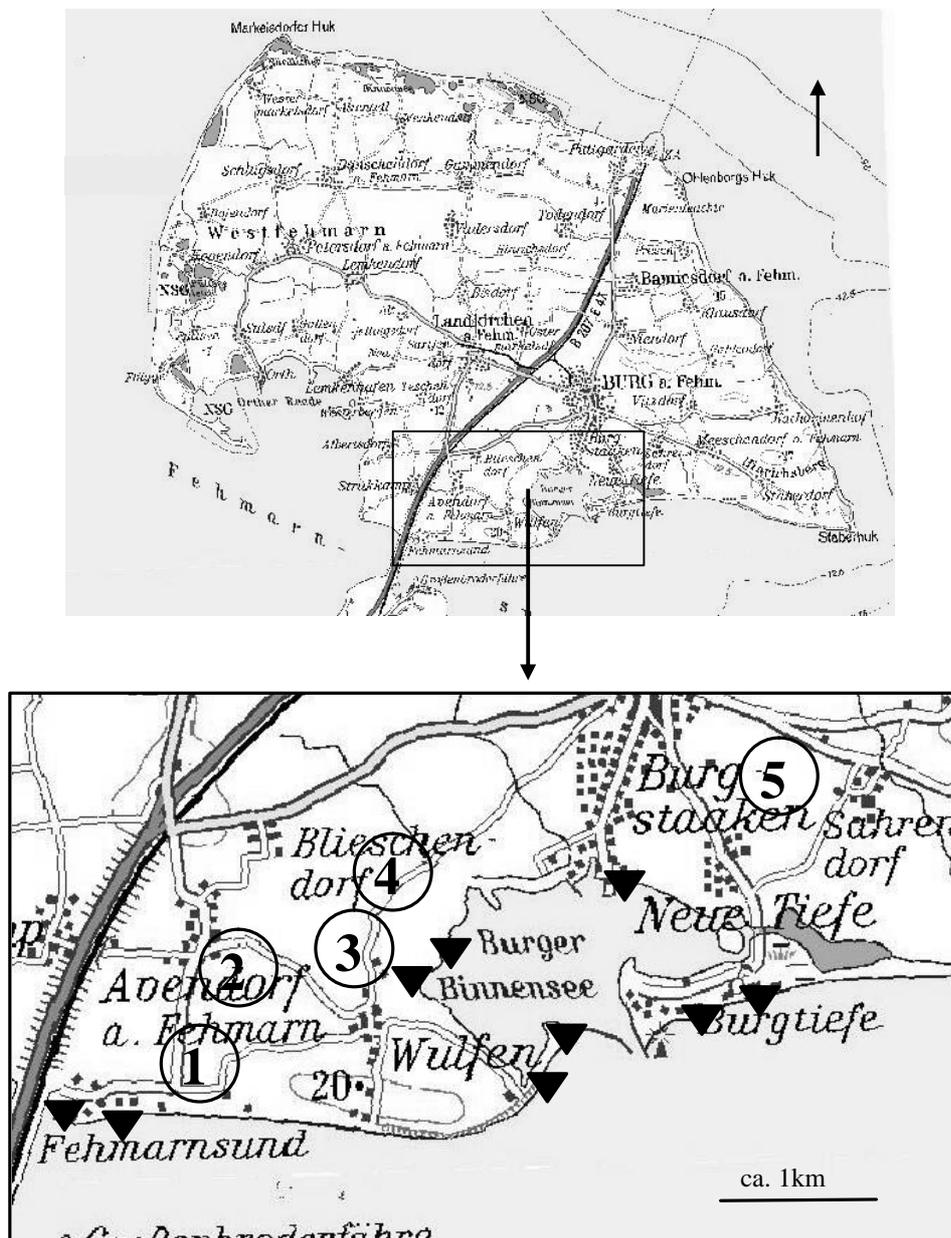


Abb. 11: Zuckerrübenfelder (1-5) auf Fehmarn in der Nähe zu Standorten von Wildrüben (Dreiecke).

Karten: ATKIS[®] DTK200-V, © Bundesamt für Kartographie und Geodäsie 2004 (<http://www.bkg.bund.de>).

4.2 Berechnung der klimatischen Winterhärte

Insgesamt wurden die vom Deutschen Wetterdienst übermittelten Temperaturdaten von sieben deutschen, vier dänischen und fünf schwedischen Wetterstationen im Bereich des Untersuchungsgebietes sowie des näheren Umkreises von maximal 200 bis 300 km ausgewertet. Die Stationen liegen überwiegend direkt an der Küste und in der Nähe der tatsächlichen Standorte. Auf eine bestmögliche Verteilung über das Gebiet wurde geachtet. Einen Überblick über die Lage der Stationen bietet Abbildung 12.

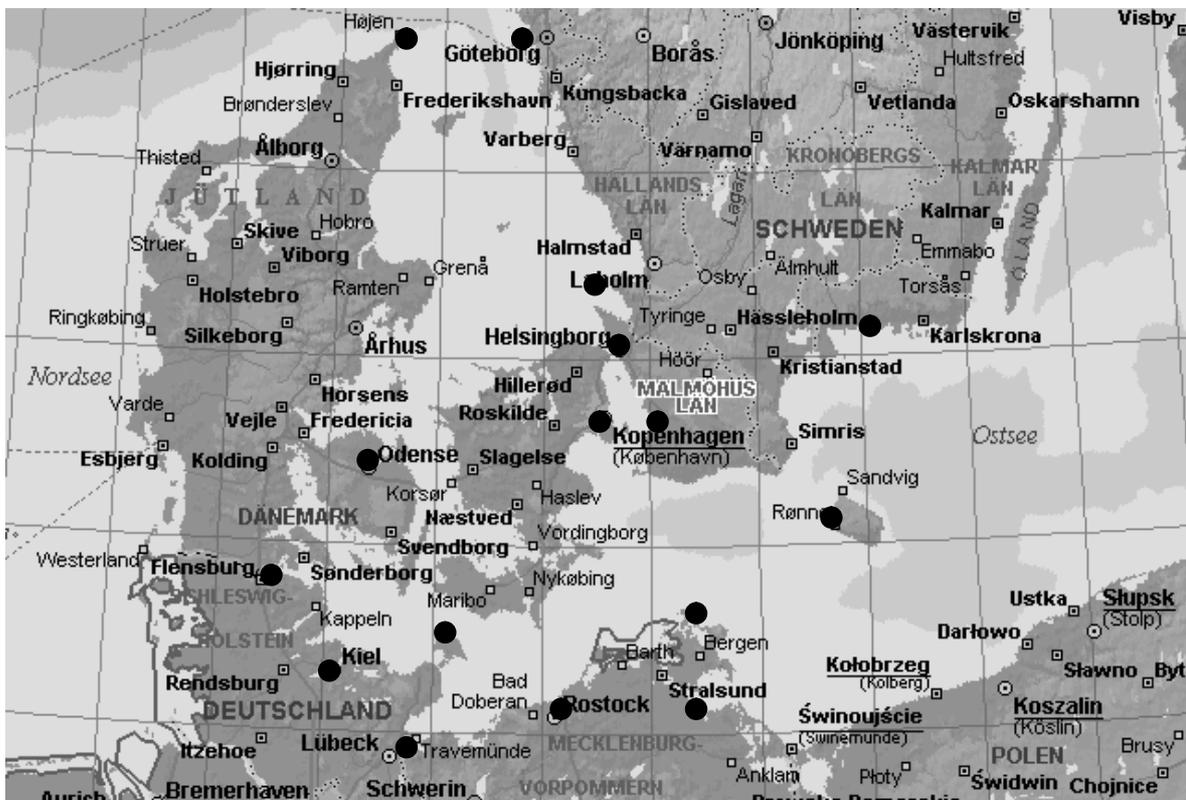


Abb. 12: Lage der Wetterstationen (schwarze Punkte) im Untersuchungsgebiet (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.).

Von acht Stationen lagen komplette Datensätze über einen Zeitraum von mindestens 20 Jahren vor. Von drei Stationen waren lediglich Daten für einen Zeitraum von fünf Jahren vorhanden. Die Meßdaten der restlichen Stationen belaufen sich auf Zeiträume zwischen 10 und 20 Jahren. Bei einigen Stationen fehlen die Temperatureangaben mehrerer Jahre. Die geographische Lage der Stationen und die jeweiligen vom Deutschen Wetterdienst (DWD) verwendeten Kennziffern sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Die Entwicklung der Winterhärte (Kap. 3.2) im Verlauf der Jahre ist in den Abbildungen 13 bis 15 dargestellt. Dabei wurden für die Auswertung und zur besseren Darstellung mehrere Stationen ähnlicher Breitengrade in einer Abbildung zusammengefasst: Stationen, deren Lage sich zwischen dem Breitengrad $53^{\circ}5'N$ und $54^{\circ}5'N$ befindet (Abb. 13), Stationen, zwischen dem Breitengrad $54^{\circ}6'N$ und $55^{\circ}5'N$ (Abb. 14) sowie solche, die sich über dem Breitengrad $55^{\circ}6'N$ befinden (Abb. 15).

Die zusammengefassten Stationen zwischen dem Breitengrad $53^{\circ}5'N$ und $54^{\circ}5'N$ (Abb. 13) haben alle einen ähnlichen Kurvenverlauf. Es gibt Stationen, die durchgängig höhere Werte aufweisen und solche, die durchgängig geringere Temperatursummen aufweisen, d.h. durch vergleichsweise mildere Winter geprägt sind. Zwar fehlen im Zeitraum von 1975 bis 1991 für vier der Stationen die Temperatursummen, da die Kurven jedoch über die übrigen Zeiträume alle ähnlich verlaufen, ist es naheliegend, dass dies auch zwischen 1975 und 1991 der Fall gewesen wäre. Eher mildere Winter zeichnen die Stationen GE-B (Kiel), GE-C (Westermakelsdorf), GE-F (Arkona) und GE-E (Rostock) aus. Tiefere Temperaturen herrschen dagegen an den Standorten der Stationen GE-G (Greifswald) und GE-D (Lübeck), wobei GE-D nicht direkt an der Ostsee, sondern im Binnenland liegt und GE-G die Station ist, die in diesem Vergleich am östlichsten gelegen ist.

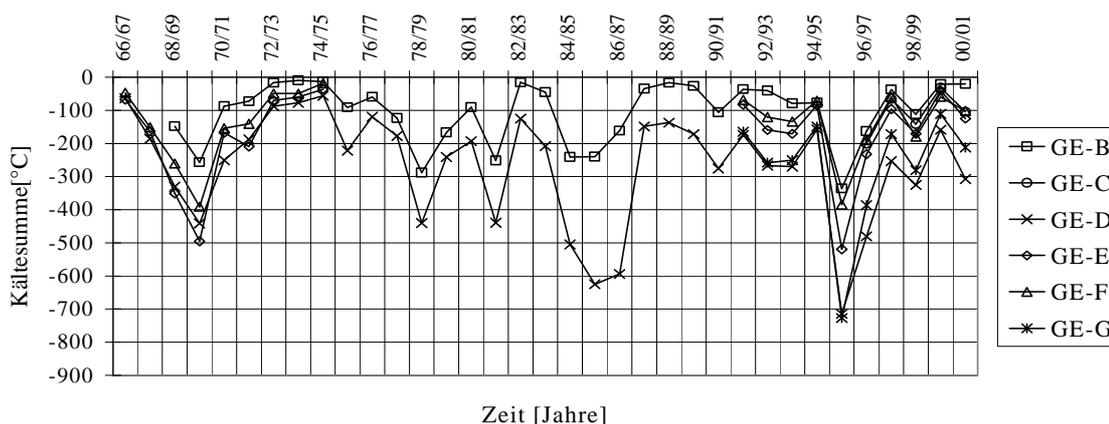


Abb. 12: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen zwischen dem Breitengrad $53^{\circ}5'N$ und $54^{\circ}5'N$ (Erläuterungen zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).

Die Kältesumme aus den Tagestiefsttemperaturen ergab bei der Auftragung über die Zeit bei einer linearen Regressionsanalyse (Daten nicht gezeigt) zwar bei fast allen Standorten einen geringen Anstieg (=mildere Winter im Verlauf der Zeit), allerdings mit einer geringen Korrelation ($r < 0,5$). Lediglich am Standort GE-C konnte eine mäßige Korrelation festgestellt werden ($y = 22,4x - 848,2$ mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,54$).

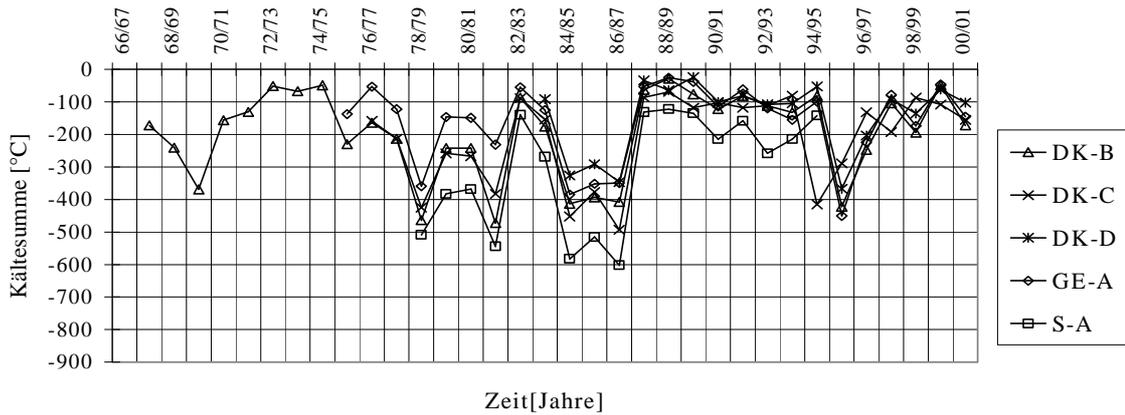


Abb. 14: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen zwischen dem Breitengrad 54°6'N und 55°5'N (Erläuterung zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).

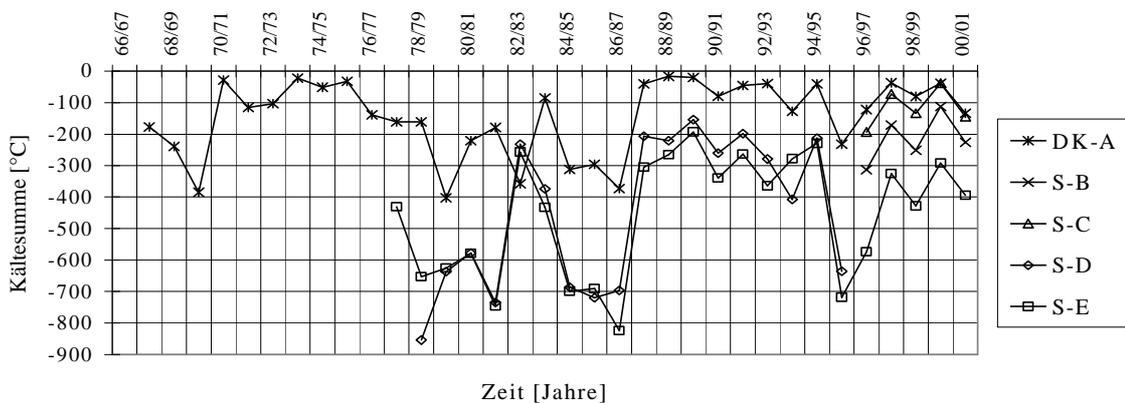


Abb. 15: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen über dem Breitengrad 56°6'N (Erläuterungen zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).

Auch die Stationen zwischen dem Breitengrad 54°6'N und 55°5'N (Abb. 14) zeigen alle einen ähnlichen Kurvenverlauf. Auch hier gibt es Stationen, die durchgängig größere Temperatursummen aufweisen und solche, die sich durch geringere Werte auszeichnen, d.h. durch mildere Winter ausgeprägt sind. Eher mildere Winter zeichnen die Stationen GE-A (Glücksburg) und DK-D (Rønne) aus. Tiefere Temperaturen herrschen dagegen an den Standorten der Stationen DK-C (Kopenhagen), DK-B (Odense) und S-A (Malmö), wobei DK-B nicht direkt an der Ostsee, sondern im Binnenland liegt. Die Kältesumme aus den Tagestiefsttemperaturen ergab bei der Auftragung über die Zeit bei einer linearen Regressionsanalyse (Daten nicht gezeigt) zwar bei fast allen Standorten einen geringen Anstieg (=mildere Winter im Verlauf der Zeit), allerdings mit einer geringen Korrelation ($r < 0,5$). Lediglich am Standort S-A konnte eine mäßige Korrelation festgestellt werden ($y = 19,87x - 728,18$ mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,56$).

Weniger einheitlich ist der Kurvenverlauf der Stationen, die nördlich des Breitengrads 55°6'N zusammengefasst sind (Abb. 15), zumindest in dem Zeitraum zwischen 1977 und 1984. Allerdings sind in dieser Abbildung, im Gegensatz zu den Abbildungen 13 und 14, auch Stationen von mehr als nur einem Breitengrad zusammengefasst. Ab dem Winter 1983/84 verlaufen die Kurven aller Stationen wieder ähnlich. Nördlicher gelegene Stationen zeichnen sich durch Winter mit höheren Temperatursummen aus.

Wie aus den Abbildungen ersichtlich ist, gab es bei allen Stationen im Zeitraum, für den Meßdaten vorlagen, Jahre mit verhältnismäßig kühlen Wintern und solche mit eher milderen Wintern. In der Zeit von 1984/85 bis 1986/87 waren relativ gesehen zum gesamten Zeitraum bei allen Meßpunkten die Winter am härtesten (Summen aller Tagestiefsttemperaturen zwischen -161°C und -720°C). Sehr milde Winter gab es zwischen 1972/73 und 1974/75 (-13°C bis -104°C) sowie zwischen 1987/88 und 1989/90 (-17°C bis -305°C). Wird der Verlauf der negativen Temperatursummen im Laufe der letzten 20 Jahre und somit über einen Zeitraum betrachtet, für den die meisten Daten vorliegen, kann man feststellen, dass ab 1987/88 mit Ausnahme des Winters 95/96 verhältnismäßig milde Winter vorherrschend waren im Vergleich zum Zeitraum davor.

Obwohl die zusammengefassten Stationen in Abbildung 14 bis zu einem Breitengrad nördlicher liegen als die Stationen aus Abbildung 13, zeichnen sie sich nicht durch kältere Winter aus. Insbesondere seit 1987/88 liegt die Summe aller negativen

Tagestiefsttemperaturen mit durchschnittlich -145°C deutlich unter denen der weiter südlich gelegenen Stationen (-173°C). Bei dem seit 1987/88 kältesten Winter im Jahr 1995/96 konnten zum Beispiel für Stationen zwischen dem Breitengrad $54^{\circ}6'\text{N}$ und $55^{\circ}5'\text{N}$ Werte zwischen -289°C bis -450°C berechnet werden. Für südlicher gelegene Stationen belaufen sich die Werte auf zwischen -336°C und -727°C . Dieser Trend findet sich auch in Jahren mit milderen Wintern wieder. Zum Beispiel weisen die Station aus Abbildung 14 in den letzten Jahren (1996/97 bis 2000/01) Temperatursummen zwischen -46°C und -247°C auf. Die Summen der Stationen aus Abbildung 13 dagegen liegen mit bis zu -481°C wieder deutlich über diesen Werten.

Weiter westlich gelegene Stationen weisen, auch wenn sie nördlicher liegen, tendenziell weniger kalte Temperaturen auf als weiter östlich gelegene. Dies manifestiert sich bei den Stationen der Standorte GE-B, GE-A und DK-A als Beispiele für westlich gelegene Stationen mit milderen Wintern und bei den Stationen GE-G und S-E als Beispiele für östlich gelegene Stationen mit vergleichsweise höheren Temperatursummen (vgl. auch Temperaturverlauf in den jeweiligen Abb. 13 und 15).

4.3 Bonitur pflanzenphysiologischer Merkmale

4.3.1 Untersuchung des Generationszyklus

a) im Freiland

Zur Überprüfung der Schoss- und Blütrate wurden 196 Rüben von sieben verschiedenen Standorten im Gewächshaus ausgesät und anschließend ins Freiland gepflanzt. Am 4. August wurde bei 163 Pflanzen die Schoss- und Blütrate bestimmt (Tab. 3). 33 Pflanzen hatten vermutlich aufgrund von Wühlmausfraß nicht überlebt.

Die Nachkommen der Rüben vom Standort Helgoland und vom dänischen Standort Tars (DK-5) haben weder geblüht noch Schossertriebe ausgebildet. Alle anderen Nachkommen bildeten zumindest Schossertriebe. Unterschiedlich viele Nachkommen der Rüben vom Standort Burgtiefe (GE-2), Wulfener Hals (GE-4), Bagenkop (DK-1) und Rodbyhavn (DK-3) haben geblüht.

Tab. 13: Überblick über die Anzahl schossender und blühender Rüben im Freiland.

Standort	Anzahl	Schossend, aber nicht blühend (in Prozent)	Blühend (Prozent)	Weder schossend noch blühend (in Prozent)
GE-2	26	16 (62%)	10 (38%)	0
GE-4	12	7 (58%)	1 (8%)	4 (33%)
DK-1	19	9 (47%)	10 (53%)	0
DK-3	26	12 (46%)	12 (46%)	2 (8%)
DK-4	27	18 (67%)	0	9 (33%)
DK-5	23	0	0	23 (100%)
Helgoland	30	0	0	30 (100%)
Summe	163	62 (38%)	33 (20%)	68 (42%)

Der Temperaturverlauf vom 21. Mai bis Ende Juli ist Abbildung 16 zu entnehmen. Dabei gibt die obere Kurve den täglichen Mittelwert an, die untere Kurve beschreibt den Verlauf der täglichen Tiefsttemperaturen. An keinem Tag war die Temperatur unter dem Gefrierpunkt. Die tiefste Temperatur betrug im Untersuchungszeitraum 4°C.

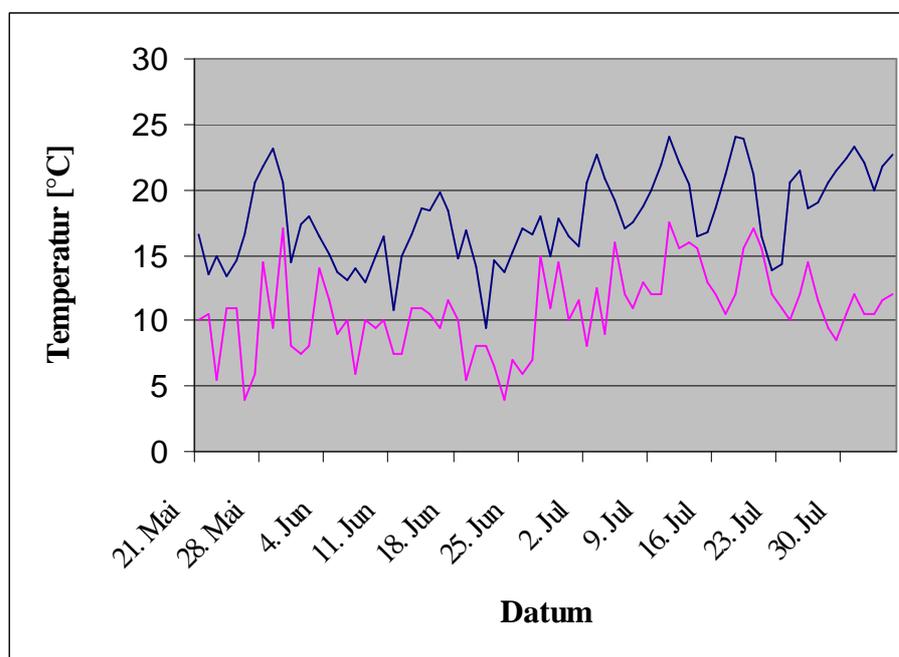


Abb. 16: Temperaturverlauf von Mai 1999 bis Ende Juli 1999. Obere Kurve: Mittelwert der täglichen Temperaturen, untere Kurve: Tagestiefsttemperaturen.

b) im Gewächshaus

361 Pflanzen von 19 verschiedenen Standorten (ca. 20 Pflanzen pro Standort) sowie zehn Kontrollpflanzen mit dem Genotyp *BB* wurden im Gewächshaus angezogen (vgl. Tab. 2). Die Kontrollpflanzen hatten nach sechs Wochen (Ende Mai) geblüht. Alle anderen Pflanzen hatten bis Ende August weder Schossertriebe gezeigt noch geblüht. Sie wurden somit als nicht schossend eingestuft.

4.3.2 Untersuchung der Überwinterungsfähigkeit

Zur Überprüfung der Überwinterungsfähigkeit wurden im Sommer 1998 exemplarisch 144 Rüben, darunter fünf Nachkommen einer Schosserrübe und zwölf Nachkommen einer Ruderalrübe ins Freiland gepflanzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt. 100 Exemplare und somit 70% aller ausgepflanzten Rüben konnten im Mai wieder registriert werden. Betrachtet man nur die baltischen Populationen, ergibt sich eine Überlebensrate von 73%. Einige Rüben hatten vermutlich nicht nur aufgrund der Kälte nicht überlebt, sondern auch aufgrund der vorhandenen Wühlmäuse. Deutliche Fraßschäden waren erkennbar. Insgesamt betrug die Überlebensrate ca. 70% (Tab. 14).

Tab. 14: Anzahl ausgepflanzter und überlebter Rüben im Überwinterungsversuch (Erläuterungen zu den Abkürzungen siehe Tab. 2).

Standort	Anzahl ausgepflanzter Rüben	Anzahl überlebter Rüben	Prozent
GE-2	7	7	100%
GE-3	14	8	57%
GE-4	14	11	79%
GE-5	6	5	83%
DK-1	14	8	57%
DK-2	16	12	75%
DK-3	20	17	85%
DK-4	14	13	93%
DK-5	16	7	44%
Helgoland	6	6	100%
Schosserrübe	5	0	0%
Ruderalrübe	12	6	50%
Summe	144	100	70%

In der gesamten Zeitspanne gab es an 59 Tagen Frost, die Summe aller täglichen Temperaturen unter null Grad betrug -198°C . Der Verlauf der täglichen Tiefsttemperaturen im Untersuchungszeitraum ist in Abbildung 17 dargestellt. Die Kältesumme (Summe aller negativen Tagesdurchschnittstemperaturen) betrug $-70,88^{\circ}\text{C}$.

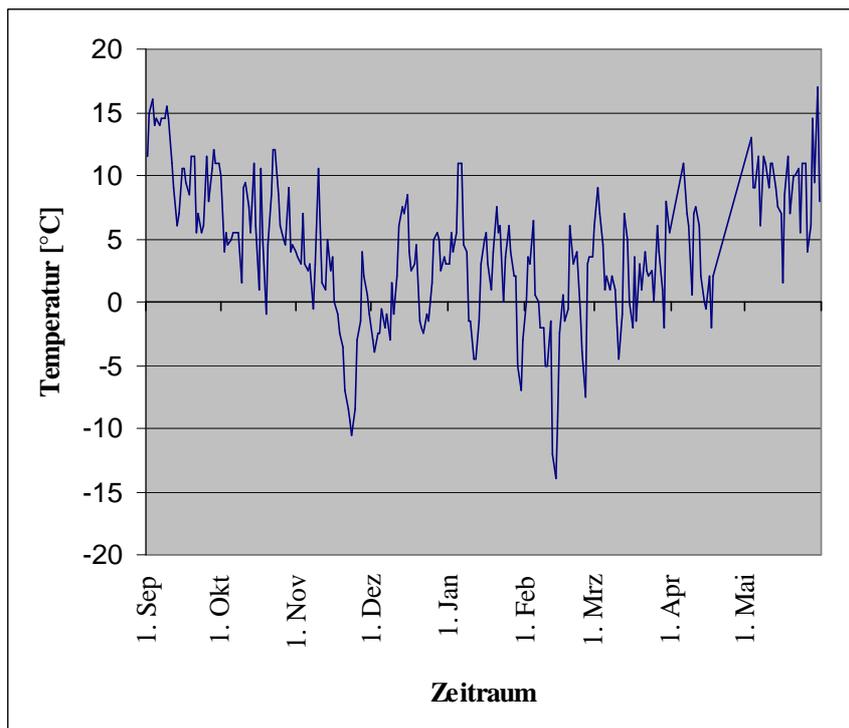


Abb. 17: Verlauf der gemessenen Tiefsttemperaturen im Untersuchungszeitraum (September 1998 bis Mai 1999).

4.4 AFLP-Marker zur Prüfung auf Gen B

Die Prüfung auf das Vorhandensein molekularer Marker, die eng gekoppelt mit dem Bolting-Gen *B* sind, erfolgte für 15 verschiedene Populationen. Pro Population wurden 10 verschiedene Individuen untersucht. Die DNA wurde aus Blattmaterial von Pflanzen gewonnen, die im Gewächshaus angezogen wurden. Da Samenmischproben verwendet wurden, kann es sein, dass mehrere Individuen die gleiche Mutterpflanze haben.

Die Auswertung der Banden fand visuell über einen optischen Vergleich statt. Alle Individuen zeigten eine Bande bei 162bp, weitere 45 Individuen 14 unterschiedlicher Populationen zeigten zudem eine Bande bei 159bp (Tab. 5). Alle Individuen tragen somit den molekularen Marker P05_b162 (vgl. Abb. 5 und 6) für das rezessive Gen *b*. Bei ca. einem Drittel von ihnen taucht ebenfalls der bei El-Mezaway (2002) beschriebene molekulare Marker bei 159bp (P05_B159, Abb. 5) auf. Es ist deshalb davon auszugehen, dass hier zusätzlich das Gen *B* in seiner dominanten Form vorkommt.

Tab. 16: Überblick über die Anzahl untersuchter Individuen auf AFLP-Marker, die gekoppelt sind mit dem B-Gen. Die Anzahl von Individuen, die den Marker P05_B159 tragen, ist angegeben (Abkürzungen siehe Tab. 2).

Population	Anzahl untersuchter Individuen	Anzahl Individuen mit P05_159	Prozent
GE-1	10	8	80 %
GE-2	10	3	30 %
GE-3	10	2	20 %
GE-4	10	4	40 %
GE-6	10	3	30 %
GE-8	10	3	30 %
GE-10	10	5	50 %
GE-11	10	4	40 %
GE-13	10	1	10 %
DK-1	10	6	60 %
DK-3	10	2	20 %
DK-4	10	1	10 %
DK-6	10	0	
DK-7	10	2	20 %
DK-8	10	1	10 %
Summe	150	45	30 %

Abbildung 18 zeigt das Fragmentmuster individueller Individuen verschiedener Populationen mit der Primer-Kombination P05. Alle Individuen zeigen das Fragment b162. Zusätzlich zeigen fünf Individuen vom Standort GE-10 (Steinwarder Ufer), zwei Individuen vom Standort GE-3 (Großenbroderfähre), ein Individuum vom Standort DK-8 (Kørsør) und zwei Individuen vom Standort DK-7 (Kalundborg, in Abb. 18 aufgrund des schwachen Signals nicht sichtbar) eine Bande bei 159 bp. Beide Fragmente sind streng gekoppelt mit dem B-Gen (El Mezavy et al. 2002). Das Ergebnis für den Standort GE-7 (Fastensee) konnte nicht reproduziert werden und wurde in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

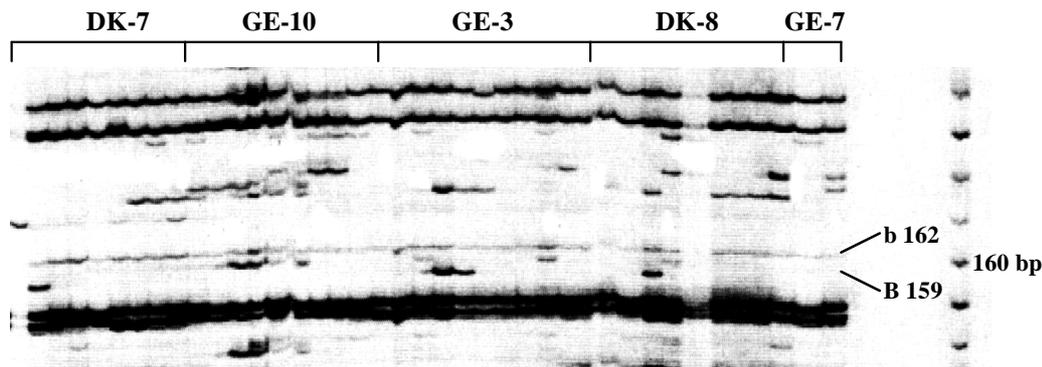


Abb. 18: AFLPs individueller Pflanzen verschiedener Populationen mit der Primer-Kombination P05. In der rechten Spur befindet sich der Längenmarker. Die Lage der Fragmente b162 und B159 ist eingezeichnet.

4.5 Bestimmung der genetischen Diversität

4.5.1 RAPD-PCR

Für die RAPD-Analyse wurden die Fragmentmuster von insgesamt 23 Population à 10 Individuen aus ganz Europa inklusive verschiedener Unkrautrübenpopulationen und Kulturrübensorten ausgewertet. Die Auswertung der Fragmentmuster fand über einen optischen Vergleich statt. Hierbei wurden 78 Fragmente in der Auswertung berücksichtigt. Über den direkten Vergleich ließ sich eine 0/1-Matrix erstellen. Je nach Primer schwankte die Anzahl der amplifizierten Banden zwischen 5 (Deca 28) und 17 (Deca 2). Die Rüben aus dem Ostseeraum verfügen über keine spezifischen Banden. Dagegen sind typische Banden, die bei allen anderen untersuchten Rüben vorkommen, bei diesen nicht oder nur vereinzelt zu finden.

Zur Abschätzung der genetischen Ähnlichkeit der Populationen gilt das Verhältnis der monomorph zu polymorph auftretenden Banden als wichtiger Parameter. Monomorphe Banden sind solche, die durchgängig bei allen Pflanzen auftreten. Polymorphe hingegen sind nicht bei allen Individuen jeder Population zu finden. Einen Überblick über die Anzahl polymorpher Banden, der berechneten Polymorphiegrade und des Shannon's Index bietet Tabelle 16. Der Polymorphiegrad ist bei der Population vom portugiesischen Standort und vom Standort Fusina (Italien) mit 34,6 % am höchsten und bei der Population vom deutschen Standort Puttgarden (GE-5) mit 6,4 % am geringsten.

Tab. 17: Überblick über die Anzahl polymorpher Banden, den Polymorphiegrad und den Shannon-Index bei den untersuchten Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).

Population	Anzahl polymorpher Banden	Polymorphiegrad in Prozent	Shannon's Index
Bianca	21	26,9	0,133
Gabriella	19	24,4	0,132
Dora	15	19,2	0,116
San Pietro	21	26,9	0,164
Calcore	26	33,3	0,197
Appolinare	26	33,3	0,196
Warden 61	18	23,1	0,138
Warden 58	16	20,5	0,115
Albarella	17	21,8	0,124
Fusina	27	34,6	0,159
Griechenland	19	24,4	0,127
Portugal	27	34,6	0,182
Frankreich	15	19,2	0,107
Irland	15	19,2	0,098
Helgoland	14	17,9	0,191
GE-4	13	16,7	0,088
GE-1	13	16,7	0,081
GE-2	17	21,8	0,132
GE-3	19	24,4	0,126
GE-5	5	6,4	0,038
DK-3	15	19,2	0,164
DK-4	17	21,8	0,107
DK-2	15	19,2	0,098
Mittelwert	18	22,9	0,131

Im Mittel liegt der Polymorphiegrad bei 22,85%, der Shannon-Index bei 0,131. Durch den Shannon Index wird bestätigt, dass am Standort Puttgarden die Population mit der geringsten genetischen Diversität zu finden ist. Die höchsten Werte werden aber mit 0,197 und 0,196 für die Unkrautrübenpopulationen von Calcore und Appolinare erreicht.

Die baltischen Wildrüben haben einen tendenziell geringeren durchschnittlichen Polymorphiegrad (18,28%, SEM=1,94) und Shannon Index (0.104, SEM 0.013) als die übrigen untersuchten Wild- (Polymorphiegrad 24,53%, SEM=2,72. Shannon Index 0.14, SEM=0.014), Unkraut- (Polymorphiegrad 27,42%, SEM=2,61. Shannon Index 0.162, SEM=0.016), und Kulturrüben (Polymorphiegrad 23,5%, SEM=2,23. Shannon Index 0.127, SEM=0.006). Allerdings sind die Unterschiede dieser Mittelwerte nach einer Varianzanalyse nicht signifikant (One Way, Polymorphiegrad: $P=0,075$; Shannon-Index: $P=0,053$).

Mit Hilfe der Distanzmatrix konnten die genetischen Distanzen (Nei und Li 1979) aller möglichen Populationspaare ermittelt werden (Kap. 3.5.2). Zusätzlich wurden die jeweiligen Standartabweichungen berechnet. Die durchschnittlichen Distanzen bzw. der Mittelwert aus den Distanzen aller Individuen **innerhalb** der lokalen Populationen liegt zwischen 2,00% (Puttgarden, GE-5) und 11,22% (Fusina) (Tab. 18).

Hohe durchschnittliche Distanzen **zwischen** den Populationen können z.B. mit 38,67% für Albarella und Helgoland, mit 37,62% für Albarella und Burgtiefe (GE-2) und mit 37,06% für Albarella und Rudkobing (DK-4) ermittelt werden. Ähnlich hohe Werte werden auch bei den Distanzen von der Population in Griechenland zu Helgoland (36,59 %), Wulfener Hals, GE-4 (35,58%) und Burgtiefe, GE-2 (35,83%) erreicht (Tab. 18). Geringe durchschnittliche Distanzen befinden sich dagegen zwischen den Kulturrüben Bianca und Dora (12,88%) und zwischen Gabriella und Dora (9,14%) sowie generell zwischen den Populationen aus dem Ostseebereich (GE-1 bis -5 und DK-1, -3 und -4; 8,9% bis 15,05%).

Weiterhin wurde die Distanzmatrix zwei verschiedenen numerischen Verfahren unterzogen (Kap. 3.5.2). Die beiden abgebildeten „Baumtypen“ (Abb. 19 und 20) sind gängige graphische Darstellungen der Ergebnisse der Clusteranalysen, wobei der mit der Neighbour-Joining Methode berechnete Baum in erster Linie zur Darstellung phylogenetischer Zusammenhänge verwendet wird. Ein Ablesen der genetischen Distanzen anhand der horizontalen Wegstrecken zwischen den verschiedenen Individuen ist zwar möglich. Diese Form der Distanzermittlung ist jedoch sehr ungenau, weswegen ein Ablesen der Werte aus der Distanzmatrix der exaktere Weg ist.

Tab 18: Durchschnittliche genetische Distanzen in % (fett gedruckt) und Standardabweichungen bei den einzelnen Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).

	Bi	Ga	Do	Sp	Cal	Ap	Wa 61	Wa 58	Al	Fu	Gr	Po	F	Ir	HI	GE-4	GE-1	GE-2	GE-3	GE-5	DK-3	DK-4	DK-2
Bi	6,84 2,17																						
Ga	13,87 2,48	6,31 2,06																					
Do	12,88 2,39	9,15 2,67	5,49 2,56																				
Sp	18,63 2,43	16,89 2,54	17,70 2,26	7,38 2,68																			
Cal	17,40 2,35	17,13 2,55	16,25 2,34	17,62 2,01	9,38 2,83																		
Ap	15,71 2,13	15,23 2,44	15,31 2,38	14,46 2,87	16,71 1,88	8,84 2,60																	
Wa 61	16,18 2,13	17,31 1,91	14,51 1,97	21,46 2,72	18,60 2,22	18,60 2,42	7,88 2,92																
Wa 58	16,39 2,25	15,45 1,67	14,77 1,86	21,29 2,73	16,87 1,89	16,87 2,05	14,09 2,14	6,51 1,76															
Al	20,22 2,71	20,66 2,19	20,86 2,65	19,76 2,50	26,36 1,91	22,72 2,12	24,31 2,33	22,34 1,81	7,64 2,77														
Fu	20,95 2,31	19,16 2,64	19,88 2,51	22,0 2,87	24,39 2,40	24,47 2,49	27,17 2,47	23,82 3,02	18,37 2,70	11,22 7,32													
Gr	23,57 3,02	25,36 2,95	24,79 3,09	26,77 2,89	27,58 3,22	26,67 2,75	23,81 2,45	21,22 2,65	23,79 2,89	28,59 3,04	8,22 9,75												
Po	21,61 2,77	21,11 2,68	18,77 2,66	23,93 2,39	23,62 3,04	22,85 2,21	24,82 2,23	25,20 1,76	26,04 2,98	26,12 3,18	29,89 2,68	9,75 2,89											
F	27,74 1,97	25,69 1,80	25,46 2,07	28,62 2,12	27,30 2,29	27,93 1,93	27,37 1,15	26,47 1,83	28,23 2,11	29,32 3,04	27,29 3,04	24,21 2,03	7,58 2,50										
Ir	27,52 3,23	21,03 3,02	21,17 3,55	24,45 2,82	24,23 2,50	25,49 3,12	26,13 2,71	24,39 2,70	28,18 3,59	29,92 3,75	28,89 2,98	20,78 2,54	16,63 2,60	6,88 3,77									
HI	36,24 2,80	29,13 2,41	30,24 2,25	33,86 2,84	35,01 3,14	31,93 2,51	30,82 2,91	32,65 2,70	38,67 2,49	32,18 3,32	36,59 2,20	29,12 3,01	32,01 2,60	28,52 1,98	6,48 2,21								
GE-4	32,67 2,31	29,19 2,05	28,96 3,39	34,56 2,52	31,57 2,53	30,19 2,05	32,55 2,75	32,31 2,83	35,42 2,32	31,82 2,90	35,58 2,90	28,80 2,86	31,47 2,01	30,47 2,45	21,16 2,58	6,56 2,58							
GE-1	31,41 2,69	27,75 1,82	27,02 2,68	33,40 2,00	32,48 2,48	27,95 2,43	30,69 2,40	31,71 2,55	34,95 2,24	32,22 3,01	34,11 4,06	25,36 3,95	27,87 2,82	27,64 2,49	20,56 1,93	10,82 12,52	5,16 13,64						
GE-2	35,45 2,85	32,84 2,78	31,30 3,67	37,84 2,85	34,99 3,84	33,91 2,62	32,22 3,06	33,01 3,51	37,62 2,16	33,83 3,42	35,83 4,06	28,69 3,95	30,36 2,47	30,42 2,49	22,11 1,93	9,07 3,13							
GE-3	28,24 2,52	25,28 2,36	23,76 1,99	31,36 2,75	29,75 3,36	26,29 2,75	27,85 2,28	27,97 3,05	30,84 3,22	28,03 3,62	28,68 3,13	21,33 2,51	26,13 2,09	28,70 2,73	19,03 1,88	7,28 2,21							
GE-5	31,65 2,29	27,14 1,71	26,24 2,62	30,31 2,75	30,87 2,63	25,32 2,63	27,85 2,63	27,45 3,21	31,48 1,6	31,86 2,52	29,99 2,21	23,66 2,72	27,46 2,13	25,71 2,22	22,74 1,92	2,00 1,39							
DK-3	34,14 2,70	31,64 2,92	30,66 2,82	33,71 2,61	33,74 2,49	30,86 2,67	32,19 3,10	31,72 3,25	34,90 2,46	34,07 3,04	33,45 2,96	27,31 3,12	30,64 2,15	28,17 1,90	22,22 1,45	5,59 1,66							
DK-4	35,48 2,38	31,30 2,25	30,17 1,90	34,42 2,66	34,53 2,87	30,37 2,98	31,89 3,06	31,86 3,06	37,06 2,36	34,20 3,53	34,43 2,83	26,87 2,54	30,94 2,77	27,40 2,75	19,42 2,35	8,48 1,97							
DK-2	32,83 2,63	30,03 2,49	28,15 2,16	32,33 2,46	30,03 2,35	29,95 2,56	32,61 2,37	31,02 2,92	35,54 2,65	31,99 3,28	33,16 2,75	25,865 3,01	27,37 2,38	26,70 2,38	21,29 2,35	5,89 2,41							

Die in Abbildung 19 dargestellte Gruppierung im UPGMA-Typ zeigt mehrere Äste, die die Populationen des Ostseeraums und die Population von Helgoland gemeinsam von allen anderen Populationen trennen. Die atlantischen Wildrübenpopulationen aus Frankreich, Irland und Portugal clustern gemeinsam, isoliert stehen die Individuen der griechischen Population. Die italienischen Wildrüben der Standorte Albarella und Fusina stehen zwischen den Wildrüben und den Kultur- bzw. Unkrautrüben. Sie sind den Unkraut- bzw. Kulturrüben aber genetisch näher. Die Unkrautrüben aus Italien und Deutschland bilden zusammen mit den Kulturrüben ein gemeinsames Cluster, wobei die deutschen Unkrautrüben den Kulturrüben genetisch näher stehen als den italienischen Unkrautrübenpopulationen.

Der Neighbour-Joining Baum (Abb. 20) zeigt eine ähnliche Struktur, wenngleich die Trennung der verschiedenen Äste hier nicht so eindeutig erkennbar ist. Die wesentliche Struktur stimmt mit der UPGMA-Darstellungsform überein. Auf den ersten Blick sind in diesem Baum vier große Gruppen zu erkennen. Als Basis wurde ein Individuum aus der griechischen Population gewählt, da die griechische Population in der UPGMA-Darstellung eine eigene Stellung zwischen den baltischen und den übrigen Populationen eingenommen hat. Dabei steht sie im UPGMA-Stammbaum näher an den atlantischen und italienischen Populationen. Dies spiegelt sich auch in der Neighbour-Joining-Darstellung wider. Die italienischen Wildrübenpopulationen bilden zusammen mit den Unkrautrübenpopulationen und den Kulturrüben die Gruppe, die den griechischen Rüben am nächsten steht. Dabei befinden sich die Kulturrüben am Zweigende und sind somit innerhalb dieser Gruppe am weitesten entfernt zu der griechischen Population. Die italienischen Wildrüben dagegen stehen der Basis am nächsten. Die zweite größere Gruppe, die als nächstes von der griechischen Basispopulation abzweigt, wird von den atlantischen Populationen gebildet, die dritte und somit am weitesten entfernte Gruppe ist die baltische. Isoliert und außerhalb der Gruppe steht ein Individuum der italienischen Wildrüben vom Standort Fusina.

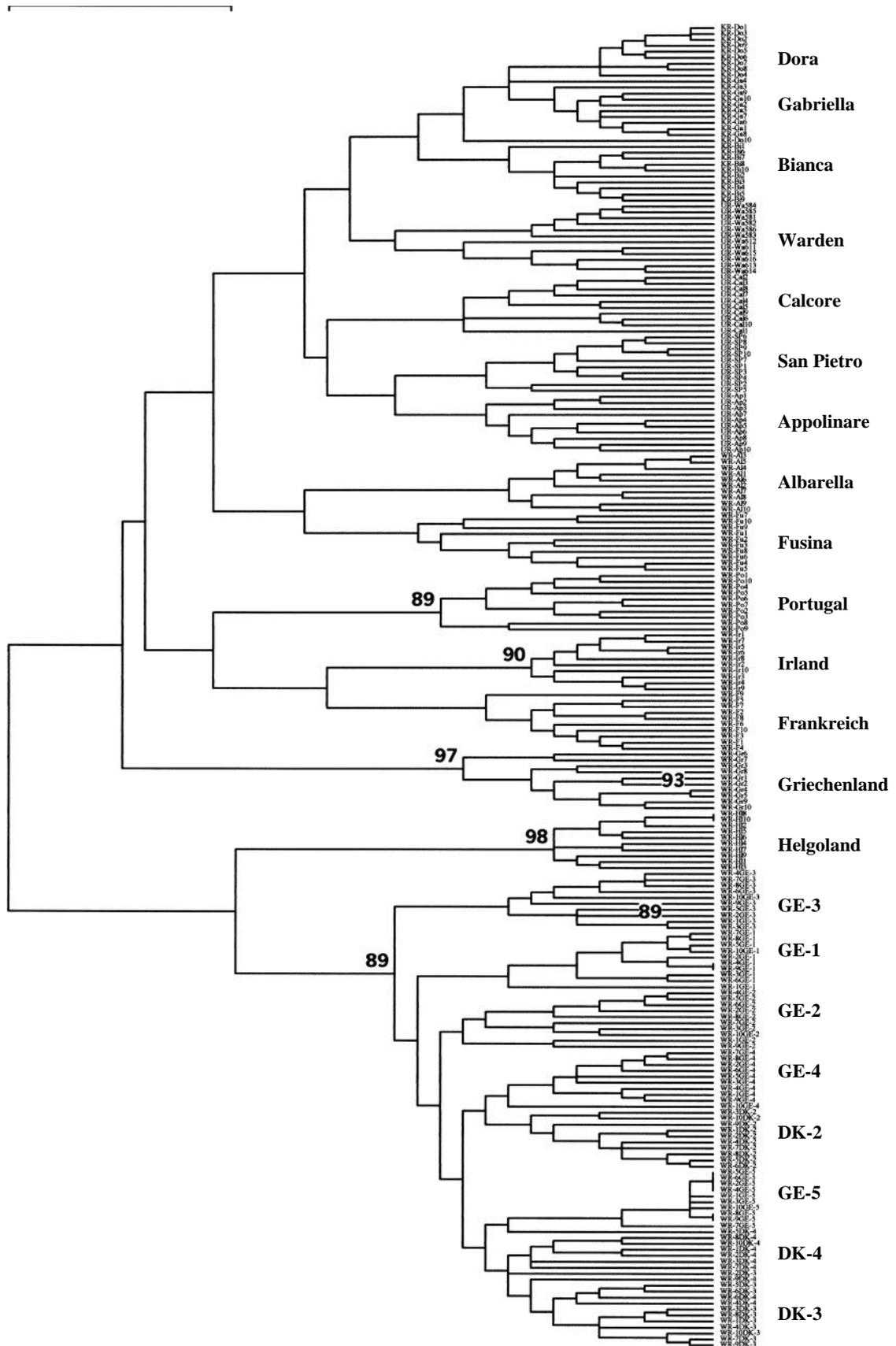


Abb. 19: Phänogramm aus der UPGMA-Clusteranalyse. Signifikante Bootstrapwerte (>89%) sind an den betreffenden Verzweigungen eingefügt (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).

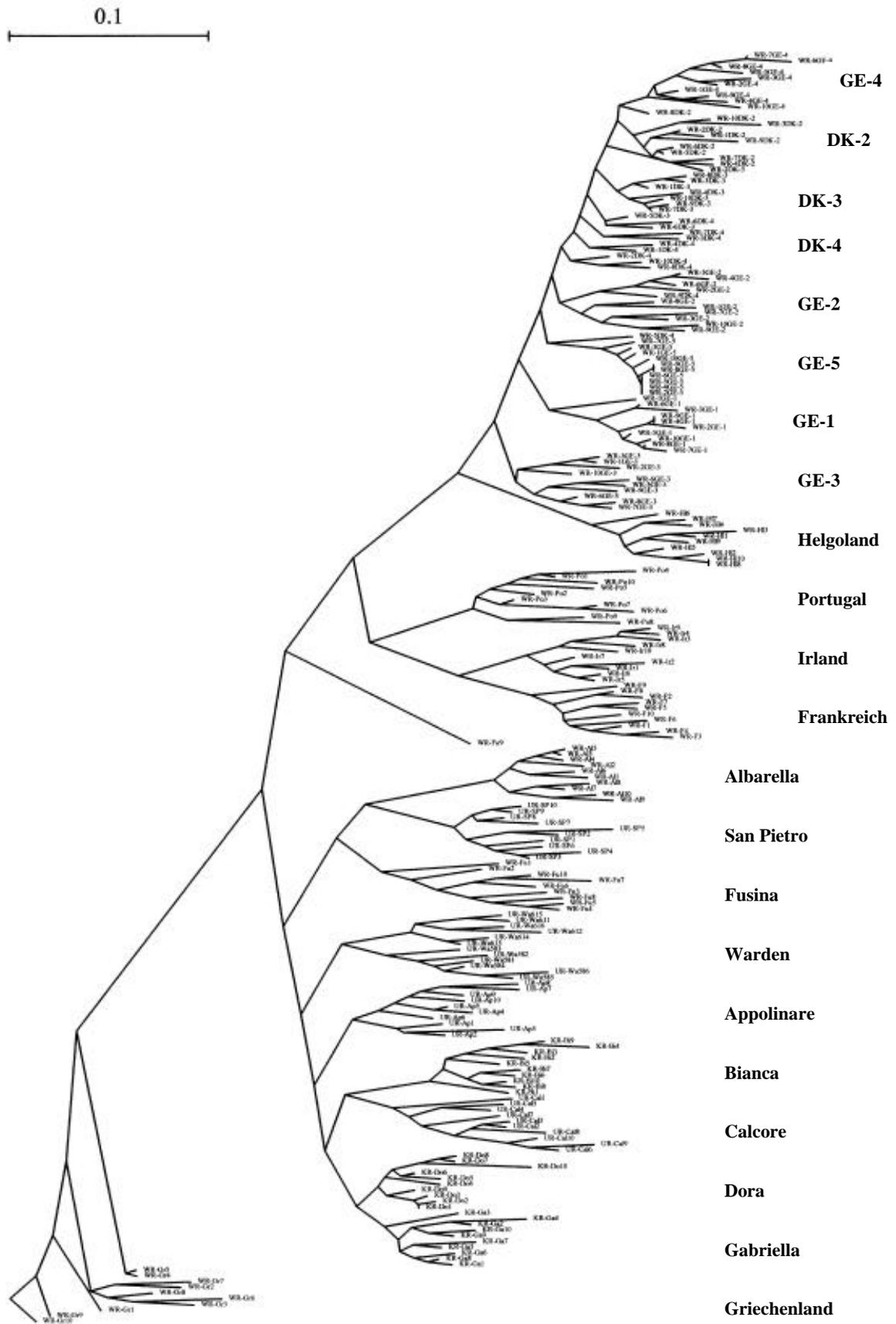


Abb. 20: Phanogramm aus der Neighbour-Joining-Clusteranalyse (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).

4.5.2 RFLP

Für die molekulare RFLP-Analyse der mitochondrialen DNA wurde Blattmaterial von 21 Populationen (Tab. 19) untersucht, welches vor Ort in Dänemark, Schweden und Deutschland gesammelt wurde (Kap. 3.5.1). Es wurden durchschnittlich 12 Individuen pro Population und insgesamt 293 Individuen analysiert.

Alle analysierten Individuen zeigten bei der Sonde pBV4 je eine Bande bei 3,0kb und bei 3,7kb sowie bei der Sonde Atp6 eine Bande mit einem Molekulargewicht von 3,0kb. Sie sind somit alle dem Mitotyp E zuzurechnen (siehe auch Wehres 2001).

Tab. 19: Überblick über die in den einzelnen Populationen festgestellten Mitotypen (Abkürzungen siehe Tab. 2).

Population	Anzahl der Individuen	Mitotyp	Population	Anzahl der Individuen	Mitotyp
GE-1	11	E	GE-11	20	E
GE-2	22	E	GE-13	3	E
GE-3	4	E	DK-1	20	E
GE-4	16	E	DK-3	20	E
GE-5	4	E	DK-4	17	E
GE-6	25	E	DK-5	2	E
GE-7	11	E	DK-6	18	E
GE-8	13	E	DK-7	12	E
GE-9	21	E	DK-8	20	E
GE-10	12	E	S-1	3	E
			S-2	19	E

Da alle Individuen jeder Population den gleichen Mitotyp besitzen, können anhand dieser Methode keine weiteren Differenzierungen zwischen und innerhalb der Populationen sowie keine Berechnung der Diversität vorgenommen werden.

4.6 PCR-RFLPs zur Bestimmung von CMS-Markern

Blattmaterial von 198 *B. vulgaris*-Individuen 15 verschiedener Populationen aus Deutschland, Dänemark und Schweden (Tab. 2) wurde mit Hilfe der PCR-RFLP auf das Vorhandensein von CMS untersucht (Kap. 2.2.2 und 3.6). Als Kontrolle wurde Blattmaterial von 22 Kulturrüben verwendet und analysiert.

Abbildung 21 zeigt das typische Fragmentmuster nach dem Verdau mit *HindIII*: in Spur 1-3 und 8-10 ist das durch die spezifische PCR amplifizierte und nicht verdaute, d.h. unveränderte Fragment der betroffenen Genregion (Kap. 3.6) zu sehen, wie es bei Rüben vorkommt, die das Merkmal für CMS nicht tragen. Bei den Kulturrüben dagegen (Spur 4, 5 und 7) ist eines der beiden kleineren Fragmente zu sehen, das nach Restriktion aufgrund der entsprechenden Schnittstelle entstanden ist.

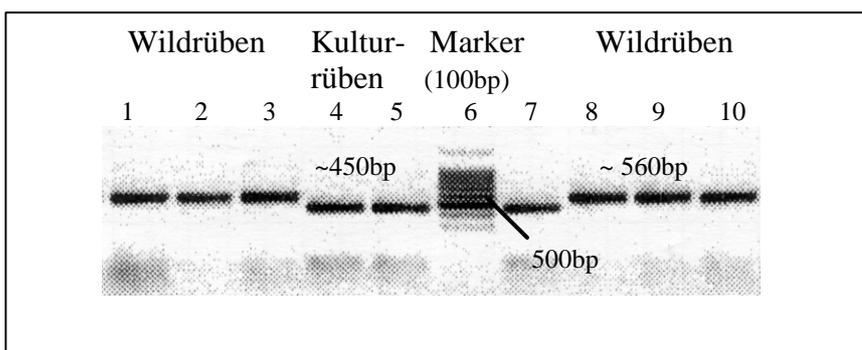


Abb. 21: Gelbild nach der Restriktion mit *HindIII*. In Spur 1-3 und 8-10 ist das unverdaute Fragment (Kap. 3.6) zu sehen, wie es bei Rüben vorkommt, die das Merkmal für CMS **nicht** tragen. Bei den Kulturrüben dagegen (Spur 4, 5 und 7) ist eines der beiden kleineren Fragmente zu sehen, das nach Restriktion aufgrund der entsprechenden Schnittstelle entsteht.

In keiner der baltischen Wildrübenpopulationen konnte ein Hinweis auf CMS gefunden werden, d.h. nach der Restriktion mit *HindIII* entstanden keine zwei Fragmente. CMS liegt folglich bei diesen Individuen nicht vor. Ein Gesamtüberblick über die Ergebnisse der PCR-RFLP bietet Tabelle 20.

Tab. 20: Ergebnisse der PCR-RFLP zur Bestimmung von CMS (Abkürzungen siehe Tab. 2).

Population	Probenanzahl	CMS	Population	Probenanzahl	CMS
Kulturrübe	22	pos.	GE-13	3	neg.
GE-1	17	neg.	DK-1	26	neg.
GE-2	23	neg.	DK-3	21	neg.
GE-5	4	neg.	DK-4	3	neg.
GE-6	18	neg.	DK-5	2	neg.
GE-10	12	neg.	DK-6	18	neg.
GE-11	16	neg.	S-1	3	neg.
GE-12	8	neg.	S-2	24	neg.

5. Diskussion

5.1 Die Ausbreitung von *B. vulgaris* subsp. *maritima* im baltischen Raum

B. vulgaris subsp. *maritima* hat sich im Laufe der letzten Jahre an der deutschen Ostseeküste etabliert und scheint sich weiter auszubreiten.

Als 1997 zum ersten Mal eine größere Anzahl von Wildrüben an der deutschen Ostseeküste dokumentiert werden konnten, war dies aufgrund der eher als selten beschriebenen Wildrübe in diesem Bereich (Christensen 1996, Raabe 1987) ein überraschendes Ergebnis (Driessen 1999, Driessen et al. 2001). Seitdem konnte bei den regelmäßigen Exkursionen nicht nur an allen Standorten das Vorhandensein von *B. vulgaris* subsp. *maritima* wieder bestätigt werden, sondern es konnten auch kontinuierlich neue Populationen gefunden werden. 1997 wurden an fünf Standorten 62 Individuen kartiert, 1999 konnten an 15 Standorten über 685 Individuen gezählt werden und 2001 waren es über 560 Individuen an 16 Standorten.

Fehmarn ist Deutschlands Hauptverbreitungsgebiet.

Die Vielzahl und der Umfang der Populationen auf der Insel Fehmarn sind bemerkenswert. Von bisher 17 verschiedenen dokumentierten Standorten an der deutschen Ostseeküste befinden sich acht auf der Insel Fehmarn, fünf weitere in unmittelbarer Nähe (Kap. 4.1). Da Wildrüben im Ostseeraum insgesamt als selten gelten (Christensen 1996), sind auch die Funde an der dänischen Küste in diesem Umfang überraschend. Da in Dänemark Küstenabschnitte nicht flächendeckend abgesucht, sondern gezielt aufgesucht wurden, ist davon auszugehen, dass die tatsächliche Anzahl von Populationen noch um ein Vielfaches höher ist.

Im Gegensatz dazu stellen die kartierten Individuen von *B. vulgaris* ssp. *maritima* an Schleswig-Holsteins Ostküste mit hoher Wahrscheinlichkeit den Großteil der gesamten Rübenvorkommen dar, da die Suche hier weitestgehend flächendeckend war. Dennoch sind aufgrund der Unzugänglichkeiten einiger Küstenabschnitte (Militärgebiete) und aufgrund vieler Naturschutzgebiete, die wegen der dort brütenden Vögel nicht betreten werden durften, einige Fundorte möglicherweise übersehen worden.

Die Ausbreitungsgeschichte der Wildrübe im Bereich der Ostsee wurde aufmerksam dokumentiert (Christensen 1996, Kap. 2.1.4), wobei der erste Nachweis von Hornemann 1796 von Marstal auf der dänischen Insel Ærø stammte. Die anschließende Ausbreitung erfolgte zunächst Richtung Norden, erst in jüngerer Zeit kam es zur Besiedelung der östlich gelegenen Regionen, wie z.B. Lolland. Dies ist deswegen erstaunlich, weil gerade im Herbst, also zum Zeitpunkt der Samenreife Westwindlagen und entsprechende Meeresströmungen in südliche bzw. östliche Richtungen vorherrschen. Christensen (1996) geht davon aus, dass gerade in diesen Bereichen viele Küsten als Standorte der Wildrübe weniger geeignet sind, da es sich oftmals um Steilküsten mit starken Erosionen und folgender Sandabdeckung handelt. Dies mag zwar für viele Küstenabschnitte zutreffen, kann aber nicht der einzige Grund sein, denn neben langen Steilküstenabschnitten und Sandstränden gibt es auch zahlreiche Küstenabschnitte mit steinigem Strand, der für *B.vulgaris* ssp. *maritima* theoretisch ein geeignetes Habitat darstellt (Kap. 2.1.3 und 5.2). Letztendlich beweist auch die in vorliegender Arbeit festgestellte Etablierung und Ausbreitung der Wildrübe, dass die Habitatverhältnisse in Deutschland nicht allein der Grund sein können, dass es bisher nicht zu einer Ausbreitung in südlicher Richtung gekommen ist.

Populationen und Metapopulationen

Es gestaltet sich als schwierig, die gefundenen Rüben unterschiedlicher Fundorte in distinkte Populationen einzuteilen, da die Fundorte oft sehr nah beieinander liegen (Kap. 4.1). Nach Wilmanns (1993) versteht man unter einer Population die Gesamtheit der Individuen einer Art, die in einem Gebiet vorkommt, innerhalb dessen noch Gen-Austausch möglich ist. Die Grenzen eines solchen Gebietes für Pflanzen abzustecken, ist aufgrund des Gen-Austauschs durch Pollen diffizil. Hier spielt nicht nur eine Rolle, wie weit der Pollen theoretisch durch den Wind übertragen werden kann, sondern auch welche Windrichtung in den betreffenden Regionen gerade zur Blütezeit vorherrscht. Für Rübenpollen konnten Flugdistanzen von mehr als einem Kilometer gemessen werden (Kapteijns 1993, Saeglitz et al. 2000).

Aus diesen Gründen wäre es stellenweise richtiger von Metapopulationen anstatt von Populationen zu sprechen, da der Begriff der Metapopulationen nach Levin (1969) die Verteilung von mehreren kleinen (Sub-)Populationen in einem Gebiet beschreibt. Einzelne Subpopulationen stehen durch Windbestäubung im Genaustausch. Da an vielen Fundorten

exakt an denselben Stellen zu jedem Untersuchungszeitpunkt einzelne Rüben wieder gefunden werden konnten, wird vermutet, dass es sich hier um ausdauernde, also perennierende Rüben handelt. Dies wurde für Wildrüben des nordöstlichen Verbreitungsgebietes auch von van Dijk und Boudry (1991) beschrieben.

5.2 *B. vulgaris* ssp. *maritima* im Bereich der Ostsee – Fingerprint für wärmere Winter?

Mildere Winter könnten im Laufe der letzten Jahre dazu geführt haben, dass *B. vulgaris* subsp. *maritima* an der deutschen Ostseeküste gehäuft gefunden werden konnte. Seit Beginn der Untersuchungen im Jahr 1997 konnten im Verhältnis zu den letzten Jahrzehnten überwiegend milde Winter verzeichnet werden (vgl. Abb. 13 bis 15). Aber auch im Verlauf der letzten 20 Jahre (ab 1987/88) waren mit Ausnahme des Winters 95/96 ähnlich milde Winter vorherrschend.

Kälte ist ein limitierender Faktor für die Ausbreitung von B. vulgaris subsp. maritima im Ostseebereich.

Theoretisch sind für *B. vulgaris* subsp. *maritima* zwei Möglichkeiten denkbar, wie sich eine Änderung der Temperaturen auf ihre Entwicklung und Ausbreitung auswirken kann: Durch eine Verlängerung der Vegetationsperiode oder höhere Temperaturen in der vegetativen Phase können sich die Pflanzen besser entwickeln und bilden sowohl mehr als auch widerstandsfähigere Nachkommen (1). Und/oder durch mildere Winter überlebt grundsätzlich eine größere Anzahl an Individuen (2).

In den meisten publizierten Untersuchungen wird die Ausbreitung von Pflanzen mit dem CO₂-Anstieg oder der allgemeinen Klimaerwärmung korreliert (Davis et al. 1998, Collatz et al. 1998, Iverson und Prasad 1998, Box et al. 1999). In einer Studie von Walther et al. (2002) wurde gezeigt, dass bereits nach wenigen Jahrzehnten in vielen Ökosystemen deutliche Spuren der Klimaerwärmung auszumachen sind. Die Studie zeigt, dass zum Beispiel in Mitteleuropa auf Grund der Klimaerwärmung die ersten Zugvögel und Schmetterlinge früher im Jahr auftauchen und dass Pflanzen früher sprießen als noch vor einigen Jahrzehnten. Walther et al. (2002) weisen allerdings darauf hin, dass die zurzeit

beobachtbare Entwicklung inkonsistent ist. Weiterhin wird eine Ausbreitung von Arten in höhere Lagen sowie in Richtung der Pole konstatiert. Antarktische Landökosysteme haben in den letzten Jahren eine Erweiterung der Artenvielfalt erlebt.

Bei Zuckerrüben (*B. vulgaris* ssp. *vulgaris*) dagegen wird häufig die geringe Invasivität auf ihre geringe Kältetoleranz zurückgeführt (Pohl-Orf et al. 1999). Nach Doney (1990) und Rothmaler (1990) können die zweijährigen Formen der Zuckerrüben nur dort stabile Populationen bilden, wo klimatisch milde Winter vorherrschen. Es wird vermutet, dass *B. vulgaris* nur dort im zweiten Jahr blüht und Nachkommen bildet, wo zu kurze Vegetationsperioden eine Entwicklung der Blütenbildung evolutionär verhindert haben. Die Winter müssen dann allerdings entsprechend mild sein, um das Überleben der vegetativen Formen zu sichern oder die vegetativen Formen müssen ausreichend kälteresistent sein. Verantwortlich für die Entwicklung generativer Formen von *B. vulgaris* im ersten Jahr können dagegen lebensfeindliche Trockenheit im Sommer oder zu große Kälte im Winter sein. Gerade bei mehrjährigen Wildrüben im Ostseebereich könnte die Kälte im Winter der limitierendere Faktor für das Überleben von Individuen sein. Aus diesem Grund wurde in vorliegender Arbeit die Entwicklung der Winterhärte im Verlauf der letzten Jahrzehnte und nicht die konsensuale globale Erwärmung untersucht.

Im dänischen Verbreitungsgebiet ist es im Winter wärmer.

Über den Zeitraum von 1987/88 bis 2001 betrachtet, wiesen die Stationen im mittleren Bereich des Untersuchungsgebietes (54°6'N - 55°5'N, Abb. 14) mit einer Summe aller Tagestiefsttemperaturen von durchschnittlich -135°C (Standardfehler des Mittelwerts, SEM=11,72) signifikant mildere Winter auf. Für den gleichen Zeitraum konnten für weiter südlich gelegene Stationen (53°5'N - 54°5'N, Abb. 13) Werte von durchschnittlich -185°C (SEM=20,27) berechnet werden. Ferner ist die Tendenz erkennbar, dass weiter westlich gelegene Meßpunkte geringere Werte für die Summen aller negativen Tagestiefsttemperaturen aufweisen als solche, die weiter östlich gelegen sind (Kap. 4.2). Sollte diese Beobachtung auch für größere Zeiträume zutreffend sein, könnte dies ein Grund dafür sein, warum sich die Wildrüben von Marstal aus erst relativ spät in südöstliche Richtung ausgebreitet haben (Kap. 2.1.4 und 5.1).

Die vorliegenden Datensätze für die Zeit vor 1982 (>20 Jahre) deuten darauf hin, dass es bereits früher Perioden mit milderem Wintern und ähnlich geringen Summen der Tagestiefsttemperaturen gab. Fraglich ist deswegen, ob es schon früher zum gehäuftem Auftreten von *B. vulgaris* subsp. *maritima* gekommen ist. Dokumentiert ist dies allerdings nicht. Auf der anderen Seite könnte dies auch als Hinweis gewertet werden, dass *B. vulgaris* subsp. *maritima* nach der letzten Eiszeit ihr potentiell Verbreitungsgebiet noch nicht erreicht hat (Kap. 1).

Zur Abschätzung der Überlebensrate in Abhängigkeit einer bestimmten Kältesumme (Summe aller negativen Tagesdurchschnittstemperaturen) bzw. der Summe aller negativen Tiefsttemperaturen eines Tages (Kap. 3.2) bieten die Ergebnisse von Pohl-Orf (1999) und die Ergebnisse aus dem Überwinterungsversuch vorliegender Arbeit (Kap. 4.3.2) einen wichtigen Anhaltspunkt.

Die baltischen Wildrüben sind kälteresistenter als Zuckerrüben.

Pohl-Orf (1999) ermittelte für Zuckerrüben Kältesummen von ca. -200°C , bei denen keine der untersuchten Pflanzen mehr überlebte. Pohl-Orf untersuchte allerdings Kulturrüben, die insbesondere aufgrund ihres stark wasserhaltigen Rübenkörpers vermutlich weniger kälteresistent sind. Es wird deswegen davon ausgegangen, dass die Kältesumme, bei der die Sterberate baltischer Wildrüben 100% beträgt, über -200°C liegt.

Dass baltische Wildrüben deutlich kälteresistenter als Kulturrüben sind, wird durch die Ergebnisse aus dem Überwinterungsversuch (Kap. 4.4) untermauert, bei dem 73% der Nachkommen baltischer Populationen bei einer Kältesumme von -71°C überlebten. Dabei wurde die Kältesumme wie bei Pohl-Orf (1999) aus der Summe aller negativen Tagesdurchschnittstemperaturen berechnet. Im Vergleich dazu überlebten 73% der Zuckerrüben bei Pohl-Orf (1999) bei einer Kältesumme von lediglich $-11,5^{\circ}\text{C}$.

Berechnet man die Summe aller negativen Tiefsttemperaturen eines Tages, überleben 73% der Wildrüben bei einem Wert von -198°C . Ein Wert, der in einem Winter nur selten bei tatsächlich allen Stationen überschritten wurde: In dem Bereich der Küstenabschnitte, wo Wildrüben gefunden wurden (GE-B, GE-C, DK-B, DK-C, S-C) trifft dies lediglich in den Jahren 1995/96, 1985/86, 1984/85, 1981/82 und 1978/79 zu, d.h. nur in den jeweiligen aufgelisteten Wintern werden bei **allen** Stationen Kältesummen von über -200°C

berechnet. In allen übrigen Wintern gab es mindestens eine Station, die geringere Werte aufwies. Damit war das Fortbestehen einer dort angesiedelten Populationen nicht gefährdet und für die Wildrüben allgemein ein entsprechendes Refugium vorhanden.

Eine harte Witterung mit tiefen Temperaturen kann zur Dezimierung von Individuen führen, doch wird aufgrund der insgesamt hohen Anzahl samentragender Pflanzen wahrscheinlich ausreichend Samenmaterial im Boden vorhanden sein, um auch Jahre mit ungünstigen Bedingungen zu überstehen. Mithin waren ungünstige Bedingungen, d.h. aufeinander folgende Winter mit Werten für die Summe aller negativen Tagestiefsttemperaturen deutlich über -200° , im Untersuchungsgebiet seit mindestens 15 Jahren nicht mehr gegeben.

5.3 Die baltischen Populationen und ihr Generationszyklus

Es konnten Hinweise darauf gefunden werden, dass die Individuen der baltischen Populationen unter den natürlichen Standortbedingungen zumindest teilweise im ersten Jahr schossen und blühen (Kap. 4.3.1). Weiterhin konnten bei einigen Individuen Marker gefunden werden, die eng gekoppelt sind mit dem für das Schossen verantwortlichen Gen *B* (Kap. 4.5). Dies war ein unerwartetes und überraschendes Ergebnis. Zwar variieren, wie bereits erwähnt (Kap. 2.1.2), die Entwicklungsrythmen für *Beta* zwischen ein-, zwei- und mehrjährig, doch galt es als gesichert, dass Rüben in Nordeuropa strikt zweijährig sind bzw. perennierend und im zweiten Jahr blühend (van Dijk et al. 1997, Boudry 2002). Allerdings wird an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass dies grundsätzlich erstaunlich ist, da Rüben als kälteempfindlich gelten (Pohl-Orf et al. 1999) und zweijährige wildverwandte Formen nach Doney (1990) und Rothmaler (1990) nur dort stabile Populationen etablieren, wo milde klimatische Bedingungen herrschen (Kap. 5.2). Grund dafür könnten zu kurze Vegetationsperioden sein, die eine Blütenbildung im ersten Jahr verhindern (vgl. Kap. 5.2).

Viele Nachkommen baltischer Wildrüben blühen unter natürlichen Bedingungen im ersten Jahr.

Zur Überprüfung der aus der Literatur als Tatsache hingenommenen Zweijährigkeit bzw. des Blühens im zweiten Jahr, wurden 1999 exemplarisch Nachkommen sechs verschiedener baltischer Populationen sowie Nachkommen der Population von der Insel Helgoland im Gewächshaus angezogen und Ende Mai ins Freiland gepflanzt. Es wurde davon ausgegangen, dass die Lichtintensitäten somit optimal sind, den natürlichen Bedingungen entsprechen und die Temperaturen nicht ausreichend für eine Vernalisierung (Kap. 4.3.1 a) sein würden. Einzig die Nachkommen der Population von Helgoland und der dänischen Population vom Standort Tars entsprachen den Erwartungen, da von diesen keine Rübe blühte. Bei allen anderen Populationen waren zu jeweils unterschiedlichen Teilen drei Erscheinungsformen vorhanden: Schossend, aber nicht blühend (1), blühend (2) und weder schossend noch blühend (3). Im Durchschnitt schossten oder blühten lediglich 42% der ausgepflanzten Rüben nicht, 20% blühten. Dies war erstaunlich, denn die Durchschnittstemperaturen lagen im Untersuchungszeitraum zum größten Teil bei und über 15°C. Die bei Smit (1983) definierte optimale Vernalisationstemperatur von 8°C und darunter für *bb*-Genotypen, konnten zwar an 18 Tagen gemessen werden, aber als Tagestieftemperatur, d.h. mit sehr begrenzter Dauer.

In einer Untersuchung von Boudry et al. (2002) wurde versucht, Vernalisationsanforderungen für französische und nördlich angrenzende Wildrübenpopulationen quantitativ zu erfassen. In den dort beschriebenen Experimenten wurden drei Wochen alte Pflanzen zwischen 20 und 60 Tagen in einer Kältekammer zwischen 5°C und 7°C gehalten. Die nördlichen Populationen benötigten mindestens 40 Tage, die meisten jedoch 60 Tage Kälte, um anschließend zu blühen. Mengen bzw. Zeiten, die mit den vergleichsweise geringen Vernalisations-Anforderungen der baltischen Populationen nicht zu vergleichen sind. Es wurde deswegen vermutet, dass ein großer Teil der im Freiland untersuchten Pflanzen nicht über den Genotyp *bb* verfügt. Rüben vom Standort Tars (DK-5) und von der Insel Helgoland hingegen scheinen größere Vernalisationsanforderungen zu benötigen. Es wird deswegen davon ausgegangen, dass diese wahrscheinlich dem Genotyp *bb* entsprechen. Sie spiegeln die Erwartung wider, dass nordeuropäische Rüben zweijährig sind bzw. perennierend und im zweiten Jahr blühen.

Unter konstanten Bedingungen >20°C blüht keine baltische Wildrübe.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde ein weiteres Experiment mit einer umfangreicheren Anzahl von baltischen Wildrüben unter konstanten Gewächshausbedingungen durchgeführt (Kap. 4.3.1 b). Wieder wurden Ende März Samen verschiedener Populationen im Gewächshaus ausgelegt und Pflanzen angezogen. Diese verblieben allerdings über den gesamten Untersuchungszeitraum im Gewächshaus. Es lagen somit Bedingungen vor, bei denen konventionell das Vorhandensein des Gens *B* überprüft wird. Keine der 361 Pflanzen, außer den Kontrollpflanzen, schosste oder blühte innerhalb von vier Monaten. Die Rüben müssten daher dem Genotyp *bb* zugerechnet werden.

Ein Grund für dieses eher gegenläufige Ergebnis im Vergleich zu den Untersuchungen im Freiland könnte entweder sein, dass die Pflanzen aufgrund der Platzverhältnisse in den Behältnissen nicht optimal wachsen, sich nicht optimal entwickeln konnten und eine Blüte deswegen nicht zustande kam (1) oder dass die Temperaturen im Freiland kombiniert mit einer hohen Lichtintensität doch ausgereicht haben, um die Rüben zum Blühen zu bringen (2). Die erste These kann dadurch untermauert werden, dass die Rosetten der Pflanzen im Feldversuch schnell einen Durchmesser von mehr als einem halben Meter erreichten und die Ausläufer im Freiland oft bis zu zwei Meter lang wurden. Wachstums- bzw. Platzbedingungen, die im Gewächshaus nicht gegeben waren. Dagegen spricht, dass Pflanzen, die unter Streß stehen (sofern suboptimale Bedingungen mit Streß gleichzusetzen sind) dazu tendieren, eine Notblüte auszubilden. Gegen die zweite These spricht auch, dass derartig geringe Vernalisationsanforderungen bisher nicht gemessen und dokumentiert wurden. Außerdem gab es eine große verbleibende Anzahl von Pflanzen auch innerhalb derselben Population, die dennoch nicht geblüht haben.

Gen B ist nicht zu 100 Prozent dominant.

Das Gen *B* gilt zwar als dominant, aber in der heterozygoten Form dringt dies nicht immer, sondern nur partiell durch. Boudry et al. (1994) fanden z.B. eine Dominanz des Gens *B* von 90% unter optimalen Bedingungen und von nur 20% unter weniger optimalen Bedingungen (z.B. geringere Lichtintensitäten). Es wird deswegen grundsätzlich in Frage gestellt, ob Gewächshausbedingungen optimal sind und ausreichen, um eventuelle heterozygote Formen des *B*-Gens richtig zu erfassen. Zusammenfassend für den

Versuchsteil im Gewächshaus kann jedoch aufgrund der Kontrollpflanzen davon ausgegangen werden, dass bei baltischen Populationen der Genotyp *BB* eher selten ist.

Als El-Mezawy et al. 2002 verschiedene AFLP-Marker finden konnten, die eng gekoppelt sind mit dem Gen *B*, wurden die baltischen Populationen ebenfalls auf das Vorhandensein der molekularen Marker hin untersucht. Leider standen zu diesem Zeitpunkt weder die Individuen zur Verfügung, mit denen der Gewächshausversuch durchgeführt worden war, noch die Individuen, die im Freiland getestet wurden. Die DNA wurde, wie bei den meisten Versuchen, aus Samenmischproben bzw. den daraus resultierenden Nachkommen gewonnen. Es kann deswegen sein, dass mehrere Individuen der gleichen Mutterpflanze angehörten. Für die AFLP-Analyse wurde eine Primerkombination gewählt (Kap. 4.4), bei der ein eng mit Gen *B* gekoppelter Marker sowohl in seiner rezessiven (P05_b162) als auch in seiner dominanten (P05_B159) Form nachgewiesen werden konnte.

30% der untersuchten Pflanzen besitzen das Gen B in seiner dominanten Form.

Bei allen Individuen wurde der Marker P05_b162 gefunden, der eng gekoppelt mit dem Gen in seiner rezessiven Form ist. Zusätzlich konnte bei weiteren 30% aller untersuchten Individuen der Marker P05_B159 gefunden werden, was dafür spricht, dass bei diesen Individuen das Gen in seiner dominanten Form vorhanden ist. Setzt man die Marker gleich mit den Allelen, kann nach Hardy-Weinberg eine theoretische Häufigkeit von rund 2,7% für das Auftreten des Genotyps *BB* berechnet werden.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse die gleiche Tendenz wie die aus dem Freilandversuch. Lässt man die Population der Insel Helgoland außer Acht (sie wurde auch nicht bei der AFLP-Analyse berücksichtigt), haben im Freilandversuch 25% aller Nachkommen baltischer Wildrüben geblüht. Dieser Wert liegt somit in der gleichen Größenordnung. Betrachtet man die Populationen im Einzelnen, kann man feststellen, dass die prozentuale Verteilung von blühenden Rüben und Rüben mit dem Marker P05_B159 pro Population überwiegend ähnlich sind: 38% der Individuen von Population GE-2 (Standort Burgtiefe) haben im Freiland geblüht, 30% der untersuchten Individuen derselben Population zeigten in der AFLP-Analyse eine Bande bei 159bp. Das Gleiche gilt für die Population DK-1 (53% haben geblüht, 60% haben die Bande bei 159bp) und DK-4 (0% haben geblüht, 10% zeigen den Marker P05_B159). Rüben, die zwar geschosst, aber nicht geblüht haben,

werden in der Diskussion um das Vorhandensein des Gens *B* nicht berücksichtigt, da dies nach van Dijk et al. (1997) der vegetativen Entwicklung zuzurechnen ist und nicht unbedingt dazu führen muss, dass eine Pflanze auch blüht.

Da in der Nähe zu fast allen Standorten Zuckerrübenfelder mit schossenden Rüben beobachtet werden konnten (Kap. 4.1), ist es durchaus möglich, dass einjährige Unkrautrüben, die über das Gen *B* verfügten, in einige Wildrübenpopulationen via Pollen eingekreuzt sind. Folgt man dieser Hypothese und unterstellt, dass die baltischen Wildrüben so die für sie vorteilhafte Fähigkeit erworben haben, im ersten Jahr Samen zu bilden, könnte dies, gekoppelt mit ausreichend langen Vegetationszeiten im Frühjahr und Sommer ein weiterer Grund für die Ausbreitung von *B. vulgaris* subsp. *maritima* im Ostseebereich sein. Dies setzt allerdings die Annahme voraus, dass die nordeuropäischen Wildrüben ursprünglich tatsächlich homozygot rezessiv für das Gen *B* waren.

Die Ergebnisse der Freilandversuche und der AFLP-Analyse sprechen dafür, dass in einigen Populationen baltischer Standorte das Gen *B* in seiner dominanten Form vorhanden ist und dass diese im ersten Jahr blühen. Dies widerspricht der aktuellen Literatur (van Dijk et al. 1997, Boudry et al. 2002), in der davon ausgegangen wird, dass nordeuropäische Wildrüben strikt zweijährig sind bzw. perennierend und im zweiten Jahr blühen. Weiterhin wird damit die These unterstützt, dass im Gewächshaus nur unzureichend auf das Vorhandensein von Gen *B* untersucht werden kann, wenn dieses im heterozygoten Zustand vorliegt.

Gen B ist nicht allein verantwortlich für das Blühverhalten.

Unabhängig vom Gen *B* gilt es als wahrscheinlich, dass noch weitere Gene für das komplexe Zusammenspiel von genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen und somit für die unterschiedlichen Ergebnisse verantwortlich sind. Erst kürzlich haben Forscher zum Beispiel bei *Arabidopsis thaliana* herausgefunden, dass verschiedene Vernalisierungsgene (*VRN*) den Vernalisierungsvorgang regeln (Simpson & Dean 2002). Auch Abe et al. (1997) diskutieren für *B. vulgaris* eine Schossunterdrückung durch Kontrolle mehrerer Gene trotz Anwesenheit des Gens *B*. Allein die Tatsache, dass die Dominanz des Gens *B* (Boudry et al. 1994) von Umwelteinflüssen abhängig ist und gesteuert wird, spricht dafür, dass weitere Regulationsmechanismen involviert sind. Grundsätzlich sollte deswegen diskutiert

werden, ob Untersuchungen des Gens *B* ausreichend geeignet sind, um herauszufinden, ob Einjährigkeit vorliegt oder nicht (bzw. perennierend und im ersten Jahr blühend). Wenn Pflanzen unter natürlichen Bedingungen und bei milden Temperaturverhältnissen im ersten Jahr blühen, können sie physiologisch betrachtet nicht aufgrund künstlicher Gewächshausbedingungen bzw. nach Test auf das Gen *B* als zweijährig eingestuft werden.

Weiterer Forschungsbedarf

Weiterer Forschungsbedarf, insbesondere weitere AFLP-Analysen unter Hinzuziehung weiterer molekularer Marker, ist nötig, um diese Ergebnisse und Schlussfolgerungen abzusichern. Dabei sollte auch darauf geachtet werden, dass die DNA aus dem gleichen Pflanzenmaterial gewonnen wird, mit dem auch die Gewächshaus- bzw. Freilandversuche durchgeführt wurden. Ein interessanter Ansatz besteht zum Beispiel darin, ein entsprechendes "Association Mapping" durchzuführen: Um herauszufinden, welche weiteren Faktoren das Schoss- und Blühverhalten heterozygoter Pflanzen beeinflussen und wie hoch jeweils der Dominanzgrad von *B* ist, könnten verschiedene Populationen bzw. Individuen auf ihr unterschiedliches Schossverhalten hin untersucht werden und einer Distanzanalyse unterworfen werden. Bilden Pflanzen mit einem ähnlichen Schossverhalten ein gemeinsames Cluster im Stammbaum, könnte untersucht werden, ob bestimmte Bandenfragmente mit diesem Verhalten in Zusammenhang stehen.

5.4 Die baltischen Wildrübenpopulationen: Genetische Diversität und Verwandtschaftsverhältnisse

Innerhalb und zwischen den Populationen der baltischen Wildrüben existiert eine verhältnismäßig geringe Diversität. Wie die molekularen Analysen mit Hilfe der RFLP und RAPD-PCR zeigten, sind sie untereinander eng verwandt und bilden neben weiteren europäischen Wild-, Unkraut- und Kulturrüben ein eigenes distinktes Cluster. Außerdem lieferten die Untersuchungen auf CMS (Kap. 4.6) Beweise dafür, dass die baltischen Wildrüben-Populationen nicht unmittelbar von verwilderten Kulturrüben abstammen.

Mit der RAPD-PCR-Methode können die einzelnen Populationen voneinander unterschieden werden.

Anhand der empfindlichen RAPD-PCR Analysen konnten Populationen bzw. Metapopulationen (Kap. 5.1) verschiedener Standorte voneinander unterschieden werden, genetische Distanzen und Diversitäten berechnet werden (Kap. 4.5.1). Die Wildrübenpopulationen aus dem Ostseebereich bilden im Stammbaum der UPGMA-Analyse (Abb. 19) eine eigene distinkte Gruppe, die sich von allen anderen Populationen absondert. Genetisch stehen die Individuen der Population von der Insel Helgoland den baltischen Populationen am nächsten, und zwar sowohl im Phänogramm aus der UPGMA-Clusteranalyse (Abb. 19) als auch im Phänogramm aus der Neighbour-Joining-Analyse (Abb. 20). Dänische und deutsche Wildrüben stehen genetisch eng beieinander, worauf es bereits in früheren Arbeiten (Driessen 1999, Driessen et al. 2001) Hinweise gab. Zusammen mit der Population der Insel Helgoland bilden die baltischen Populationen einen der beiden Hauptäste des UPGMA-Stammbaums. Die genetische Distanz zwischen dieser Gruppe und allen anderen Rüben, die durch einen weiteren Ast getrennt sind, ist relativ hoch (0,21-0,38) im Vergleich zu der genetischen Distanz zwischen den baltischen Rübenpopulationen (0,80-0,15).

Der andere Hauptast unterteilt alle übrigen Individuen, die in dieser Untersuchung verglichen wurden. Eine relativ isolierte und allein stehende Gruppe bilden dabei die Individuen der griechischen Population. Dies ist auch der Grund dafür, dass sie bei der Neighbour-Joining Analyse als Basis für den Stammbaum gewählt wurde, mit der alle weiteren Individuen verglichen werden sollten (Kap. 3.5.2). Eine weitere Untergruppe des zweiten Astes wird von den atlantischen Populationen (Frankreich, Irland, Portugal) gebildet, was die Ergebnisse von Pohl-Orf (1999) unterstreicht.

Insgesamt liegen die in vorliegender Arbeit berechneten Werte für die intraspezifischen Distanzen in einer Größenordnung wie sie auch bei anderen Arten ermittelt werden konnte, zum Beispiel *Helianthus annuus* (0,1-0,4; Lawson und Henry 1994), *Brassica oleracea* (0,12-0,26; Lanner-Herrera et al. 1996) oder *Castanea dentata* (0,23-0,36; Huang et al. 1998).

Die Abbildung zwei verschiedener Phänogramme (UPGMA und Neighbour-Joining) soll die Stellung der verschiedenen Herkünfte, unabhängig von der gewählten Art des Clustering-Verfahrens verdeutlichen. Da der Algorithmus dieser Verfahren eine gewisse zufällige Komponente bei der Reihenfolge der Paarbildung nicht ausschließt, sind alle Dendrogramme „consensus-trees“ aus 100 separaten Clusterungen, was zu einer sicheren Reproduzierbarkeit der Darstellung führt (van de Peer und de Wachter 1994).

Da die Zuckerrübe eine relativ junge Kulturpflanze ist und Wildrüben kontinuierlich und immer wieder in der Züchtung zur Verbesserung des Saatguts eingekreuzt wurden, sind sie genetisch auch nicht streng voneinander differenziert. Dies ist eventuell der Grund für die relativ geringen Bootstrap-Werte (Abb. 19, UPGMA-Stammbaum).

Auch die RAPD-Untersuchungen zeigen: Unkrautrüben sind Hybride zwischen Wild- und Kulturrüben.

Obwohl das Zusammenfassen sämtlicher RAPD-Daten und der Vergleich mit Hilfe der Stammbäume in erster Linie dazu beitragen sollte, die Stellung der baltischen Rüben innerhalb von Europa zu beschreiben bzw. ihre verwandtschaftlichen Verhältnisse zu weiteren Populationen außerhalb des Baltikums, liefert der Stammbaum noch ein weiteres interessantes Ergebnis. Die Unkrautrübenpopulationen, und zwar unabhängig davon ob die Proben in Italien oder in Deutschland genommen wurden, stehen genetisch eng zusammen mit den Kulturrüben und bilden im Stammbaum eine Brücke zwischen Kultur- und Wildrüben. Dies wird als weiterer Hinweis gewertet, dass Unkrautrüben das Resultat einer Kreuzung von Kulturrüben und Ruderalrüben bzw. Wildrüben in Saatgutproduktionsgebieten sind (Kap. 2.1.6). Die Nähe der Unkraut- und Kulturrüben-Gruppe gerade zu den italienischen Wildrüben könnte ein Indiz für den Einfluss der Saatgutproduktion in Oberitalien auf italienische Wildrüben sein. Dies hatten auch Bartsch et al. (1999) in Isoenzym-Untersuchungen festgestellt.

Die baltischen Wildrüben haben einen relativ geringen Polymorphiegrad.

Die genetische Variabilität von Populationen ist ausschlaggebend für die Fähigkeit derselben auf variable Umweltbedingungen zu reagieren (Smith 1992) (Kap. 2.2.3). Zur Abschätzung der genetischen Diversität innerhalb einer Population können die

Polymorphiegrade und der Shannon's Index herangezogen werden (Kap. 3.5.2). In vorliegender Untersuchung konnte ein durchschnittlicher Polymorphiegrad von 22,85% und ein durchschnittlicher Shannon Index von 0,131 ermittelt werden. Die baltischen Populationen weisen einen durchschnittlichen Polymorphiegrad von 18,28% und einen durchschnittlichen Shannon Index von 0,104 auf. Beides sind vergleichsweise niedrige Werte, die noch unter den Werten liegen, die für die Kulturrüben ermittelt wurden. Grund dafür könnte ein Gründereffekt (founder effect) sein. Bekannt ist dieser vor allen Dingen bei Laborkulturen, die mit wenigen Individuen aufgebaut werden (Weinberg et al. 1992). Auch bei Kulturpflanzen kann davon ausgegangen werden, dass durch gezielte Selektion der Genpool eingeschränkt ist und die Polymorphiegrade eher gering sind.

Durch die Verdriftung von Samen durch die Meeresströmung mit einer nur geringen Anzahl von Gründerorganismen, wie er für *B. vulgaris* subsp. *maritima* im Bereich der Ostsee diskutiert wird (Christensen 1996, Driessen et al. 2001), könnte ein solcher Gründereffekt zustande kommen. Die Variabilität solcher Populationen kann noch weiter gesenkt werden, wenn unter bestimmten Bedingungen Flaschenhalseffekte (bottleneck effects) hinzukommen (Sperlich 1988): Bei ungünstigen Umweltbedingungen überleben nur die am besten angepassten Individuen. Individuen mit geringer individueller Anpassungsfähigkeit sterben ab. Für die nachfolgende Generation ist der Genpool noch weiter eingeschränkt.

Nach Wilmanns (1993) besitzen Organismen in Extremhabitaten eine hohe Diversität. Diese soll als Überlebensstrategie helfen, da hohe Polymorphiegrade als Spektrum möglicher Reaktionen auf Schwankungen der Umweltbedingungen gedeutet werden. Bei *Beta* wird dies dadurch gefördert, dass Selbstbefruchtung durch bedingte Selbstinkompatibilität (Knapp 1958, Bruun et al. 1995) erschwert und Fremdbestäubung durch Windbestäubung unterstützt wird. Rübenpollen kann große Distanzen überwinden (Kapteijns 1993). Die dennoch eher geringen Polymorphiegrade und der eher geringe Shannon-Index (Kap. 4.5.1) könnten bedeuten, dass die baltischen Populationen einem erheblichen Gründer- und/oder Flaschenhalseffekt unterlegen sein müssen. Dies unterstützt die These, dass die Rüben über Ballastsand eingeschleppt wurden und sich anschließend von Marstal aus weiterverbreitet haben (Kap. 2.1.4). Die sehr geringen Polymorphiegrade und die große Ähnlichkeit zwischen den Populationen im Ostseeraum könnten auch darauf hindeuten, dass die kartierten und untersuchten Populationen nicht sehr alt sind und die

Ausbreitung erst in jüngerer Zeit erfolgt ist. Dafür spricht auch die Tatsache, dass man bisher davon ausgegangen war, dass *B. vulgaris* ssp. *maritima* nicht oder nur in Einzelfällen an der deutschen Ostseeküste vorkommt.

Nach der RFLP-Methode gehören alle baltischen Wildrüben dem gleichen Mitotyp an.

Mit Hilfe der Analyse der mitochondrialen DNA auf Polymorphismen in den Restriktionsschnittstellen (Kap. 3.5.3 und 4.5.2) war es nicht möglich, die Populationen im Ostseeraum voneinander abzugrenzen und weitere Differenzierungen vorzunehmen. Alle untersuchten Individuen gehörten dem gleichen Mitotyp (Typ E) an. Wehres (2001) lieferte bereits Hinweise darauf, dass zumindest die deutschen Wildrüben im Ostseeraum alle dem gleichen Mitotyp angehören könnten. Dennoch ist dies erstaunlich, da sich die Methode in früheren Untersuchungen und bei anderen Populationen als geeignet herausgestellt hatte, um Wildrüben-Populationen zu charakterisieren und genetische Distanzen zu berechnen (Desplanque 1999). In einem vergleichsweise ähnlich großen französischen Untersuchungsgebiet konnten zum Beispiel 14 verschiedenen Mitotypen gefunden werden. Die Untersuchung von Polymorphismen der mitochondrialen DNA ist in dieser Form für die Populationen nicht geeignet, um populationsgenetische Aussagen zu treffen. Mit Hilfe der empfindlicheren RAPD-Methodik war es im Gegensatz dazu möglich, eine genetische Verschiedenartigkeit aufzudecken.

Die baltischen Rüben sind "echte" Wildrüben.

Abschließend wurde der Frage nachgegangen, ob die gefundenen Wildrüben das Resultat der Einschleppung und Verwilderung von Kultur- oder Unkrautformen sind (Kap. 2.1.5, Hypothese 2). Zwar sprechen schon die Ergebnisse aus der RAPD-PCR-Analyse dafür, dass es sich bei den baltischen Wildrüben um „echte“ Wildrübenvorkommen handelt (Driessen 1999, Driessen et al. 2001), doch wurde zur Überprüfung noch ein weiterer Test auf das Vorhandensein von CMS durchgeführt (Kap. 3.6). Da das Owen-CMS (Kap. 2.2.2) weltweit in der Rübenzüchtung eingesetzt wird und durchgängig bei allen Kulturformen zu finden ist, lag somit ein zuverlässiger Marker vor, um diese Frage zu beantworten. Dabei stellte sich heraus, dass in keiner der baltischen Populationen CMS vorhanden war (Kap. 4.6). Folglich ist es zu keiner Samenverdriftung aus Zuckerrübenfeldern in

Wildrübenhabitats gekommen und der Ursprung der gefundenen Wildrübenpopulationen stammt nicht von Kulturrüben.

Folgt man den Ergebnissen aus der RAPD-PCR-Analyse (Kap. 4.5.1), könnten die baltischen Wildrüben aufgrund ihrer engen Verwandtschaftsverhältnisse am ehesten von der Population der Insel Helgoland abstammen. Der Mitotyp E allerdings wurde in früheren Untersuchungen vor allem bei Wildrüben vom Mittelmeer und in Ruderalrüben gefunden (Kap. 3.5.3). Über welchen Mitotyp die Population der Insel Helgoland verfügt, ist nicht bekannt. Sollen die Ergebnisse aus der RAPD-PCR-Analyse untermauert und die Abstammung der baltischen Populationen weiter analysiert werden, ist eine Untersuchung des Mitotyps auf jeden Fall nachzuholen.

5.5 Die Bedeutung der Wildrüben als pflanzengenetische Ressource

Die Funde von *B. vulgaris* subsp. *maritima* spielen eine wichtige Rolle beim Erhalt pflanzengenetischer Diversität. Der Schutz pflanzengenetischer Ressourcen ist nicht nur Inhalt des Weltzustandsberichts der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen, sondern auch wesentlicher Bestandteil der "Konvention über die Biologische Vielfalt". Die Konvention wurde im Juni 1992 auf der Konferenz der Vereinten Nationen für Umwelt und Entwicklung in Rio de Janeiro verabschiedet. Auch Deutschland unterzeichnete und ratifizierte dieses internationale Abkommen. Im Grundsatz wird die Erhaltung und nachhaltige Nutzung biologischer Vielfalt gefordert.

Die Konvention umfasst ausdrücklich auch die „Vielfalt innerhalb der Arten“ (Artikel 2). Als genetische Ressource im Sinne der Konvention ist die innerartliche genetische Variabilität von potenziellem wirtschaftlichem Interesse, etwa bei der Einbringung von genetischem Material (z.B. Resistenzgenen) aus „wilden“ Organismen in Nutztiere und -pflanzen in Form von Einkreuzungen und/oder Erzeugung transgener Organismen. Mit Hilfe eines großen Genreservoirs in Wildpflanzen können Nutzpflanzen gegen Schädlinge, Krankheiten und ungünstige Witterungsbedingungen widerstandsfähiger gemacht werden. Auf diese Weise leisten sie einen Beitrag zur Anbausicherheit der Sorten und eventuell in Zukunft zur Nahrungssicherung in der Dritten Welt (Uppenbrink 1996). Genetische Ressourcen haben neben einer wirtschaftlichen und ökologischen auch eine kulturelle

Bedeutung. Ihre Erhaltung ist auch aus ethischer Sicht geboten (Oetmann). Bei *Beta* ist die genetische Diversität der Wildvorkommen besonders von großem züchterischem Interesse. Es existieren weltweit *Beta*-Genbanken (*ex situ*-Erhaltung), da wildlebende genetische Ressourcen durch Störung, Belastung, Zerschneidung und Verlust von Habitaten stark gefährdet sind.

5.6 Die Bedeutung der Wildrüben als Kreuzungspartner für transgene Zuckerrüben

Pollenflug und Genfluss von Kulturrüben zu Populationen von Wildrüben im Bereich der Ostsee ist grundsätzlich möglich. Dies wurde beispielhaft für die Insel Fehmarn, Hauptverbreitungsgebiet von *B. vulgaris* subsp. *maritima* in Deutschland, belegt: Zuckerrübenfelder befinden sich in der Nähe zu kartierten Wildrüben-Habitaten und blühende Kulturrüben (Schosser- bzw. Unkrautrüben) waren auf allen Feldern vorhanden. Somit spielen Wildrüben auch in Deutschland als Kreuzungspartner von Kulturrüben eine bedeutende Rolle, da sie die Möglichkeit bieten, dass Transgene in Wildpopulationen auskreuzen können.

Theoretisch gibt es zwei Möglichkeiten für eine unkontrollierte Ausbreitung genetischer Information transgener Pflanzen: Ganze Individuen entweichen in Form von Samen, verwildern und gründen neue Populationen (1) oder Gene entweichen über den Pollen in den natürlichen Genpool derselben oder verwandter Arten (2) und verändern möglicherweise deren Eigenschaften (Sentker et al. 1994). Pflanzen müssen ein bestimmtes Invasions- oder Verwilderungspotential besitzen, um sich, wie unter Punkt 1, erfolgreich in einem neuen Habitat als Population durchsetzen zu können. Dazu gehören schnelles Wachstum, die Möglichkeit der Selbstbefruchtung, hohe Konkurrenzfähigkeit sowie die Fähigkeit zur Produktion vieler fruchtbarer Samen (Wöhrmann et al. 1996). Schon das kurzzeitige Auftreten eines fremden Organismus könnte so Interaktionen zwischen den Arten beeinflussen und das jeweilige Habitat verändern (Tomiuk und Loeschke 1993). Für eine Auskreuzung von (transgenen) Eigenschaften von Zuckerrüben durch Pollen (gemäß Punkt 2) müssen Spender- und Empfängerpflanzen gleichzeitig blühen.

Zuckerrüben blühen aufgrund der Zweijährigkeit der Kulturform in der Regel nicht, da sie bereits im ersten Jahr geerntet werden. Dennoch gibt es gelegentlich Individuen, die bereits im ersten Jahr schossen und blühen (Kap. 2.2.1). Kommen transgene Kulturrüben jedoch in die generative Phase, ist eine Auskreuzung transgener Eigenschaften möglich. Da Rübenpollen über 1000 m verbreitet werden kann (Kapteijns 1993, Saeglitz et al. 2000), können auch weit entfernte Wildrüben erreicht werden (vgl. auch Kap. 6.1). Von hier aus könnten die etablierten "trans-Gene" auch wieder zurück in nicht transgene Schosserrüben anderer landwirtschaftlicher Flächen einstäuben. Sie stellen dann dementsprechend ein Reservoir für veränderte Gene dar (siehe dazu auch Kap. 6).

6. Ausblick

Die Wildrübenbestände an Deutschlands Ostseeküste spielen im Rahmen eines erforderlichen Langzeitmonitorings, welches durch die Richtlinie 2001/18 EG zur Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen gemäß Anhang VII vorgeschrieben ist, eine wichtige Rolle.

Dabei gibt es verschiedene Phasen eines Monitorings: Im Rahmen von Freisetzungen gemäß "Part B" der Freisetzungsrichtlinie wird häufig ökologische Begleitforschung speziell zu dem jeweiligen Freisetzungsvorhaben (release related monitoring part B) durchgeführt (1). Wird eine Inverkehrbringensgenehmigung und Sortenzulassung erteilt, die für den kommerziellen Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen erforderlich sind, beginnt das fallspezifische Monitoring (case specific monitoring part C) (2). Eine erforderliche generelle Umweltüberwachung (general surveillance part C) (3), die ebenfalls durch die Richtlinie vorgeschrieben ist, sollte zum frühestmöglichen Zeitpunkt, möglichst vor dem Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen beginnen, um in ausreichendem Umfang Basisdaten zur Verfügung zu haben. Basisdaten sind wichtig, um ausgehend von einem bestimmten Ist-Zustand eventuelle Effekte gentechnisch veränderter Pflanzen aufdecken und messen zu können. Nach ergänzenden Leitlinien (2002/811/EG) zum Anhang VII der oben genannten Freisetzungsrichtlinie ist aber auch ein paralleles Monitoring zu gleichzeitig erhobenen Basisdaten auf Referenzflächen möglich.

6.1 Empfehlung für ein Populationsmonitoring

Auf Grundlage dieser Arbeit können wichtige Punkte für einen Monitoringplan abgeleitet werden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Monitoring und Instrumente für ein Monitoring nicht statisch festgelegt werden können. Umweltbeobachtung sollte ein Prozess sein, der immer wieder neu bewertet wird und dessen Methoden entsprechend angepasst werden.

Die im folgenden aufgelisteten Parameter beziehen sich insbesondere auf die Phasen 2 (case specific monitoring part C) und 3 (general surveillance part C) eines zukünftig durchzuführenden Monitorings:

- Grundvoraussetzung für alle weiteren Arbeiten ist die Kenntnis von den Standorten von *B. vulgaris* subsp. *maritima*. Kartierungsarbeiten sind deswegen fortzuführen und auszuweiten.
- Anhand von repräsentativen Populationen können Untersuchungen zur genetischen Charakterisierung fortgeführt werden: Soll eine Änderung der genetischen Diversität bei einem Monitoring berücksichtigt werden, bietet es sich an, auf empfindliche RAPD- oder AFLP-Marker zurück zu greifen. Als Basislinie können die Werte dieser Arbeit zugrunde gelegt werden (Kap. 4.6). Es sei allerdings darauf hingewiesen, dass aufgrund der dokumentierten geringen genetischen Diversitäten nicht damit zu rechnen ist, dass durch Einstäubungen durch Kulturrüben, gleich welcher Art, diese noch weiter reduziert werden. Auf eine Analyse mitochondrialer DNA mit Hilfe von derzeit gängigen RFLP-Markern kann bei den baltischen Populationen verzichtet werden, da sie bei den baltischen Populationen wenig geeignet sind, über diese Arbeit hinausgehende Aussagen zu treffen (Kap. 4.7).
- Soll untersucht werden, ob es zu Verwilderung von Kulturrüben aus Rübenfeldern in Wildrübenhabitats kommt, bietet sich die beschriebene Untersuchung von CMS als schnelle, zuverlässige, einfache und kostengünstige Methode an.
- Genetische Marker für den Pollenflug von Kulturrüben in Wildrübenhabitats liegen derzeit nicht vor. Dies wird sich ändern, wenn gentechnisch veränderte Zuckerrüben in Verkehr gebracht werden und damit spezifische Marker für die neu eingeführten Merkmale vorliegen.

Es stellt sich die Frage, welchen Sinn der Nachweis von Genfluss oder "fremder" DNA im Ökosystem macht. Theoretisch kann davon ausgegangen werden, dass es zu Genfluss aus Kulturrübenbeständen in Wildrübenbestände kommen wird, wenn diese in großem Maßstab angebaut werden. Dabei kommt es nicht darauf an, in welchem Umfang Genfluss stattfinden wird. Sollte tatsächlich ein Merkmal bestimmten Kreuzungspartnern einen Vorteil verschaffen, wird sich dies vermutlich unabhängig vom Umfang des Genflusses langfristig gesehen bemerkbar machen. Wichtig ist die ökologische Relevanz neu eingebrachter Merkmale, d.h. ob ein neu eingebrachtes Merkmal die Fitness eventueller Hybride erhöht oder erniedrigt.

Sollte es politischer Wille sein, genetische Ressourcen grundsätzlich vor eventuellen Einflüssen von Kulturrüben zu schützen, sollte diskutiert werden, ob nicht generell ein

Isolationsabstand von Feldern mit relevanten Kulturrüben zu Wildrübenbeständen gefordert wird. Ökologisch gesehen macht dies allerdings nur dann Sinn, wenn dieser nicht nur für transgene Zuckerrüben gilt, sondern auch für solche Kulturrüben, die durch ihre Eigenschaften Effekte auf Wildrüben haben könnten, also zum Beispiel konventionell gezüchtete Rüben mit vergleichbaren Eigenschaften (z.B. Nematodenresistenz, Heller et al. 1996, Cai et al. 1997).

7. Zusammenfassung

Die Wildrübe *Beta vulgaris* subsp. *maritima* hat im Zusammenhang mit der Diskussion zum Inverkehrbringen transgener Kulturrüben eine hohe Bedeutung erlangt: Sie ist Kreuzungspartner und bietet somit die Möglichkeit einer unerwünschten Auskreuzung gentechnisch veränderter Eigenschaften. In Deutschland kommt sie in der Nähe von Anbaugebieten der Kulturrüben im Bereich der Ostsee vor. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die baltischen Populationen möglichst genau zu charakterisieren, um auf diese Weise Basisdaten zu generieren, auf deren Grundlage eventuelle ökologische Effekte transgener Kulturrüben gemessen werden können.

Es konnte gezeigt werden,

- dass es sich bei den dokumentierten Funden tatsächlich um Wildrüben und nicht um verwilderte Kulturrüben handelt. Ein Merkmal für cytoplasmatisch männliche Sterilität (CMS), das bei Kultur- und Unkrautrüben vorhanden ist, konnte mit Hilfe eines spezifischen molekularen Markers bei den untersuchten Populationen nicht gefunden werden.
- dass sich *B. vulgaris* subsp. *maritima* im Laufe der letzten Jahre an der deutschen Ostseeküste etabliert hat und weiter auszubreiten scheint. 1997 wurden an fünf Standorten 62 Individuen kartiert, 2001 waren es 560 an 16 Standorten.
- dass der Grund für diese Ausbreitung nach ausgewerteten Temperaturdaten zunehmend wärmere Winter sein könnte. Zumindest seit Beginn der Untersuchungen im Jahr 1997 konnten im Verhältnis zu den letzten Jahrzehnten überwiegend milde Winter verzeichnet werden.
- dass bei Freilandversuchen ein Teil der baltischen Populationen im ersten Jahr blühte und ein Teil heterozygot für das Gen *B* zu sein scheint. Dies deckten molekulare AFLP-Marker auf, die eng mit dem Gen gekoppelt sind. Der gängigen Annahme, nordeuropäische Wildrüben würden erst im zweiten Jahr blühen und über die homozygot rezessive Form (*bb*) des *B*-Gens verfügen, wird damit widersprochen. Gekoppelt mit ausreichend langen Vegetationszeiten könnte dies ein weiterer Grund für die Ausbreitung von *B. vulgaris* subsp. *maritima* sein.
- dass die baltischen Wildrüben nach zwei unterschiedlichen molekularen Methoden (RAPD-PCR und RFLP) eine verhältnismäßig geringe genetische Diversität (Polymorphiegrad: 18,28%) und eine enge Verwandtschaft untereinander aufweisen.

Im Vergleich zu weiteren europäischen Populationen bilden sie in Stammbäumen ein eigenes und isoliert stehendes Cluster.

Für ein Monitoring nach Inverkehrbringen transgener Kulturrüben sollten die Kartierungsarbeiten fortgesetzt und regelmäßige Untersuchungen zur genetischen Diversität durchgeführt werden. Auf diese Weise kann die natürliche Schwankungsbreite beobachtet und ein eventueller zusätzlicher Effekt nach Inverkehrbringen frühzeitig aufgedeckt werden. Mit Hilfe spezifischer Marker (z.B. auf CMS) können zusätzlich Aussagen über Genfluss von Kulturrübenbeständen in Wildrübenhabitats gemacht werden.

Abstract

B. vulgaris subsp. *maritima* (wild beet) has reached a high importance in the context of the deliberate release of genetically modified cultivated beets: as potential crossing partner it facilitates an uncontrollable outcrossing of genetically modified traits. In Germany, it occurs within a short distance to sugar beet fields in the region of the Baltic Sea.

The aim of this study was to characterise these Baltic populations in detail. This way, baseline-data can be generated to measure possible ecological effects of transgenic sugar beets.

It was shown

- that the documented beets are really true wild beets and not escaped cultivated beets. A characteristic of cytoplasmic male sterility (CMS), that occurs in cultivated and weed beets, could not be found in the investigated populations.
- that *B. vulgaris* subsp. *maritima* has established during the last years at Germany's Baltic Sea coast. It still seems to spread out. In 1997 there have been 62 individuals at 5 locations, in 2001 there have been more than 560 individuals at 16 locations.
- that increasing warmer winters could be the reason for this spread. At least since 1997, beginning of the investigation, there have been warmer winters in comparison to the last decades.
- that one part of the Baltic populations bolts and flowers in the first year and it seems to be heterozygous for the gene *B*. This disagrees with the general acceptance, that northern European wild beets would flower in the second year and are homozygous

recessive (*bb*) for the gene. Together with vegetation periods long enough, this could be a further reason for the spread of *B. vulgaris* subsp. *maritima*.

- that the Baltic wild beets have a relatively low genetic diversity (18.28%) and a close relationships among themselves. Compared to further European populations in a dendrogram, they form their own, isolated cluster.

With regard to a monitoring after deliberate release of transgenic cultivated beets, the mapping work should go on and regular investigations of the genetic diversity should be carried out. That way natural variation could be noticed and a possible additional effect after deliberate release could early be detected. Via specific markers (i.e. CMS), gene flow from cultivated beet fields to wild beet habitats can be measured.

Résumé

B. vulgaris subsp. *maritima* (la betterave sauvage) a pris une importance considérable dans le contexte de la dissémination des betteraves cultivées génétiquement modifiées: comme partenaire naturel de croisement, elle permet potentiellement une fuite des traits génétiquement modifiés. En Allemagne cette espèce est trouvée à proximité des champs de betteraves sucrières dans la région de la côte baltique.

Le but de cette étude était de caractériser de manière détaillée ces populations baltes. De cette manière des bases de données peuvent être générées pour mesurer les effets écologiques des betteraves sucrières transgéniques.

Il a été montré:

- que les betteraves trouvées sont des vraies betteraves sauvages et non pas des betteraves cultivées issues des champs. Un marqueur de la stérilité mâle-cytoplasmique (CMS), typique pour toutes les betteraves cultivées et mauvaises herbes, n'a pas été trouvé dans les populations littorales étudiées.
- que *B. vulgaris* subsp. *maritima* s'est installée sur la Côte Baltique pendant les années dernières et elle semble toujours s'étendre. En 1997 il y avait 62 individus à 5 endroits, en 2001 c'étaient plus de 560 à 16 endroits.
- que la cause de cette propagation pourrait être due à une augmentation de la fréquence des hivers plus doux. Au moins depuis le début de cet étude en 1997 il y avait des hivers plus doux en comparaison de dernière dizaine d'années.

- qu'une partie des populations baltes fleurit pendant la première année et semble d'être hétérozygote pour le gène *B*. Cette observation contredit la supposition générale, que les betteraves sauvages de l'Europe du Nord fleurissent pendant la deuxième année et seraient homozygote récessive (*bb*) pour le gène *B*. Avec des périodes de végétation assez long, ça pourrait être un autre raison de l'étendue de *B. vulgaris* subsp. *maritima*.
- que la diversité génétique des betteraves baltiques est relativement faible (18.28%) et que les populations sont très proches entre elles. Comparées aux autres populations européennes dans un dendrogramme elles forment un cluster isolé.

En ce qui concerne un monitoring après la dissémination des betteraves cultivées transgéniques les travaux de localisation devraient être continués et des analyses régulières sur la diversité génétique devraient être conduites. De cette manière la variation naturelle peut être évaluée et un effet supplémentaire après dissémination peut être détecté. A l'aide des marqueurs spécifiques (i.e. CMS) le flux de gènes des champs de betteraves cultivées aux habitats naturels peut être mesuré.

8. Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

- Abe, J., Guan, G.-P. & Shimamoto, Y. (1997): A gene complex for annual habit in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Euphytica*, 94: 129-135.
- Abegg, F.A. (1936): A genetic factor for the annual habit in beets and linkage relationship. *Journal of Agricultural Research*, 53: 493-511.
- Aellen, P. (1979): *Chenopodiaceae*. In: Redinger, K.H. & Hegi, G. (eds.): *Illustrierte Flora von Mitteleuropa II/2*, 2. Auflage, 533-747.
- Allefs, J.J.H.M., Salentijn, E.M.J., Krenz F.A. & Rouwendal, G.J.A. (1990): Optimization of non-radioactive Southern-blot hybridization, single-copy detection and re-use of blots. *Nucleic Acids Research*, 18: 3099-3100.
- Arriola, P.E. & Ellstrand, N.C. (1996): Crop-to-weed gene flow in the genus *Sorghum* (*Poaceae*): spontaneous interspecific hybridization between johnsongrass, *Sorghum halepense*, and crop sorghum, *S. bicolor*. *American Journal of Botany*, 83 (9): 1153-1160.
- Barocka, K. H. (1985): Zucker- und Futterrüben, in: Hoffmann, W., Mudra, A. & Plarre, W.: *Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen*. Bd. 2, Spezieller Teil, Paul Parey Verlag, 245-287.
- Bartsch, D. & Pohl-Orf, M. (1996): Ecological aspects of transgenic sugar beet: transfer and expression of herbicide resistance in hybrids with wild beets. *Euphytica*, 91: 55-58.
- Bartsch, D. & Ellstrand, N.C. (1999): Genetic evidence for the origin of Californian wild beets (genus *Beta*). *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1120-1130.
- Bartsch, D., Lehnen, M., Clegg, J., Pohl-Orf, M., Schuphan, I. & Ellstrand, N.C. (1999): Impact of gene flow from cultivated beet on genetic diversity of wild sea beet populations. *Molecular Ecology*, 8: 1733-1741.
- Bartsch, D. & Schmitz, G. (2002): Recent experience with biosafety research and role of post-market environmental monitoring in risk management of plant biotechnology derived crops. In: Thomas, J. & Fuchs, R. (eds): *Biotechnology and Safety Assessment 3rd Edition*. Academic Press (in press).
- Boudry, P., Mörchen, M., Saumitou-Laprade, P., Vernet, P. & Van Dijk, H. (1993): The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 471-478.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. & Jung, C. (1994): Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene *B* and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 852-858.
- Boudry, P., McCombie, H. & Van Dijk, H. (2002): Vernalization requirement of wild beet *Beta vulgaris* ssp. *maritima*: among population variation and its adaptive significance. *Journal of Ecology*, 90 (4): 693-703.
- Box, E.O., Crumpacker, D.W. & Hardin, E.D. (1999): Predicted effects of climatic change on distribution of ecologically important native tree and shrub species in Florida. *Climatic Change*, 41 (2): 213-248.
- Bruun, L., Haldrup, A., Petersen, S.G., Frese, L., de Bock, T.S.M. & Lange, W. (1995): Self-incompatibility reactions in wild species of the genus *Beta* and their relation to taxonomical classification and geographical origin. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 128: 123-136.

- Buttler, K. P. (1977): Variation in Wild Populations of Annual Beet (*Beta*, *Chenopodiaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 128: 123-136.
- Cai, D., Kleine, M., Kifle, S., Harloff, H., Sandal, N.N., Marcker, K.A., Klein-Lankhorst, R.M., Salentijn, E.M.J., Lange, W., Stieckema, W.J., Wyss, U., Grundler, F.M.W. & Jung, C. (1997): Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet, *Science*, 275: 832-834.
- Christensen, E. (1996): Neuer Fund der Betarübe an Schleswig-Holsteins Ostseeküste, *Kieler Notizen zur Pflanzenkunde in Schleswig-Holstein und Hamburg*, 24: 30-38.
- Collatz, G.J., Berry, J.A. & Clark, J.S. (1998): Effects of climate and atmospheric CO₂ partial pressure on the global distribution of C₄ grasses: Present, past, and future. *Oecologia*, 114 (4): 441-454.
- Cronn, R., Brothers, M., Klier, K. & Bretting, P.K. (1997): Allozyme variation in domesticated annual sunflower and its wild relatives. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 432-545.
- Cuguen, J., Wattier, R., Saumitou-Laprade, P., Forcioli, D., Mörchen, M., Van Dijk, H. & Vernet, P. (1994): Gynodioecy and mitochondrial DNA polymorphism in natural populations of *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Genetics Selection Evolution*, 26 (1): 87s-101s.
- Curtis, W.M. (1967): The student's flora of Tasmania. In: Hughes, T.J. (ed.), *Government Printer, Tasmania, Part 3*, 573.
- Darmency, H. (1994): The impact of hybrids between genetically modified crop plants and their relative species: introgression and weediness. *Molecular Ecology*, 3: 27-40.
- Davis, A.J., Jenkinson, L.S., Lawton, J.H., Shorrocks, B. & Wood, S. (1998): Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature*, 391 (6669): 783-786.
- Desplanque, B., Boudry, P., Broomberg, K., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. & Van Dijk, H. (1998): Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* (*Chenopodiaceae*) assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 1194-1201.
- Desplanque, B. (1999) *Betteraves mauvaises herbes et rudérales: diversité génétiques, traits d'histoire de vie et flux de gènes au sein du complexe d'espèces cultivées-sauvages Beta vulgaris* ssp. PhD Thesis, Université Lille 1, Frankreich.
- Desplanque, B., Viard, F., Forciolo, D., Bernard, J., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. & Van Dijk, H., (2000): The linkage disequilibrium between cpDNA and mtDNA haplotypes in *Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.): the usefulness of both genomes for population genetic studies. *Molecular Ecology*, 9: 141-154.
- Desprez, M. (1980): Observations et remarques sur la montée à graines chez la betterave sucrière. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 66: 44-53.
- De Vries, I.M. (1997): Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44: 165-174.
- Dewey, R.E., Levings, C.S. & Timothy, D.H. (1985): Nucleotide sequence of ATPase subunit 6 of maize mitochondria. *Plant Physiology*, 79: 914-919.
- Diekjost, H. (1981): Über ein Vorkommen von *Beta vulgaris* ssp. *maritima* am natürlichen Standort in der Eckernförder Bucht. *Kieler Notizen zur Pflanzenkunde in Schleswig-Holstein und Hamburg*, 13 (1/2): 38-41.
- Doebley, J. (1990): Molecular evidence for gene flow among *Zea* species; genes transformed into maize through genetic engineering could be transferred to its wild relatives, the Teosintes. *Bioscience*, 40 (6): 443-454.
- Doney, D. L., Whitney, E. D., Terry, J., Frese, L. & Fitzgerald, P. (1990): The distribution and dispersal of *Beta vulgaris* L. ssp. *maritima* germplasm in England, Wales, and Ireland. *Journal of Sugar Beet Research*, 27: 29-37.

- Driessen, S. (1999): Populationsökologische Untersuchungen zur Verbreitung von *Beta vulgaris* L. subsp. *maritima* ARCANG. im Küstengebiet von Nord- und Ostsee unter besonderer Berücksichtigung ihrer genetischen und morphologischen Variabilität. Diplomarbeit. RWTH-Aachen.
- Driessen, S., Pohl, M. & Bartsch, D. (2001): RAPD-PCR analysis of the genetic origin of sea beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) at Germany's Baltic Sea coast. *Basic and Applied Ecology*, 2: 341-349.
- Ellstrand, N.C. (2001): When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology*, 125 (4): 1543-1545.
- El-Mezawy, A., Dreyer, F., Jacobs, G. & Jung, C. (2002): High-resolution mapping of the bolting gene *B* of sugar beet. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 100-105.
- Engan, G. (1994): Strandbete, *Beta vulgaris* ssp. *maritima* funnet sponton i Norge. *Blyttia*, 52: 39-42.
- Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 777-783.
- Hansen, A. (1968): *Beta maritima* L. – Strand-Bede. *Botaniske Tidsskrift*, 63: 222-225.
- Hansen, A. & Pedersen, A. (1959): Noter om dansk flora og vegetation, 8. Spredningen af Strand-Bede (*Beta maritima*) i det dansk-svenske område. *Flora og Fauna*, 65: 82-87.
- Hegi, G. (1979): *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, Parey-Verlag, Bd. III, Teil 2, 550-569.
- Heller, R., Schondelmaier, J., Steinrücken, G. & Jung, C. (1996): Genetic localization of four genes for nematode (*Heterodera schachtii* Sch.) resistance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 92: 991-997.
- Helm J. (1957): Versuch einer morphologisch-systematischen Gliederung der Art *Beta vulgaris* L., *Züchter*, 27: 203-223.
- Hesse, P.R. (1999): Untersuchungen zur Herkunft von Unkrautpopulationen von *Beta vulgaris* L. in der norditalienischen Po-Ebene. Diplomarbeit, RWTH-Aachen.
- Hornsey, K. G. & Arnold, M. H. (1979): The origin of weed beet, *Annals of Applied Biology*, 92: 279-285.
- Huang, H., Dane, F. & Kubisiak, T.L. (1998): Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American Chestnut (*Fagaceae*). *American Journal of Botany*, 85: 1013-1021.
- Ibelgaufts, H. (1993): *Gentechnologie von A-Z*. Studienausgabe, VCH.
- Iverson, L.R. & Prasad, A.M. (1998): Predicting abundance of 80 tree species following climate change in the eastern United States. *Ecological Monographs*, 68 (4): 465-485.
- Kapteijns, A.J.A.M. (1993): Risk assessment of genetically modified crops. Potential of four arable crops to hybridize with the wild flora. *Euphytica* 66, 145-149.
- Kerlan, M.C., Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A. & Renard, M. (1992): Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species. I. Interspecific hybrid production under optimal conditions with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica*, 62: 145-153.
- Klinger, T., Arriola, P.E. & Ellstrand, N.C. (1992): Crop-weed hybridization in radish (*Raphanus sativus*): effects of distance and population size. *American Journal of Botany*, 79: 1431-1435.
- Knapp, E. (1958): Beta-Rüben, *Handbuch der Pflanzenzüchtung*. Bd. 3, Züchtung der Knollen- und Wurzelfruchtarten, Kappert, H. & Rudorf, W. (eds.), Paul Parey Verlag, 196-283.
- Lange, W., Brandenburg, W.A. & De Bock, T.S.M. (1998): Proposal for a new taxonomical classification of the cultivated forms of beet, *Beta vulgaris* L. In: Frese, L., Panella, L., Srivastava, H.M. & Lange, W. (eds.): *International Beta Genetic Resources Network*. A report on the 4th International *Beta* Genetic Resources

- Workshop and World *Beta* Network Conference held at the Aegean Agricultural Research Institute, Izmir, Turkey. International Crop Network Series. 12. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 16-22.
- Lanner-Herrera, C., Gustafsson, M., Fält, A.-S. & Bryngelsson, T. (1996): Diversity in natural populations of wild *Brassica oleracea* as estimated by isozyme and RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43: 13-23.
- Lawson, W.R. & Henry, R.J. (1994): Genetic diversity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) as revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45: 1319-1327.
- Le Cohec, F. & Soreau, P. (1989): Mode d'action des gènes et hétérosis pour le caractère montée à graines dans le croisement de deux lignées fixées de betteraves à sucre (*Beta vulgaris* L.). *Agronomie*, 9: 585-590.
- Lefol, E., Danielou, V., Darmency, H., Kerlan, M.C., Vallee, P., Chèvre, A., Renard, M. & Reboud, X. (1991): Escape of engineered genes from rapeseed to wild *Brassicaceae*. *Crop Protection Conference*, Brighton UK, 7: 1049-1056.
- Letschert, J.P.W. (1993): *Beta* section *Beta*, biogeographical patterns of variation and taxonomy. Wageningen Agricultural University Papers, 1-153.
- Levin, R. (1969): Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 15: 237-240.
- Margara, J. (1960): Recherches sur le déterminisme de l'élongation et de la floraison dans le genre *Beta*. *Annales d'Amélioration des Plantes*, 10: 361-471.
- Martin, G.B. (1998): Gene discovery for crop improvement. *Current opinion in Biotechnology*, 9: 220-226.
- Mitchellmore, R.W., Paran, I. & Kesseli, R.V. (1991): Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 88: 9828-9832.
- Munerati, O. (1931): L'eredità della tendenza alla annualità nella comune barbabietola coltivata. *Zeitschrift Züchtung, Reihe A, Pflanzenzüchtung* 17: 84-89.
- Nei, M. & Li, W.H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 76: 5269-5273.
- Oetmann, A.: Genetische Ressourcen für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Schriftenreihe des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A: Angewandte Wissenschaft, Heft 487.
- Owen, F.V. (1942): Male sterility in sugar beets produced by complementary effects of cytoplasmic and Mendelian inheritance (abstr), *American Journal of Botany*, 29: 692.
- Pohl-Orf, M. (1999): Untersuchungen zur Ausbreitungswahrscheinlichkeit transgener Eigenschaften gentechnisch veränderter Zuckerrüben, *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* – Überwinterung, Überdauerung in Brachsukzessionen und RAPD-PCR zur molekularen Analyse verwandtschaftlicher Beziehungen. PhD Thesis. RWTH-Aachen.
- Pohl-Orf, M., Brand, U., Driessen, S., Hesse, P.R., Lehnen, M., Morak, C., Mücher, T., Saeglitz, C., von Soosten, C. & Bartsch, D. (1999): Overwintering of genetically modified sugar beet, *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*, as a source for dispersal of transgenic pollen. *Euphytica*, 108: 181-186.
- Raabe, E.W. (1970): *Beta vulgaris* in Schleswig-Holstein. *Kieler Notizen zur Pflanzenkunde in Schleswig-Holstein und Hamburg*, 2 (6): 2.
- Raabe, E.W. (1987): Atlas der Flora Schleswig-Holsteins und Hamburgs. In: Dierßen, K. & Mierwald, K. (eds.), Wachholtz, Neumünster: 89.

- Ran, Z. & Michaelis, G. (1995): Mapping of a chloroplast RFLP marker associated with the CMS cytoplasm of sugar beet (*Beta vulgaris*). Theoretical and Applied Genetics, 91: 836-840.
- Raybould, A.F. & Gray, A.J. (1993): Genetically modified crops and hybridization with wild relatives: a UK perspective. Journal of Applied Ecology, 30: 199-219.
- Rogers, H.J. & Parkes, H.C. (1995): Transgenic plants and the environment. Journal of Experimental Botany, 46: 467-488.
- Rothmaler, W. (1990): Exkursionsflora von Deutschland. Schubert, v. R. & Vent, W. (eds.), Volk und Wissen Verlag, Berlin, Kritischer Band, 166.
- Rothmaler, W. (1995): Exkursionsflora von Deutschland, Eckehardt, J. & Werner, K. (eds.), Gustav Fischer Verlag, Jena, Atlasband, 110.
- Sadeghian, Y.W. (1993): Bolting in sugar beet, genetics and physiological aspects. The Swedish University of Agricultural Science, Department of Plant Breeding Research, Svalov.
- Saeglitz, C., Pohl, M. & Bartsch, D. (2000): Monitoring gene flow from transgenic sugar beet using cytoplasmic male-sterile bait plants. Molecular Ecology, 9: 2035-2040.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987): The Neighbour-joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425
- Santoni, S. & Bervillé, A. (1992): Evidence for gene exchange between sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beets: consequences for transgenic sugar beets, Plant Molecular Biology, 20: 578-580.
- Saumitou-Laprade, P., Rouwendal, G.J.A., Cuguen, J., Krens, F.A. & Michaelis, G. (1993): Different CMS sources found in *Beta vulgaris* ssp. *maritima*: mitochondrial variability in wild populations revealed by a rapid screening procedure. Theoretical and Applied Genetics, 85: 529-535.
- Schmeil, O. (1990): Flora von Deutschland. 89. Auflage, Quelle & Meyer Verlag, Heidelberg Wiesbaden, 420.
- Sentker, A., Tomiuk, J. & Wöhrmann, K. (1994): Manipulierte Gene - sicher unter menschlicher Kontrolle? Biologie in unserer Zeit, 2: 85-90.
- Simpson, G.G. & Dean, C. (2002): Arapidopsis, the Rosetta Stone of Flowering Time? Science, 296: 285-289.
- Smit, A.L. (1983): Influence of external factors on growth and development of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). PhD thesis. Agricultural Research Reports, 914, Pudoc, Wageningen.
- Smith, J. M. (1992): Evolutionsgenetik. Georg Thieme Verlag.
- Sneath P. H. A. & Sokal, R. R. (1973): Numerical Taxonomy. W. Freeman, San Francisco.
- Snow, A. & Palma, P.M. (1997): Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks. BioScience, 47 (2): 86-97.
- Sperlich, D. (1988): Populationsgenetik: Grundlagen und experimentelle Ergebnisse, 2. Aufl., Gustav-Fischer Verlag.
- Suzuki, D.T., Griffiths, A. J. F., Miller, J. H. & Lewontin, R. C. (1991): Genetik. VCH.
- Tiedemann, R. (2001): Ökologische Genetik der Ostseekegelrobbe: Molekulare Methoden in der Erfassung biologischer Vielfalt. Erschienen in: Korn, H. & Feit, U. (2001): Treffpunkt Biologische Vielfalt, Bundesamt für Naturschutz.
- Tomiuk, J. & Loeschke, V. (1993): Conditions for the establishment and persistence of populations of transgenic organisms, in: Wöhrmann, K. & Tomiuk, J. (eds): Transgenic Organisms, Risk Assessment of Deliberate Release, Birkhäuser Verlag.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Weeb, D.A. (1964): Flora eurpoea, Band 1, Lycopodaceae to Plantaceae. Cambridge University Press, 91-92.

- Uppenbrink, M. (1996): Welternährung und Artenvielfalt. Spektrum der Wissenschaft, 11: 74-76.
- van de Peer, Y & de Wachter, R. (1994): TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment, Comput Applic Biosci, 10: 569-570.
- Van Dijk, H. & Boudry, P. (1991): Genetic variation of life-histories in *Beta maritima*. International Board of Plant Genetic Resources, 7: 44-55.
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. & Vernet, P. (1997): Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* subsp. *maritima*) along a latitudinal cline. Acta Ecologica, 18: 47-60.
- Vos, P., Hogers, R., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Freijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407-4414.
- Wagner, H. (1990): Genetische Untersuchungen und Kopplungsanalysen von Isoenzymen & morphologischen Markern bei *Beta vulgaris* L. PhD Thesis, Universität Bonn.
- Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. (2002): Ecological responses to recent climate change. Nature, 416: 389-395.
- Waugh, R. & Powell, W. (1992): Using RAPD markers for crop improvement, TIBTECH, 10: 186-191.
- Wehres, U. (2001): Untersuchungen zur Populationsdynamik und genetische Diversität von *Beta vulgaris* subsp. *maritima* an der deutschen Ostseeküste – Grunddaten für ein Monitoring nach Inverkehrbringen transgener Zuckerrüben. Diplomarbeit, RWTH-Aachen.
- Weinberg, J. R., Starczak, V. R. & Jörg, D. (1992): Evidence for rapid speciation following a founder event in the laboratory. Evolution, 46: 1214-1220.
- Williams, J. K. G., Kubelik, A. R., Rafalski, K. J. & Tingey, S. V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6531-6535
- Wilmanns, O. (1993): Ökologische Pflanzensoziologie. 5. Auflage, Quelle und Meyer Verlag, 479.
- Wink, M. & Wehrle, H. (1994): PCR im medizinischen und biologischen Labor. GIT Verlag.
- Wöhrmann, K., Tomiuk, J. & Braun, P. (1996): Die Problematik der Freisetzung transgener Organismen aus Sicht der Populationsbiologie. BIOGUM, 8: 16-28.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. & Boyle, T. (1997): Popgene version 1.21 – Microsoft window-based freeware for population genetic analysis user guide. University of Alberta, 1-27.

8.2 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Prozess- (Ursache- Wirkungsketten, Einbürgerung und Ausbreitung von Organismen, Evolution) und Organisationsebenen (Gen, Organismus, Population, Biozönose) in der klassischen und molekularen (grau unterlegt) Biologie, die in der ökologischen Wissenschaft behandelt werden. _____ 2
- Abb. 2:** *Beta vulgaris* subsp. *maritima* L. (Rothmaler 1995) _____ 6
- Abb. 3:** Dänische Ostsee und angrenzende Gebiete (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp) _____ 7
- Abb. 4:** Intraspezifischer Genfluss im Wild-/Unkraut-/Kulturrübengefüge innerhalb und außerhalb des Agrarökosystems (Bartsch et al. 2002, leicht modifiziert). _____ 10

Abb. 5: Genkarte im Bereich des <i>B</i> -Locus auf Chromosom II der Zuckerrübe. Die linke zeigt einen Abschnitt von 5 cM inklusive 17 Markern und das <i>B</i> -Gen. Die rechte Abbildung zeigt ein 0.64 cM großes Intervall im Bereich des <i>B</i> -Gens mit vier streng gekoppelten AFLP-Markern (nach El-Mezawy et al. 2002).	22
Abb. 6: AFLPs individueller Pflanzen der F ₂ -Population mit der Primer-Kombination P05. Der obere Pfeil zeigt das AFLP-Fragment b162, der unter Pfeil das Fragment B159. Beide Fragmente sind streng gekoppelt mit dem <i>B</i> -Gen. Schossende (<i>B</i>) und nicht schossende (<i>b</i>) Eltern dienten als Kontrolle (El Mezawy et al. 2002).	23
Abb. 7: Karte der sequenzierten cpDNA-Region. Schwarze Kästchen zeigen kodierende Regionen an. Die Lage der polymorphen <i>Hind</i> III-Schnittstelle ist eingezeichnet (Ran und Michaelis 1995).	32
Abb. 8: Übersicht über die untersuchten Rübenfundorte (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.)	35
Abb. 9: Übersicht über die Fundorte von <i>B. vulgaris</i> subsp. <i>maritima</i> an der deutschen Ostseeküste (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.). Die Angabe der Jahreszahl zeigt den Erstfund durch die Autorin an. Wie lange die Standorte tatsächlich existieren ist unbekannt.	36
Abb. 10: Typische plagiotrope Wuchsform einer Wildrübe, hier am Standort GE-1.	38
Abb. 11: Zuckerrübenfelder (1-5) auf Fehmarn in der Nähe zu Standorten von Wildrüben (Dreiecke), Karten: ATKIS [®] DTK200-V, © Bundesamt für Kartographie und Geodäsie 2004 (http://www.bkg.bund.de).	39
Abb. 12: Lage der Wetterstationen im Untersuchungsgebiet (Grundkarte © 1999 Microsoft Corp.)	40
Abb. 13: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen zwischen dem Breitengrad 53°5'N und 54°5'N (Erläuterungen zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).	41
Abb. 14: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen zwischen dem Breitengrad 54°6'N und 55°5'N (Erläuterung zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).	42
Abb. 15: Entwicklung der Winterhärte über die Zeit von Stationen über dem Breitengrad 56°6'N (Erläuterungen zu den Stationen siehe Tab. 5. GE: Deutschland, DK: Dänemark, S: Schweden).	42
Abb. 16: Temperaturverlauf von Mai 1999 bis Ende Juli 1999. Obere Kurve: Mittelwert der täglichen Temperaturen, untere Kurve: Tagestiefsttemperaturen.	45
Abb. 17: Verlauf der gemessenen Tiefsttemperaturen im Untersuchungszeitraum (September 1998 bis Mai 1999)	47
Abb. 18: AFLPs individueller Pflanzen verschiedener Populationen mit der Primer-Kombination P05. In der rechten Spur befindet sich der Längenmarker. Die Lage der Fragmente b162 und B159 ist eingezeichnet.	49
Abb. 19: Phänogramm aus der UPGMA-Clusteranalyse. Signifikante Bootstrapwerte (>89%) sind an den betreffenden Verzweigungen eingefügt (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).	54
Abb. 20: Phänogramm aus der Neighbour-Joining-Clusteranalyse (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3)	55
Abb. 21: Gelbild nach der Restriktion mit <i>Hind</i> III. In Spur 1-3 und 8-10 ist das unverdaute Fragment (Kap. 3.6) zu sehen, wie es bei Rüben vorkommt, die das Merkmal für CMS nicht tragen. Bei den Kulturrüben dagegen (Spur 4, 5 und 7) ist eines der beiden kleineren Fragmente zu sehen, das nach Restriktion aufgrund der entsprechenden Schnittstelle entsteht.	57

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Unterteilung der verschiedenen Arten der Gattung <i>Beta</i> nach Helm (1957)	5
Tab. 2: Übersicht über die untersuchten Populationen, deren Fundorte und die im folgenden verwendeten Abkürzungen	16
Tab. 3: Übersicht über Pflanzenmaterial und dessen Herkunft aus früheren Untersuchungen	17
Tab. 4: Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen bei den jeweiligen Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2)	17
Tab. 5: Übersicht über die genaue Lage der in dieser Arbeit berücksichtigten Wetterstationen	19
Tab. 6: PCR-Bedingungen für die AFLP-Amplifikation	25
Tab. 7: Übersicht über die Basensequenz der verwendeten Primer	28
Tab. 8: Mögliche Fragmentmuster nach Hybridisierung mit den Sonden Atp6 und pBv4. Die jeweiligen Fragmentgrößen und -muster sowie die daraus resultierenden Mitotypen (A-S, Svulg und Nvulg) sind angegeben.	31
Tab. 9: Verteilung der mitochondrialen Haplotypen in unterschiedlichen Populationsgruppen nach Desplanque (1999). Untersuchungsgebiet war Südwest-Frankreich. N: Anzahl der untersuchten Populationen. A: Anzahl der unterschiedlichen Mitotypen. H_e : Diversität nach Nei (1987). Ruderalrüben 1: Habitat < 15km zur Küste. Ruderalrüben 2: > 15km zur Küste. Ruderalrüben 3: Umgebung von Agen	31
Tab. 10: Übersicht über die Anzahl der Individuen im gesamten Habitat (1999), den Stichprobenumfang sowie die Größe des Habitats (Abkürzungen siehe Tab. 2).	36
Tab. 11: Entwicklung der Populationsgrößen im Beobachtungszeitraum (1997 (Driessen 1999) -2001), Abkürzungen siehe Tab. 2., S. 16; n.d. = nicht detektiert.	37
Tab. 12: Übersicht über kartierte Zuckerrübenfelder in der Nähe zu Wildrüben-Vorkommen auf Fehmarn. Die Größe des Feldes, die geschätzte Anzahl blühender Rüben/ha und der ungefähre Abstand zu den natürlichen Habitaten ist angegeben.	38
Tab. 13: Überblick über die Anzahl schossender und blühender Rüben im Freiland	44
Tab. 14: Anzahl ausgepflanzter und überlebter Rüben im Überwinterungsversuch (Erläuterungen zu den Abkürzungen siehe Tab. 2).	46
Tab. 16: Überblick über die Anzahl untersuchter Individuen auf AFLP-Marker, die gekoppelt sind mit dem B-Gen. Die Anzahl von Individuen, die den Marker P05_B159 tragen, ist angegeben (Abkürzungen siehe Tab. 2).	48
Tab. 17: Überblick über die Anzahl polymorpher Banden, den Polymorphiegrad und den Shannon-Index bei den untersuchten Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3).	50
Tab 18: Durchschnittliche genetische Distanzen in % (fett gedruckt) und Standardabweichungen bei den einzelnen Populationen (Abkürzungen siehe Tab. 2 und 3)	52
Tab. 19: Überblick über die in den einzelnen Populationen festgestellten Mitotypen (Abkürzungen siehe Tab. 2)	56
Tab. 20: Ergebnisse der PCR-RFLP zur Bestimmung von CMS (Abkürzungen siehe Tab. 2)	57

9. Anhang

Die berechneten Summen der negativen Tiefsttemperaturen aller Wetterstationen in den jeweiligen Jahren (zu Kap. 4.2)

	GE-A	GE-B	GE-C	GE-D	GE-E	GE-F	GE-G	DK-A	DK-B	DK-C	DK-D	S-A	S-B	S-C	S-D	S-E
66/67				-64	-67	-47										
67/68				-186	-164	-152		-177	-172							
68/69		-148		-331	-351	-261		-239	-240							
69/70		-257		-442	-496	-391		-385	-369							
70/71		-88		-251	-168	-155		-28	-156							
71/72		-73		-188	-209	-141		-115	-130							
72/73		-17		-88	-70	-50		-104	-51							
73/74		-10		-77	-59	-50		-22	-67							
74/75		-13		-56	-36	-19		-51	-49							
75/76	-137	-91		-222				-33	-230							
76/77	-53	-59		-120				-139	-164	-159						
77/78	-122	-123		-177				-161	-213	-213						-431
78/79	-359	-288		-441				-161	-464	-425		-509			-854	-653
79/80	-146	-167		-241				-403	-242	-258		-383			-637	-625
80/81	-149	-90		-193				-221	-242	-267		-368			-578	-579
81/82	-231	-252		-440				-179	-473	-383		-544			-735	-746
82/83	-55	-16		-125				-358	-87	-89		-139			-232	-257
83/84	-125	-45		-208				-85	-176	-154	-91	-269			-374	-433
84/85	-385	-241		-505				-312	-413	-452	-326	-583			-686	-700
85/86	-352	-240		-625				-296	-394	-377	-292	-515			-720	-691
86/87	-349	-161		-594				-373	-408	-493	-347	-602			-696	-824
87/88	-53	-35		-149				-41	-63	-86	-34	-131			-207	-305
88/89	-26	-17		-137				-17	-28	-69	-64	-122			-221	-266
89/90	-38	-27		-172				-20	-76	-118	-24	-135			-154	-193
90/91	-114	-106		-276				-80	-122	-103	-100	-215			-261	-340
91/92	-61	-36		-175	-83	-68	-165	-46	-82	-118	-82	-158			-199	-263
92/93	-120	-41		-267	-160	-121	-258	-40	-112	-112	-107	-258			-279	-364
93/94	-155	-79		-270	-171	-134	-251	-128	-132	-81	-105	-215			-408	-278
94/95	-99	-77		-158	-85	-71	-149	-41	-82	-415	-52	-142			-213	-230
95/96	-450	-336		-715	-520	-385	-727	-232	-422	-289	-367				-636	-718
96/97	-224	-163	-200	-481	-232	-191	-387	-122	-247	-132	-203		-313	-193		-574
97/98	-78	-37	-66	-254	-97	-60	-172	-37	-104	-192	-92		-171	-73		-325
98/99	-174	-112	-142	-325	-171	-180	-281	-81	-194	-87	-136		-252	-134		-428
99/00	-46	-21	-32	-159	-41	-59	-111	-39	-48	-108	-62		-113	-39		-292
00/01	-145	-20	-105	-308	-125	-102	-212	-134	-172	-155	-102		-226	-145		-395

Temperaturen von Ende Mai 1999 bis Anfang August 1999 (zu Kap. 4.3.1)

Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C	Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C	Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C
21.05.99	16,6	10	16.06.99	19,75	9,5	11.07.99	24,13	17,5
22.05.99	13,5	10,5	17.06.99	18,5	11,5	12.07.99	22,13	15,5
23.05.99	14,9	5,5	18.06.99	14,75	10	13.07.99	20,38	16
24.05.99	13,4	11	19.06.99	16,88	5,5	14.07.99	16,38	15,5
25.05.99	14,6	11	20.06.99	14,13	8	15.07.99	16,75	13
26.05.99	16,6	4	21.06.99	9,5	8	16.07.99	18,63	12
27.05.99	20,5	6	22.06.99	14,63	6,5	17.07.99	21,13	10,5
28.05.99	21,75	14,5	23.06.99	13,75	4	18.07.99	24	12
29.05.99	23,13	9,5	24.06.99	15,25	7	19.07.99	23,88	15,5
30.05.99	20,5	17	25.06.99	17	6	20.07.99	21,13	17
31.05.99	14,5	8	26.06.99	16,63	7	21.07.99	16,5	15,5
01.06.99	17,375	7,5	27.06.99	18	15	22.07.99	13,88	12
02.06.99	18	8	28.06.99	14,88	11	23.07.99	14,25	11
03.06.99	16,5	14	29.06.99	17,75	14,5	24.07.99	20,5	10
04.06.99	15,13	11,5	30.06.99	16,38	10	25.07.99	21,5	12
05.06.99	13,75	9	01.07.99	15,63	11,5	26.07.99	18,63	14,5
06.06.99	13,13	10	02.07.99	20,63	8	27.07.99	19	11,5
07.06.99	14	6	03.07.99	22,63	12,5	28.07.99	20,5	9,5
08.06.99	12,88	10	04.07.99	20,88	9	29.07.99	21,5	8,5
09.06.99	15	9,5	05.07.99	19,25	16	30.07.99	22,38	10,5
10.06.99	16,5	10	06.07.99	17,13	12	31.07.99	23,25	12
11.06.99	10,75	7,5	07.07.99	17,5	11	01.08.99	22,13	10,5
12.06.99	15	7,5	08.07.99	18,75	13	02.08.99	20	10,5
13.06.99	16,63	11	09.07.99	19,88	12	03.08.99	21,75	11,5
14.06.99	18,63	11	10.07.99	22	12	04.08.99	22,75	12
15.06.99	18,38	10,5						

Temperaturen von 01.09.98 bis 30.05.1999 (zu Kap. 4.3.2)

Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C	Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C	Datum	Mittelwert/°C	Minimum/°C
01.09.98	16,25	11,5	24.11.98	-2,88	-8,5	17.02.99	-1,13	-1,5
02.09.98	18,13	15	25.11.98	-0,75	-3	18.02.99	3	-0,5
03.09.98	17,5	16	26.11.98	2	-1,5	19.02.99	8	6
04.09.98	16,65	14	27.11.98	4,75	4	20.02.99	4,38	3
05.09.98	15,75	14,5	28.11.98	4,13	2	21.02.99	4,75	3,5
06.09.98	15,63	14	29.11.98	1,5	0,5	22.02.99	0	4
07.09.98	16,25	14,5	30.11.98	0,13	-1	23.02.99	0,5	-1
08.09.98	16,75	14,5	01.12.98	-1,5	-3	24.02.99	-1	-4
09.09.98	18	15,5	02.12.98	-3,25	-4	25.02.99	1,13	-7,5
10.09.98	16,88	14,5	03.12.98	-1,38	-2,5	26.02.99	6,75	3
11.09.98	13,38	11	04.12.98	-1,25	-2,5	27.02.99	6,25	3,5
12.09.98	10	9	05.12.98	-0,38	-0,5	28.02.99	6,5	3,5
13.09.98	8,5	6	06.12.98	-0,75	-2	01.03.99	8,5	6
14.09.98	10,5	7	07.12.98	0,38	-1	02.03.99	10,75	9
15.09.98	12,63	10,5	08.12.98	0,38	-3	03.03.99	7,75	7
16.09.98	11,75	10,5	09.12.98	3,25	1,5	04.03.99	6	4,5
17.09.98	10,88	9,5	10.12.98	1	-1	05.03.99	2,63	1
18.09.98	11,88	8,5	11.12.98	4,88	2	06.03.99	2,38	2
19.09.98	12,88	11,5	12.12.98	9,13	6	07.03.99	2,38	1
20.09.98	14,75	11,5	13.12.98	8,13	7,5	08.03.99	3,63	2
21.09.98	13,38	5,5	14.12.98	9,75	7	09.03.99	3,38	1
22.09.98	10,88	7	15.12.98	9,5	8,5	10.03.99	1,38	-2
23.09.98	12,25	5,5	16.12.98	6,13	4	11.03.99	7,67	-4,5
24.09.98	13,25	6	17.12.98	11	2,5	12.03.99	11	-1
25.09.98	15,13	11,5	18.12.98	5,88	3	13.03.99	12	7
26.09.98	16,5	8	19.12.98	5,38	4,5	14.03.99	8,25	5
27.09.98	15	10,5	20.12.98	2,25	-1,5	15.03.99	6	0
28.09.98	13	12	21.12.98	-1	-2	16.03.99	6,38	-2
29.09.98	11,38	11	22.12.98	-0,5	-2,5	17.03.99	7,5	3,5
30.09.98	13,63	11	23.12.98	1,88	-1	18.03.99	6,13	-1,5
01.10.98	12,63	10	24.12.98	0,25	-1,5	19.03.99	5,38	3
02.10.98	5,75	4	25.12.98	5,63	1,5	20.03.99	5,75	1
03.10.98	3	5,5	26.12.98	8,63	5	21.03.99	5	4
04.10.98	6,5	4,5	27.12.98	9,13	5,5	22.03.99	3,25	2,5
05.10.98	8,5	5	28.12.98	6,5	5	23.03.99	6,63	2
06.10.98	6,63	5,5	29.12.98	6,88	2,5	24.03.99	6,63	2,5
07.10.98	6,38	5,5	30.12.98	10,5	3,5	25.03.99	11,5	0
08.10.98	8	5,5	31.12.98	7,13	3	26.03.99	9,38	6
09.10.98	8,25	1,5	01.01.99	8,88	3	27.03.99	6,63	4
10.10.98	10	9	02.01.99	6,75	5,5	28.03.99	3,25	1
11.10.98	11	9,5	03.01.99	5,25	4	29.03.99	8,25	-2
12.10.98	9,13	7,5	04.01.99	10,38	5,5	30.03.99	10,75	8
13.10.98	9,88	5,5	05.01.99	12,88	11	31.03.99	12,13	5,5
14.10.98	13	11	06.01.99	12,88	11	06.04.99	12,63	11
15.10.98	8,5	6	07.01.99	6	4,5	07.04.99	7,75	7
16.10.98	11,38	1	08.01.99	5	4	08.04.99	7,63	6
17.10.98	13	10,5	09.01.99	-0,25	-1,5	09.04.99	10,25	0,5
18.10.98	7,13	5	10.01.99	-1,13	-1,5	10.04.99	10,75	7
19.10.98	4,75	-1	11.01.99	-2,63	-4,5	11.04.99	8,5	7,5
20.10.98	7,13	4,5	12.01.99	-1,25	-4,5	12.04.99	6,5	6
21.10.98	11,38	8,5	13.01.99	2,25	-1,5	13.04.99	3,5	2
22.10.98	13,75	12	14.01.99	4	3	14.04.99	1,38	0
23.10.98	13,5	12	15.01.99	7	5	15.04.99	3,13	-0,5
24.10.98	11	8,5	16.01.99	10,75	5,5	16.04.99	3,63	2
25.10.98	8,13	6	17.01.99	4,75	3	17.04.99	4,25	-2
26.10.98	7,75	5	18.01.99	3,63	1	18.04.99	5,25	2
27.10.98	7	4,5	19.01.99	7,25	4	03.05.99	16,5	13
28.10.98	11	9	20.01.99	9	7,5	04.05.99	14,25	9
29.10.98	7	4	21.01.99	7	5,5	05.05.99	11,25	9
30.10.98	5,75	4,5	22.01.99	6,38	6	06.05.99	13,75	11,5
31.10.98	6,5	4	23.01.99	3,75	0	07.05.99	16,5	6
01.11.98	6,13	3,5	24.01.99	4,5	3,5	08.05.99	14,88	11,5
02.11.98	6,75	3	25.01.99	9,25	6	09.05.99	17,5	11
03.11.98	8,25	7	26.01.99	5,25	4	10.05.99	12,75	9
04.11.98	5,13	3	27.01.99	3,63	2	11.05.99	11,88	11
05.11.98	6,5	2,5	28.01.99	4,25	2	12.05.99	14	11
06.11.98	6,75	3	29.01.99	-2,5	-5	13.05.99	12,13	9
07.11.98	5,5	-0,5	30.01.99	-2,25	-7	14.05.99	11,13	7,5
08.11.98	8,5	3	31.01.99	-0,38	-3	15.05.99	10,38	7
09.11.98	12,13	10,5	01.02.99	2,5	0	16.05.99	8,75	1,5
10.11.98	7,75	5,5	02.02.99	3,88	3,5	17.05.99	13,75	8,5
11.11.98	4,63	1,5	03.02.99	5,25	3	18.05.99	14,38	11,5
12.11.98	4,5	1	04.02.99	7,63	6,5	19.05.99	14,25	7
13.11.98	6,13	5	05.02.99	2,38	0,5	20.05.99	15,5	10
14.11.98	3,13	2,5	06.02.99	1,25	0	21.05.99	16,63	10
15.11.98	4,25	3,5	07.02.99	0	-2	22.05.99	13,5	10,5
16.11.98	2	0	08.02.99	-1	-2	23.05.99	14,88	5,5
17.11.98	0,25	-1	09.02.99	-3,5	-5	24.05.99	13,38	11
18.11.98	1,63	-2,5	10.02.99	-2,25	-5	25.05.99	14,63	11
19.11.98	-0,25	-3,5	11.02.99	-3,75	-1,5	26.05.99	16,63	4
20.11.98	-3,75	-7	12.02.99	-5,5	-12	27.05.99	20,5	6
21.11.98	-4,38	-8,5	13.02.99	-5,25	-14	28.05.99	21,75	14,5
22.11.98	-5,13	-9,5	14.02.99	-3,13	-9,5	29.05.99	23,13	9,5
23.11.98	-6,88	-10,5	15.02.99	0	-2,5	30.05.99	20,5	17
			16.02.99	3,13	0,5	31.05.99	14,5	8

Basisdaten zur Analyse verwandtschaftlicher Beziehungen

0/1-Matrix (zu Kap. 4.5.1)

KR-Bi1 10110100011101 10101011111111101 1110111111111 101101101111 1110111 11111 0111111101
KR-Bi2 10010101111101 10101011111111101 1110101111111 101101101111 1010011 11111 0101011001
KR-Bi3 10000111111101 10101011001111101 1110101111111 101111111111 1110001 11111 0101011001
KR-Bi4 10010101011100 10101011001111101 1110101111111 101101111111 1110111 11111 0101011001
KR-Bi5 10110111011101 1010111001111101 1110101111111 101101101111 1110111 11111 0101111001
KR-Bi6 10110110011101 10101011001101101 1110001111111 101101101011 1110011 11111 011011001
KR-Bi7 10110110111101 10101011001101101 1110101111111 101101101011 1110111 11111 0101011001
KR-Bi8 10110100111101 10101011001111101 1110101111111 101101101011 1110001 11111 0101011001
KR-Bi9 10110101011101 10101011001111101 1110101111111 101101111111 1110001 11111 0101111001
KR-Bi10 10110100111101 10101011001111101 1110001111111 101101101011 1110011 11111 0101111001

KR-Ga1 11110110111101 1010111001111101 1111011111111 100111101011 1111011 11101 0100011101
KR-Ga2 10110111111101 1010111001111101 1110101111111 100111101001 1011011 11101 0100001101
KR-Ga3 10110100111101 1000111001111101 1111011111111 100111101011 1111011 11111 0101001111
KR-Ga4 10110111111101 1000111001111101 1110101111111 100111101001 1001011 10001 0100101101
KR-Ga5 10110110111101 1000111001111101 1111011111111 100111101001 1011111 11101 0100111111
KR-Ga6 10110110111101 10101101001111101 1111011111111 100111101001 1111011 11101 0100011111
KR-Ga7 10110110111101 10001101001111101 1111011111111 100111101001 1011111 11011 0100011101
KR-Ga8 10110110111101 1000111001111101 1111011111111 100111101011 1111011 11101 0100011101
KR-Ga9 10100111111101 1010111001011101 1111011111111 100111101011 1011011 11101 0101011101
KR-Ga10 10110111111101 1010111001111101 1111011111111 100111101001 1011111 11101 0101011101

KR-Do1 10110111111101 1010111001111101 1111011011111 101111101001 1010011 11101 0100101101
KR-Do2 10110111111101 1010111001111101 1111011011111 100111101001 1010011 11101 0100101101
KR-Do3 10110111111101 1010111001111101 1111011011111 101111101001 1010011 11111 0100101101
KR-Do4 10100111111101 1000111001111101 1111011011111 100101101011 1010011 11111 0100101101
KR-Do5 10110111111101 1010111001111101 1110101111111 101111101111 1010011 11111 0100101101
KR-Do6 10110111111101 1000111001111101 1111011011111 101111101111 1010011 11111 0100101101
KR-Do7 10110111111101 1000111001111101 1111011011111 101101101101 1010111 11111 0100101111
KR-Do8 10110111111101 1010111001111101 1111011111111 101101101101 1010111 11111 0100101111
KR-Do9 10110111111101 1000111001111101 1111011111111 101111101001 1010111 11101 0100101101
KR-Do10 10110101111101 1000111001111101 1110101111111 101101101011 1010111 10010 0100101111

UR-SP1 10110101111100 1010111111111101 1110011101111 1101111111101 1111011 11011 1001001111
UR-SP2 10110111111101 10101111111111001 1110011101111 1101111111111 1001001 11010 1001001001
UR-SP3 10110111111100 1010111001011101 1110011101111 1101111111111 1111111 11011 1001001111
UR-SP4 10110111111100 1010111001011101 1110011101111 1101111111111 1101011 11010 1001000111
UR-SP5 10110111111000 1010111101111001 1110011101111 1001111111011 1001011 11010 1001000011
UR-SP6 10110111111100 1010111001111111 1110011101111 1101111111111 1111001 11011 1001001101
UR-SP7 10110111111101 1011111001111101 1110011101111 1001111111011 1111111 11010 1001001001
UR-SP8 10110111111101 1011111001111101 1110011101111 110111111011 1111001 11011 1001001101
UR-SP9 10110111111101 1011111001111111 1110011101111 110111111011 1111011 11011 1001001111
UR-SP10 10110110111101 1011111001111111 1110011101111 1101111111111 1111111 11011 1001001111

UR-Cal1 10011111111101 10101110111011001 1110111111111 1101011111111 1110011 11111 1110011111
UR-Cal2 10111111111101 10101110101011001 1111111111111 100101101111 1010111 11111 1011110001
UR-Cal3 10011111111101 10101110101011001 1111111111111 100101101111 1010111 11111 1111111001
UR-Cal4 10111111111101 10101110001011001 1111011111111 100101101111 1010001 11011 1110001101
UR-Cal5 10111111111101 10101110001011001 1111011111111 100101101101 1011101 11111 1110001101
UR-Cal6 10011111111101 10101110001011001 1110111111111 110101101111 1011011 10111 1001101001
UR-Cal7 10111111111101 10101110101011001 1111011111111 100101101111 1011101 11001 1101111111
UR-Cal8 10111111111101 10101110101011001 1111111111111 100101101111 1001101 11110 1101111001
UR-Cal9 10011111111101 10101110001011001 1110111111111 110101111101 1001011 11111 1001100001
UR-Cal10 10011111111101 10101110011011001 1111111111111 110101101111 1011111 11111 1001100001

UR-Ap1 10110110111111 1011111111111101 1110101111111 101101100011 1011101 11111 1000001101
UR-Ap2 10110110111111 1011111111111101 1110111111111 101101100011 1011011 11101 1001001111
UR-Ap3 10110110111111 1010111101111101 1110011111111 101101100001 1001111 11111 1001001101
UR-Ap4 10110110111111 10111111001011101 1110101111111 101101111111 1111111 11111 1000001101
UR-Ap5 10110110111111 10111111101011101 1110101111111 101101101111 1111101 11111 1000001101
UR-Ap6 10110110111111 1000111001111101 1111001111111 111101111111 1111111 11111 1000001101

UR-Ap7 10110111011111 1010111101111101 111101111111 101101111100 111101 11011 1001001101
UR-Ap8 10110111011111 1011111111011101 111101111111 101101111010 1101111 11110 1001001101
UR-Ap9 10110111111111 10111111011011101 111101111111 101111111101 1111111 11111 1001001101
UR-Ap10 10110110111111 10111111011011101 111100111111 101101101111 1111111 11110 1001001101

UR-Wa611 10110111111101 11011011100101101 111110111111 101101101101 1111011 11010 0100100001
UR-Wa612 10110101111101 11010011001111101 111010101111 101101101101 1111011 11011 0111101101
UR-Wa613 10110111111101 01011011101111101 110110110111 101101101111 1111011 11011 0100101101
UR-Wa614 10110111110101 01011011101111101 110110110111 101101101111 1111001 11010 0100101101
UR-Wa615 10110111110101 01011011100111101 111110111111 101101101101 1111001 11010 0100100001
UR-Wa616 10110111110101 01011011101111101 111010101111 101101101101 1111001 11011 0100101101
UR-Wa581 10010111110101 10011010101111101 111011111111 101101101011 1010001 11111 0100001101
UR-Wa582 10010111110101 10011010101111101 110111110111 101101101111 1011011 11101 0100001101
UR-Wa583 10110111110111 10011010101001101 111111111111 101101101001 1111001 11101 0100001101
UR-Wa584 10010111110101 10011010101111101 111011111111 101111101011 1111001 11101 0100001101
UR-Wa585 10010111110101 10011010101101101 111011111111 101101101111 1111011 11101 0100001101
UR-Wa586 10010111110101 10001010101101101 111011101111 101101101001 1111011 11111 0100001101

WR-A11 11010111111110 10111011001111101 1110001001111 100010101001 1110011 11010 0101001001
WR-A12 11010111111110 10111011000111101 1110001001111 100011111000 1110001 11111 0101001001
WR-A13 11010111111100 10111011000011101 1110001001111 100010101001 1110011 11111 0101001001
WR-A14 11010111111100 10111011000111101 1110001001111 100010101001 1110001 11111 0101001001
WR-A15 11010111111100 10111011000011101 1110011001111 100010101001 1110011 11111 0101001001
WR-A16 11000111111110 10111011001111111 1110011001111 100010101001 1110011 11111 0101001001
WR-A17 11000111111110 10111011001111101 1110011001111 100010111001 1011011 11101 0101001001
WR-A18 11010111111110 10111011001111111 1110001001111 100010111000 1011011 11101 0101001001
WR-A19 11010111111110 10111011001011101 1110001001111 100011111000 1011011 11010 0101001001
WR-A110 11010111111111 10111011011011111 1110001001111 100011111000 1011001 11110 0101001001

WR-Fu1 11010110111100 10001011101111101 1110001101111 100011111011 1010011 10101 0100011111
WR-Fu2 11110110111100 10101011101111101 1111001111111 100010101011 1010011 10010 0100001011
WR-Fu3 11010110111100 10001110101111101 1110001011111 100010101011 1010011 10010 0101001011
WR-Fu4 11010110111100 10101110101111101 1110001101111 100010100011 1010011 10010 0100111001
WR-Fu5 11010110111100 10101110101111101 1110001101111 100010110011 1010011 10010 0100001001
WR-Fu6 11010110111100 10101110101111101 1110001111111 100010100011 1010111 10001 0100011001
WR-Fu7 11010110111100 10101010001111111 1110011011111 100010100111 1010111 11001 0100011001
WR-Fu8 11010110111100 10101110101111111 1110001101111 100010111011 1110001 10010 0101001001
WR-Fu9 11000110111100 10001110101111101 1111011011111 100010100011 1010001 11101 0100101001
WR-Fu10 11010110111100 10101110001111101 1111011011111 100010100011 1010111 11011 0100001001

WR-Gr1 10110111100101 10011001100011101 1110011011011 100100101011 1110111 11101 0101100001
WR-Gr2 10110110100100 10011001100010101 1110011001011 100100101011 1110111 11101 0101100001
WR-Gr3 10110111110001 10011001100010101 1110011010011 100100101011 1110011 11001 0101100001
WR-Gr4 10101111110101 10011001100011101 1110011010011 100100101011 1110011 11101 0101101001
WR-Gr5 10100111110101 10011001100011101 1110011010011 100100101011 1110011 11101 0101101001
WR-Gr6 10010110010001 10011001100010101 1110011001011 100100101011 1110001 11001 0101100001
WR-Gr7 10010110110000 10011001100010101 1110011001011 100100101011 1110011 11101 0101100111
WR-Gr8 10110111110111 10011001100010101 1110011000011 100100101011 1110001 11101 0101100001
WR-Gr9 10110111100101 10011001101011101 1110011001011 100100101011 1110011 11101 0101101001
WR-Gr10 10110111100100 10011001101011101 1110011010011 100100101011 1110011 11101 0101101001

WR-Po1 11111111110111 10101111111111001 1101001101111 001011111001 1010111 11101 0110100011
WR-Po2 10111110110101 10101111110111101 1101001101111 001011111001 1110101 11101 0111100011
WR-Po3 11111110110101 10101111110111101 1101001101111 001011111011 1110101 11111 0110101011
WR-Po4 11111110110101 10101011111111001 1100001101111 001011011001 1010111 11101 0111100011
WR-Po5 10111111110101 10101111110111011 1101001101111 001111101001 1011111 11101 0111100011
WR-Po6 10111110110101 10101111010101101 1100001101111 100011111001 1110111 11111 0110101011
WR-Po7 10111110110101 10101111011101101 1101001101111 001011111001 1110111 11111 0110101011
WR-Po8 10100100110101 10101011111111001 1101001111111 001011011011 1110101 11111 0110100111
WR-Po9 10111100110101 10101111110111001 1101001111111 001111101001 1110101 11111 0111101111
WR-Po10 10111111110111 10101111111101001 1101001101111 000011111001 1010101 11101 0111100111

WR-F1 11110101110111 10101001100001101 1101001011111 100010101111 1001011 11101 0010101011
WR-F2 11110101110111 10101001100001101 1101010011111 100010101111 1011001 01101 0110101110
WR-F3 11110101110101 10101001100001101 1101011011111 100010111111 1001001 11111 0010101010
WR-F4 11110101110101 10101001100001101 1101011011111 100010001111 1001011 11111 0010101011
WR-F5 10110101110101 10101001100001101 1101000011111 100010101111 1011001 11101 0010101010
WR-F6 10110101110111 10101001100001101 1101001011111 100010011111 1010011 11111 0010101010
WR-F7 10110101110101 10101001100001101 1101000011111 100010111111 1001001 11101 0110101011

WR-F8 11110101110111 10101001100001101 1101010011111 100010101111 1011001 11101 0010101111
WR-F9 10110111110101 10101001100001101 1101000011111 100010011111 1010011 01101 0010101111
WR-F10 10110101110101 10101001100001101 1101011011111 100010111111 1011011 01101 0010101011
WR-Ir1 10110111111101 10101001000011001 1101000101111 100011101011 1011011 11101 0010100111
WR-Ir2 10110110111101 10110011000011001 1101000101111 100011101011 1001011 11101 0010100111
WR-Ir3 10110110110101 10101000000001001 1101000101111 100011101011 1001011 11101 0010100111
WR-Ir4 10110101110101 10101010100001001 1101000101111 100011101011 1001011 11101 0010100111
WR-Ir5 10110111110111 10101011000011001 1101000101111 100011101011 1111011 11101 0010101111
WR-Ir6 10110111110111 10101011000011001 1101000101111 100011101011 1011011 11101 0010100111
WR-Ir7 10110111111101 10101011100011001 1111000101111 100011101011 1011011 11101 0010100111
WR-Ir8 10110101110101 10111011100001001 1101000101111 100011101011 1111011 11101 0010100111
WR-Ir9 10110111110101 10101000100001001 1101010101111 100011101011 1001011 11101 0010100111
WR-Ir10 10110101110111 10111000100001001 1111000101111 100011101011 1001011 11101 0010101111

WR-H11 10100110010110 01001110110010111 1111001111111 010010101011 1001001 01001 0100100111
WR-H12 11100100110110 01001110110010101 1111000110111 011010101011 1001001 11001 0100100111
WR-H13 10100100010110 01001110110010101 1101000111111 010010101011 1001001 01001 0100100111
WR-H14 11100100010110 01001110110110111 1111000111111 011010101011 1011001 11001 0100100111
WR-H15 10100110110110 01001110110010111 1111000111111 011010101011 1001001 11001 0100100111
WR-H16 10100110111111 01001110110010101 1111000110111 011010101011 1001001 11001 0100100111
WR-H17 10100100010110 01001110110110101 1101000111111 011010101011 1011011 11001 0100100111
WR-H18 10100100010110 01001110110010101 1111000110111 011010101011 1001011 11001 0100100111
WR-H19 10100100011110 01001110110010101 1111001111111 010010101011 1001011 11001 0100100111
WR-H10 10100100010110 01001110110010101 1111000110111 011010101011 1001011 11001 0100100111

WR-GE4-1 10101110011111 01001100110011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010001001
WR-GE4-2 10100110011111 01001100110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010000001
WR-GE4-3 10100110011111 01001100100011101 1111001101111 011010101001 1010001 01101 0110000001
WR-GE4-4 10101110011111 01001100100011101 1111001101111 010010101011 1010001 01001 0010001001
WR-GE4-5 10101110011111 01001100100011101 1111000111111 011010001001 1010001 01101 0010000001
WR-GE4-6 10100110011111 01001100110011101 1111001111111 010010001011 1010001 01001 0010000001
WR-GE4-7 10100110011111 01001100110011101 1111001111111 011010001011 1010001 01101 0010000001
WR-GE4-8 10101110011111 01001100110011101 1111001111111 011010001011 1010001 01101 0010001001
WR-GE4-9 10101110011111 01001100100011101 1111100101111 011010101011 1010001 01001 0010001001
WR-GE4-10 10101110011111 01001100100011101 1111100101111 011010101001 1010011 01101 0110101001

WR-GE1-1 10100110010111 01001101111011101 1101000111111 011010101011 1010011 01101 0010101111
WR-GE1-2 11100110111111 01001101111011101 1101000111111 011010001011 1010001 01101 0010000001
WR-GE1-3 11100110110111 01001101011011101 1111000101111 011010101001 1010001 01101 0010000001
WR-GE1-4 10100110111111 01001101111011101 1101000111111 011010101011 1010001 01101 0010000001
WR-GE1-5 10100110111111 01001101111011101 1111000111111 011010101011 1010001 01101 0010100001
WR-GE1-6 10100110110111 01001101111011101 1111000101111 011010101001 1010001 01101 0010000001
WR-GE1-7 10100110110111 01001101111011101 1111000111111 011010001001 1010001 01101 0010100001
WR-GE1-8 10100110110111 01001101111011101 1111000111111 011010001011 1010001 01101 0010100001
WR-GE1-9 10100110111111 01001101111011101 1101000111111 011010101011 1010001 01101 0010000001
WR-GE1-10 10100110111111 01001101111011101 1111000111111 011010001011 1010001 01101 0010100001

WR-GE2-1 11100110011110 01010100110011101 1101000111111 011010101011 1010001 01101 0010001000
WR-GE2-2 10101110010101 01010100100011101 1111000111111 011010101011 1010001 01001 0110101001
WR-GE2-3 11100110110111 01000100110011101 1111000101111 011011001011 1010001 01101 0010101001
WR-GE2-4 11101110010101 01000100100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0110101000
WR-GE2-5 11101110010101 01000100110011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0110101001
WR-GE2-6 10101110110101 01000100100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0110101001
WR-GE2-7 10100110110111 01010100100011101 1111000111111 011011001011 1010001 01001 0010101000
WR-GE2-8 11101110110111 01010100110011101 1101000111111 011010101011 1010001 01101 0110101001
WR-GE2-9 11100100010111 01010100110011101 1101000101111 011010101011 1010001 01001 0010001001
WR-GE2-10 11100100010111 01010100110011101 1111000101111 011011001011 1010001 01001 0010101001

WR-GE3-1 11101110111111 11011101110011101 1111011111111 011110101011 1010001 01101 0110101011
WR-GE3-2 11110110111111 11011101110011101 1111001101111 011010101011 1010101 01101 0100101011
WR-GE3-3 11101110111111 11011101110011101 1111011111111 011010101011 1010001 01101 0100101011
WR-GE3-4 10101110010110 1100110110111101 1111001111111 011010101011 1010101 01101 0010101011
WR-GE3-5 11101110110111 11011101110011101 1111101111111 011010101011 1010101 01001 0100101111
WR-GE3-6 11101110010110 11011101110111101 1111101111111 011010101011 1010101 01101 0100101011
WR-GE3-7 10100110010110 11001101110111101 1111101111111 011010101011 1010101 01101 0110101011
WR-GE3-8 10100100010110 11011101110111101 1111001111111 011010101011 1010101 01101 0110101011
WR-GE3-9 10101100010111 11001101110011101 1111101111111 011011101011 1010001 01101 0100101011
WR-GE3-10 11101110010110 11011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0110101111

WR-GE5-1 1011110110111 01011101110011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010001101
WR-GE5-2 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001101
WR-GE5-3 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001001
WR-GE5-4 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001101
WR-GE5-5 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001101
WR-GE5-6 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001101
WR-GE5-7 1011110111111 01010101110011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010001001
WR-GE5-8 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010000101
WR-GE5-9 1011110110111 01011101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010000101
WR-GE5-10 1011110110111 01010101110011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010001101

WR-DK3-1 10101110010111 01011100100011101 1111100101111 011010101011 1010001 01101 0010001011
WR-DK3-2 10101110011111 01011100100111101 1111000101111 011011111011 1010001 01101 0010100011
WR-DK3-3 10101110010111 01011101100011101 1111101101111 011010101011 1010001 01101 0011001011
WR-DK3-4 10101110010110 01011101100011101 1111001101111 011010101011 1110001 01101 0010001011
WR-DK3-5 10101110010111 01010100100011101 1111000101111 011010101011 1010011 01101 0010001011
WR-DK3-6 10101110010111 01010100100111101 1111000101111 011010101011 1010001 01111 0010001011
WR-DK3-7 10101110010110 01011100100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010000011
WR-DK3-8 10101110010111 01011101100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0011000011
WR-DK3-9 10101110010110 01011100100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0011000011
WR-DK3-10 10101110010110 01011100100011101 1111001101111 011010101011 1010001 01101 0010000011

WR-DK4-1 10101110110110 01010100110011101 1111000101111 011010101011 1010011 01101 0010101111
WR-DK4-2 10100110010111 01010100110011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010101111
WR-DK4-3 10101110010110 01010101110011101 1111000101111 011011101011 1010101 01101 0010000111
WR-DK4-4 10101110110110 01010100110111101 1111000101111 011011101011 1010001 01101 0010001011
WR-DK4-5 10100110110110 01010101110011101 1111001111111 011010101011 1010001 01001 0010001011
WR-DK4-6 10101110010110 01010100100111101 1111000111111 011010101011 1010111 01101 0010001011
WR-DK4-7 10101110010111 01010100100011101 1111001101111 011010101011 1010111 11101 0010000111
WR-DK4-8 10100110010111 01010100110011101 1111000111111 011011101011 1010011 01101 0010000111
WR-DK4-9 10101110010111 01010100100011101 1111001101111 011010101011 1010001 01001 0110100011
WR-DK4-10 10100110010111 01010100110011101 1111000111111 011010101011 1010011 01001 0010100011

WR-DK2-1 10101110111111 01001100100011101 1111010111111 011010101011 1010001 01101 0010001111
WR-DK2-2 10101110111111 01001100100011101 1111010101111 011010101011 1010001 01101 0010001011
WR-DK2-3 10101110111111 01000100100111101 1111010101111 011010101001 1010101 11101 0011101011
WR-DK2-4 10101100011111 01001100100011101 1111010101111 011010101011 1010001 01111 0010101011
WR-DK2-5 10101110010111 01001100100011101 1111010101111 011010101011 1010001 01101 0010101011
WR-DK2-6 10101110110111 01001100100011101 1111010101111 011010101011 1010001 01101 0010101011
WR-DK2-7 10101110010111 01001100100111101 1111010101111 011010101011 1010001 11111 0010101011
WR-DK2-8 10101110010111 01001100100011101 1111000101111 011010101011 1010001 01101 0010101011
WR-DK2-9 10101110011111 01001100000011101 1111010111111 011010101011 1010101 01101 0011101011
WR-DK2-10 10101110110111 01000100100011101 1111000101111 011010101001 1010001 11101 0011001011

Varianzanalyse der Mittelwerte der Polymorphiegrade und Shannon Indices (Kap. 4.5.1)

SHANNON INDEX (4 Gruppen)

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0.836)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.465)

Group	N	Missing	
Zuckerrüben	3	0	
Unkrautrüben	5	0	
Wildrüben Atlan	7	0	
Wildrüben Ostse	8	0	

Group	Mean	Std Dev	SEM	
Zuckerrüben	0.127	0.00954	0.00551	
Unkrautrüben	0.162	0.0360	0.0161	
Wildrüben Atlan	0.141	0.0365	0.0138	
Wildrüben Ostse	0.104	0.0379	0.0134	

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.437

The power of the performed test (0.437) is below the desired power of 0.800.

You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Treatments	3	0.0113	0.00377	3.058	0.053	
Residual	19	0.0234	0.00123			
Total	22	0.0347				

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.053).

Polymorphiegrad (4 Gruppen)

One Way Analysis of Variance Monday, April 14, 2003, 10:50:53

Normality Test: Passed (P = 0.793)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.858)

Group	N	Missing	
Zuckerrüben	3	0	
Unkrautrüben	5	0	
Wildrüben Atlan	7	0	
Wildrüben Ostse	8	0	

Group	Mean	Std Dev	SEM	
Zuckerrüben	23.500	3.928	2.268	
Unkrautrüben	27.420	5.830	2.607	
Wildrüben Atlan	24.529	7.200	2.721	
Wildrüben Ostse	18.275	5.478	1.937	

Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 0.365

The power of the performed test (0.365) is below the desired power of 0.800.
You should interpret the negative findings cautiously.

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Treatments	3	292.860	97.620	2.696	0.075	
Residual	19	687.937	36.207			
Total	22	980.797				

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.075$).

Danke

Herr Professor Dr. Ingolf Schuphan und PD Dr. Detlef Bartsch haben diese Arbeit inhaltlich betreut und es mir ermöglicht, sie am Lehrstuhl für Biologie V der RWTH Aachen durchzuführen. Nicht nur dafür möchte ich mich herzlich bedanken, sondern auch für ihr hohes Maß an Flexibilität, dass ich die Arbeit neben meiner Beschäftigung als Referentin am Schleswig-Holsteinischen Umweltministerium fortsetzen und beenden durfte. Ohne diese Unterstützung wäre die Arbeit nicht zustande gekommen. Detlef Bartsch danke ich darüber hinaus für seine ständige Diskussionsbereitschaft, seine Offenheit und seine unkomplizierte Art beim Lösen von Problemen.

Herzlich danke ich auch Herrn Dr. Gustav W. Sauer, meinem ehemaligen Abteilungsleiter des Umweltministeriums Schleswig-Holstein dafür, dass er mich bei der Fortführung der Arbeit unterstützt und bestärkt und sich für die nötigen Freiräume eingesetzt hat.

Durch die freundliche und großzügige Unterstützung des Laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales der Université de Lille 1 konnte ich nicht nur wesentliche Ergebnisse dieser Arbeit produzieren, sondern auch interessante Einblicke in das Leben in Frankreich allgemein und im Besonderen an französischen Universitäten bekommen. Besonders danke ich Professeur Dr. Joel Cuguen, Professeur Dr. Henk van Dijk, Dr. Pascal Touzet und Dr. Pierre Saumitou-Laprade für die nette Aufnahme und Betreuung an ihrem Institut und für die ständige Hilfsbereitschaft auch außerhalb der Wissenschaft. Merci beaucoup!

Herrn Professor Dr. Christian Jung von der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel danke ich für seine freundliche Aufnahme am Institut für Pflanzenzüchtung und der Möglichkeit, die Proben auf B-Gen spezifischer Marker durchzuscreenen. Dabei geht ein besonderes Dankeschön an Herrn Dr. Felix Dreyer für seine Betreuung im Labor und für seine Geduld und Offenheit bei der Diskussion der Ergebnisse.

Ute Wehres, die im Rahmen ihrer Diplom- und Doktorarbeit eng mit mir zusammen gearbeitet hat, danke ich für den maximalen Spaß und den halbierten Ärger, den wir in den letzten Jahren zusammen hatten. Ein Mensch, mit dem ich perfekt zusammenarbeiten konnte, den ganzen Tag Streß ausgehalten und abends über alles gelacht habe...

Ich danke allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls für Biologie V, die mich bei dieser Arbeit durch Rat und Tat unterstützt haben. Dabei denke ich besonders an Frau Claudia Morak, die zuverlässigste TA, die man sich nur wünschen kann.

Ein großes Dankeschön geht an die Fachleute vor Ort, insbesondere an Herrn Christensen und Herr Behmann, die immer Zeit für ausführlich beratende Gespräche auf der „Rübenjagd“ hatten und am Strand immer Ausschau gehalten haben.

Hanne Denker, Angela Rösner und Dr. Hans-Georg Starck vom Referats 23 des Umweltministeriums hatten viel Geduld mit mir und meinem immer wieder kehrenden Rübengesprächsthema. Sie haben am Strand nach Rüben gesucht (und leider nie welche gefunden) und am Arbeitsplatz nach rübenspezifischen Neuigkeiten Ausschau gehalten. Dafür 1000 Dank!

Dr. Matthias Pohl kann frau zu jeder Zeit mit jedem Problem konfrontieren und er kann zu jedem Thema weiterhelfen. Der ambulante Rüben und Landunter-Notdienst sozusagen. Selbst wenn er in Wirklichkeit nicht weiterhelfen kann, gibt er einem auf jeden Fall das beruhigende Gefühl, die Lage im Griff zu haben. Unglaublich genug, dass es solche Menschen gibt, bin ich unsagbar dankbar, ihn bei dieser Arbeit und in den letzten Jahren überhaupt im Boot gehabt zu haben.

Ein dickes Dankeschön geht nach Freiburg zu meiner lieben Tante Christel für ihre Motivation und ihren ganzen Zuspruch,- nicht nur während der Promotion, sondern auch während meines gesamten Studiums.

Meinen Eltern danke ich für ihre Unterstützung und die hervorragende Rundum-Verpflegung, insbesondere in der letzten heißen Phase.

1000 Dank meinen Freunden für ihr Verständnis bei abgesagten Partys oder Wochenendtrips. Dafür dass sie meinen Frust oft abgeleitet und mich trotzdem wieder aufgebaut haben, besonders Nele, Nils, Bienchen, Katharina, Claudia und Monika. Ich bin unendlich froh, diese Freunde zu haben! Ab jetzt wird der Spaßfaktor auch wieder in die Höhe gefahren. Versprochen...

Lebenslauf

Sarah Drießen

Mittelstraße 30
52072 Aachen
0241/189 064 88 bzw.
0171/3666819
Driessen@femu.rwth-aachen.de

geboren am 07.11.1972
in Aachen

Berufspraxis

Seit 03/03 10/02 – 02/03	Wissenschaftlich Angestellte am Forschungsinstitut für elektromagnetische Umweltverträglichkeit (femu) der RWTH-Aachen Fertigstellung der Promotion am Lehrstuhl für Ökologie der RWTH Aachen
04/00 - 09/02	Referentin für Gentechnik und Biotechnologie am Ministerium für Umwelt, Natur und Forsten des Landes Schleswig-Holstein
08/99 - 01/00	Dozentin für Biologie an der MTA-Schule des Universitätsklinikums der RWTH Aachen
04/99 – 03/00	Wissenschaftlich Angestellte am Lehrstuhl für Ökologie der RWTH Aachen
01/99 – 03/99	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Rechtsmedizin der RWTH-Aachen, DNA-Labor
06/97 – 01/99	Studentische Hilfskraft am Lehrstuhl für Ökologie der RWTH Aachen, Arbeitsgruppe "Molekulare Ökologie"
11/95 – 12/98	Studentische Hilfskraft am Institut für Rechtsmedizin der RWTH Aachen, Toxikologie

Studium

10/92 – 09/93	Studium des Bauingenieurwesens und Baugeschichte an der RWTH-Aachen
10/93 – 01/99	Biologie-Studium an der RWTH Aachen
Seit 04/1999	Promotionsstudentin an der RWTH Aachen und an der Université de Lille, Frankreich

Schulbildung

05/92	Abitur am Kaiser-Karls-Gymnasium Aachen
09/89 - 02/90	Austauschschüler am Lycée Pierre Mendès in Péronne, Frankreich

Fremdsprachen

Englisch, Französisch	fließend in Wort und Schrift
-----------------------	------------------------------