

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung II
- Biometrie und Populationsgenetik -
Justus - Liebig - Universität Gießen

**Analyse der genetischen Diversität von
wildwachsenden Futterpflanzen aus der Sahelzone
in Westafrika anhand von RAPD - Markern**

Inaugural - Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)
am Fachbereich Biologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

**vorgelegt von
Andreas Langsdorf**

Gießen 1999

„Without the exceptional powers possessed by grasses to grow again after being eaten almost down to the roots, a large number of animal species, including nearly all farm animals could not have evolved. It is possible to argue that the astounding success of *Homo sapiens* as a species is ultimately due to the power possessed by grass to grow again after being eaten down by animals“

(HYAMS 1971)

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Regionaler Überblick	9
2.1	Allgemeines	9
2.2	Klima	10
2.3	Böden	16
2.4	Flora und Vegetation	17
2.5	Landwirtschaft	18
2.6	Desertifikation	18
3.	Material und Methoden	21
3.1	Auswahl der Untersuchungsflächen	21
3.2	Auswahl der Pflanzen-Stichproben	34
3.3	Arbeitsmethoden	35
3.3.1	DNA - Extraktionsmethoden	35
3.3.2	Die Polymerase Ketten Reaktion (PCR)	37
3.3.3	Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	38
3.3.4	Datenauswertung	42
3.3.4.1	RFLPscan	43
3.3.4.2	Distanz- und Ähnlichkeitsmaße	45
3.3.4.3	Clusteranalyse	47
3.3.4.4	Varianzanalyse	47
3.3.4.5	Hauptkoordinatenanalyse	48
3.3.4.6	Diskriminanzanalyse	49
4.	Ergebnisse	50
4.1	RAPD-Untersuchungen bei <i>Brachiaria</i>	50
4.2	Morphologische Bestimmung verschiedener <i>Brachiaria</i> -Arten	54
4.3	RAPD-Untersuchungen bei fünf <i>Brachiaria</i> -Arten	57
4.3.1	<i>Brachiaria xantholeuca</i>	60
4.3.1.1	Clusteranalyse bei <i>B. xantholeuca</i>	65
4.3.1.2	Diskriminanzanalyse bei <i>B. xantholeuca</i>	68
4.3.1.3	Varianzanalyse bei <i>B. xantholeuca</i>	69
4.3.1.4	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>H4</i>	71
4.3.1.5	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>H5</i>	73

4.3.1.6	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>H10</i>	74
4.3.1.7	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>Maradi</i>	75
4.3.1.8	Vergleich der Standorte <i>H1, H2, H4</i> und <i>H10, H11, H13</i>	77
4.3.2	RAPD-Untersuchungen bei <i>Brachiaria nidulans</i>	79
4.3.2.1	Clusteranalyse bei <i>Brachiaria nidulans</i>	80
4.3.2.2	Hauptkoordinatenanalyse bei <i>Brachiaria nidulans</i>	83
4.3.2.3	Diskriminanzanalyse bei <i>Brachiaria nidulans</i>	84
4.3.2.4	Varianzanalyse bei <i>Brachiaria nidulans</i>	84
4.3.3	<i>Brachiaria orthostachys</i>	85
4.3.3.1	Clusteranalyse bei <i>B. orthostachys</i>	86
4.3.3.2	Hauptkoordinatenanalyse bei <i>B. orthostachys</i>	89
4.3.3.3	Diskriminanzanalyse bei <i>B. orthostachys</i>	90
4.3.3.4	Varianzanalyse bei <i>B. orthostachys</i>	91
4.3.4	<i>Brachiaria ramosa</i> und <i>Brachiaria lata</i>	92
4.4	<i>Zornia glochidiata</i>	96
4.4.1	Clusteranalyse bei <i>Zornia glochidiata</i>	99
4.4.2	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>T1</i>	101
4.4.3	RAPD-Untersuchungen am Standort <i>T3</i>	102
5.	Diskussion.....	104
6.	Zusammenfassung	117
7.	Literaturverzeichnis.....	119
	Abbildungsverzeichnis.....	127
	Tabellenverzeichnis.....	129
	Abkürzungsverzeichnis.....	131
	Chemikalienverzeichnis	132

1. Einleitung

Typische Merkmale der Sahelzone sind Trockenheit, abnehmende Niederschläge, geringe natürliche Ressourcen. Die Länder in dieser Region gehören zu den Ärmsten in der Welt. Große Teile der Staaten Niger, Mali, Tschad und Mauretanien sind von der Wüste Sahara bedeckt. 50 % der Fläche des Staates Niger erhält weniger als 100 mm Niederschlag im Jahr (ANNUAIRE METEOROLOGIQUE DU NIGER 1994). Ein schmaler Streifen im Süden des Landes ist durch eine hohe Bevölkerungsdichte und intensive Landnutzung gekennzeichnet, wobei Viehzucht und Trockenfeldbau (*Pennisetum glaucum* und *Sorghum bicolor*) die wichtigsten Lebensgrundlagen darstellen. Extensiver Ackerbau und Überweidung zerstören jedoch große Teile der für den Menschen nutzbaren Gebiete im Sahel (Verknappung der Futterpflanzen). Da diese Gebiete nur bedingt für den Ackerbau geeignet sind, werden die angelegten Hirsefelder nach einigen Jahren wieder aufgegeben. Die Folgen sind zunehmende Desertifikationsprozesse (MENSCHING 1990). Wildwachsende Futterpflanzen wie z.B. *Brachiaria*, *Zornia*, *Alysicarpus*, *Dactyloctenium* und *Cenchrus* stellen in diesen Gebieten ein wichtiges Futterpotential dar, das im Falle *Cenchrus* auch vom Menschen direkt als Nahrungsquelle genutzt wird (IBPGR 1984). Diese Pflanzen sind durch den Besitz von Hitze- und Trockenresistenzen optimal an die extremen Klimate der Sahelzone angepaßt. Sie stellen somit wichtige pflanzengenetische Ressourcen in der Pflanzenzüchtung dar (MILES et al. 1996).

Im Rahmen des vom BMZ (Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit) finanzierten und in Zusammenarbeit mit dem IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) / Rom und dem ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) / Niamey am Botanischen Garten und Botanischen Museum Berlin / Dahlem (Herrn Prof. Greuter) ausgeführten Forschungsprojektes "*Patterns of genetic diversity in wild forage species and in situ - conservation in the Sahel*" wurde ein Unterprojekt mit der Universität Gießen abgeschlossen. Dieses Projekt wurde am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung II unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W. Köhler durchgeführt. 1993-1996 wurden von der Projektleiterin Fr. Dr. H. Kusserow in Mali, Burkina Faso und Niger insgesamt 44 Testflächen eingerichtet und über mehrere Jahre Blattproben der ausgewählten Zielarten gesammelt, nach Gießen gebracht und dort mit molekulargenetischen Markern analysiert. Weitere Blattproben und Samen (soweit möglich) wurden am ICRISAT in Niamey unter der Leitung von Herrn I. Salifou mit biochemischen Methoden (Isozymanalyse) untersucht (KUSSEROW 1997).

Innerhalb des Gesamtprojektes wurden folgende Fragen und Untersuchungsschwerpunkte definiert:

1. Inwieweit besteht ein Zusammenhang zwischen dem regionalen Verteilungsmuster ausgewählter Zielarten und ihrer genetischen Diversität; Unterscheiden sich Arten in ihrem genetischen Muster in Abhängigkeit edaphischer und klimatischer Prozesse? Verändert sich das genetische Muster über mehrere Sammeljahre hinweg ?
2. Was leisten die eingesetzten Untersuchungstechniken (biochemische und molekulargenetische Analysen) in Bezug auf oben angegebene Fragestellung; ergänzen sie sich, ist eine zu bevorzugen oder zu gering auflösend, um Unterschiede interpretieren zu können? Hier steht die Etablierung von auf die Zielarten angepaßten Analysetechniken im Vordergrund.
3. Vegetationsklassifizierung ausgewählter Gebiete mit dem Ziel der Definition von Pflanzengesellschaften. Über die Vergesellschaftung der Zielarten lassen sich Erkenntnisse über Veränderungen des Gesamtbestandes ableiten (Bearbeitung Fr. Dr. K. Küppers, Uni Frankfurt/ Main).
4. Monitoring (Luft und Satellitenbilder) von Pflanzengesellschaften, Untersuchung von Änderungen der Landoberfläche (Vegetation-Bodenkomplexe) und Abschätzungen der Gefährdung einzelner Gebiete (Bearbeitung Fr. Dr. H. Kusserow, FU Berlin; Fr. A. Oestreich, FU Berlin; Fr. A. Perschon, TU Berlin).
5. Erarbeitung ethnobotanischer Daten und Untersuchungen zu Weidepraktiken der einheimischen Bevölkerung in Hinblick auf eine *in situ*-Konservierung ausgewählter Zielarten (Bearbeitung Fr. L. Creemers, FU Berlin).

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Punkte 1 und 2 bearbeitet und mit Hilfe molekulargenetischer Methoden (RAPD-PCR) die genetische Variabilität der beiden wildwachsenden Futterpflanzen *Brachiaria* und *Zornia* aus der Sahelzone / Westafrika analysiert.

Die Gattung *Brachiaria* wurde erstmals von TRINIUS (1834) beschrieben und in die Unterordnung *Panicum* eingeordnet. GRISEBACH definierte 1853 *Brachiaria* als neue Gattung innerhalb der Familie *Poaceae* (*Gramineae*), die heute aus etwa 100 verschiedenen Arten besteht. 1919 wurden von STAPF 56 afrikanische Arten neu klassifiziert, 1940 folgte von PILGER eine weitere Revidierung für insgesamt 50 Arten weltweit. CLAYTON and RENVOIZE (1986) stellten *Brachiaria* zusammen mit den Gattungen *Urochloa*, *Eriochloa* und *Panicum* in die Unterfamilie *Paniceae*. 1987 revidierte WEBSTER die systematische Einteilung einiger australischen *Brachiaria*-Arten und transferierte sie in die Gattung *Urochloa*. 1992 wurden von MORRONE und ZULOAGA weitere *Brachiaria*-Arten aus Südamerika in die Gattung *Urochloa* aufgenommen.

Aufgrund morphologischer Gemeinsamkeiten vieler *Brachiaria*-Arten zu *Panicum*, stellt der Royal Botanic Garden in Kew, London, die Gattung *Brachiaria* in die Familie *Panicum* (MILES et al. 1996). RENVOIZE et al. (1996) untersuchten 97 *Brachiaria*-Arten weltweit und konnten 83 davon auf der Basis von morphologischen Merkmalen (Infloreszenz) in 9 Gruppen einordnen. Danach ließen sich afrikanische *Brachiaria*-Arten morphologisch von *Panicum*-Arten trennen, bei amerikanischen Arten war dies nur teilweise möglich. Vier der fünf in der vorliegenden Arbeit untersuchten *Brachiaria*-Arten wurden von RENVOIZE et al. (1996) in zwei Gruppen eingeteilt:

Gruppe I:

Untergruppe Ia: *B. orthostachys* *B. lata*

Untergruppe Ib: *B. ramosa*

Gruppe II: *B. xantholeuca*

SCHOLZ hingegen definiert (KUSSEROW et al. 1999; im Druck) für die fünf hier untersuchten *Brachiaria*-Arten drei morphologische Gruppen, die er der Gattung *Urochloa* zuordnet. Danach stehen im Unterschied zu RENVOIZE et al. *Urochloa xantholeuca* und *U. orthostachys* in der ersten Gruppe, *U. ramosa* und *U. nidulans* in der zweiten und *U. lata* in der dritten Gruppe. *B. nidulans* (= *U. nidulans*) stellt eine neue Klassifizierung dar, die von SCHOLZ (in KUSSEROW et al. 1999) erstmals beschrieben wird (s.u.). *Brachiaria* findet man an den unterschiedlichsten Habitaten, z.B. in feuchten Savannen Süd-amerikas wie auch in den Tropen- und Subtropen Afrikas. Die Gattung ist morphologisch sehr heterogen und man kann zwischen bodendeckenden und aufsteigenden Formen mit einer Höhe von über 2 m unterscheiden.

Gruppe Ia:	<i>Urochloa xantholeuca</i>
Ib:	<i>Urochloa orthostachys</i>
Gruppe IIa:	<i>Urochloa ramosa</i>
IIb:	<i>Urochloa nidulans</i>
Gruppe III:	<i>Urochloa lata</i>

Die fünf in dieser Arbeit untersuchten Arten sind einjährig, davon ist *B. xantholeuca* am häufigsten im Sahel Westafrikas vertreten (LE HOUËROU 1989).

Einige andere Arten gehören zu den wichtigsten tropischen Futtergräsern in Zentral- und Südamerika. Sieben aus Afrika eingeführte perennierende Arten (*B. arrecta*, *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. dictyoneura*, *B. humidicola*, *B. mutica*, *B. ruziensis*) werden heute in Südamerika als Futterpflanzen eingesetzt (KELLER-GREIN et al. 1996). Allein in Brasilien gibt es ca. 40 Mio. ha Anbauflächen, die zu 85 % aus *B. decumbens* und *B. brizantha* bestehen (DO VALLE & MILES 1994). *Brachiaria decumbens* und *B. brizantha* sind apomiktisch und deshalb in der Pflanzenzüchtung von besonderem Interesse. CIAT in Kolumbien arbeitet seit einigen Jahren an der Erforschung des Apomixis-Gens, u.a. mit dem Ziel der Einklonierung in andere Kulturpflanzen (TOHME et al. 1996; PESSINO et al. 1997). Dies wurde bereits bei den Getreidearten Perlhirse, Mais und Weizen erfolgreich durchgeführt (CARMAN 1992). Neben Apomixis findet man bei *B. decumbens* und *B. brizantha* besondere Schattentoleranzen, sie werden deshalb oft als Bodendecker in Kokos- und Gummipflanzungen Südostasiens eingesetzt (SHELTON et al. 1987). Nachteilig wirkt sich hingegen die Anfälligkeit gegenüber dem „Spittlebug“-Käfer (*Homoptera: Cercopidae*) aus, der jährlich große Teile der Ernte vernichtet (VALERIO et al. 1996).

Seit Anfang der 50er Jahre wurden etwa 1000 Samen von insgesamt 33 bekannten *Brachiaria*-Arten in Samenbanken gesammelt, wobei die ökonomisch wichtigsten Arten *B. brizantha* (40 %) und *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. nigropedata*, *B. jubata* und *B. ruziensis* am stärksten vertreten sind (KELLER-GREIN et al. 1996). Arten aus der Sahelzone wurden bisher nur wenig gesammelt, bisher sind sie weder molekulargenetisch noch biochemisch untersucht worden.

Zornia glochidiata (Reichb. Ex DC.) ist eine annuelle Futterpflanze und gehört in die Familie *Papilionaceae* (Leguminosen). Es werden auch die Synonyme *Z. biarticulata* (G. Don) und *Z. diphylla* verwendet (IBPGR 1984). Sie ist im gesamten Sahel, Sudan bis in die feuchten Tropen verbreitet, wächst auf sandigen und lateritischen Böden (*Brousse tigrè*), wobei sie

nach LE HOUËROU (1989) mindestens 200 mm Niederschlag pro Jahr benötigt. Sie erreicht eine Höhe von etwa 50 cm, eignet sich sehr gut für Silage, weniger jedoch für Heu, da sie im Trockenzustand sehr brüchig wird (BARTHA 1970; IBPGR 1984). Da *Zornia* mehrere Keimimpulse benötigt, findet man sie in der Regel erst in der Hauptregenzeit oder in der unmittelbaren Nähe von Bohrlöchern bzw. Brunnen. Die Keimung kann durch Anritzen der Samen beschleunigt werden. Keimungstests im Labor (ICRISAT, Niamey) zeigten, daß Samen von Lateritplateaus geringere Ausbeuten (10%) lieferten als solche von Sandstandorten (30%) (KUSSEROW 1997). Neben *Zornia glochidiata* findet man die aus Südamerika eingeführte ausdauernde *Z. latifolia*, in feuchteren Gebieten wie Äthiopien, Somalia, Kenia und Tansania hingegen die ausdauernde Art *Z. apiculata* (IBPGR 1984). Es gibt bisher keine molekulargenetischen oder biochemischen Untersuchungen dieser Futter-pflanze.

Seit einigen Jahren beobachtet man u.a. in der Sahelzone eine drastische Abnahme pflanzen-genetischer Ressourcen, d.h., große Weideareale gehen durch den extensiven Anbau von Hirsefeldern verloren und werden durch Desertifikationsprozesse zerstört (MENSCHING 1990). Seit der UNCED-Konferenz in Rio 1992 und der Internationalen Technischen Konferenz der FAO über pflanzen-genetische Ressourcen in Leipzig 1996 wurde ein "Global Plan of Action" verabschiedet, der u. a. vorsieht, durch eine *ex situ*- und *in situ*-Konservierung wichtige pflanzen-genetische Ressourcen zu erhalten. Zu diesen bedrohten Pflanzen werden mittlerweile auch die wildwachsenden Gräser und Leguminosen der Sahelzone gezählt, die durch den Besitz von Hitze- und Dürre-resistenzen für die Pflanzenzüchtung von großem Interesse sind (MC CUSKER 1991; MILES et al. 1996).

Molekulare Marker, wie z.B. RFLP-Marker (Restriction Fragment Length Polymorphism) werden seit Anfang der 80er Jahre erfolgreich in der Untersuchung von Pflanzenpopulationen eingesetzt (BOTSTEIN et al. 1980, BURR et al. 1983). Obwohl diese Methode sehr viel aufwendiger und teurer als die Isozymanalyse ist, und teilweise noch auf radioaktive Chemikalien angewiesen ist, erweist sie sich als wesentlich ergiebiger, was die Anzahl auswertbaren Markern anbelangt. Trotzdem werden Isozyme weiterhin als biochemischer Marker zur Analyse der genetischen Variabilität in Pflanzenpopulationen eingesetzt. Durch die Auftrennung der Proteine im elektrischen Feld und anschließender Anfärbung der allelischen Varianten können Polymorphismen sichtbar gemacht und ausgewertet werden. Der neuere Einsatz von Celluloseacetatgelen (WYNNE et al. 1991) vereinfacht die Laborarbeit erheblich und findet trotz geringerer Markerausbeute wieder verstärkte Anwendung. So konnten innerhalb des Projektes (Durchführung I. Salifou, ICRISAT, Niger) mit nur 6

Enzymsystemen nahezu alle Untersuchungsstandorte bei *Brachiaria xantholeuca* differenziert werden (KUSSEROW 1997). Diese Ergebnisse stellen die ersten Untersuchungen wildwachsender Futterpflanzen aus der Sahelzone mit Hilfe von Isozymmarkern dar. Bisherige Analysen beschäftigten sich hauptsächlich mit den wichtigen Kulturpflanzen Hirse (TOSTAIN et al. 1987; WARWICK 1987; WERTH et al. 1984), Mais (GOODMAN & STUBER 1980), Sojabohne (BLOGG & IMRIE 1982), Cassava (OCAMPO et al. 1993), Zuckerrohr (GLASZMAN et al. 1988), tropischem Getreide (ASIEDU 1992) und Kuherbse (VAILLANT et al. 1993).

Ebenso konzentrieren sich die Untersuchungen mit RFLP-Marker vorwiegend auf ökonomisch wichtige Futterpflanzen. So konnten PESSINO et al. 1997 nach einer Kreuzung zwischen einer apomiktischen und einer allogamen *Brachiaria*-Art zwei RFLP- und einen RAPD-Marker in der F1-Generation identifizieren, die mit dem Apomixis-Merkmal gekoppelt sind. Weitere Apomixis-Marker konnten von LUBBERS et al. (1994) und GUSTINE et al. (1997) bei verschiedenen *Pennisetum*-Arten identifiziert werden, so daß man heute davon ausgeht, daß sich das Apomixis-Gen auf einem „single-locus“ befindet und von dort die Aposporie steuert.

Die zur Zeit am häufigsten verwendeten molekularen Marker stellen die RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)-Marker dar. Diese Technik wurde zeitgleich von WELSH & MCCLELLAND und WILLIAMS et al. 1990 entwickelt. Durch den Einsatz von 9-10 bp langen, zufällig ausgewählten DNA-Sequenzen (Primer) werden genomische Regionen amplifiziert, die „inverted repeats“ aufweisen. Das Ergebnis ist ein Bandenmuster aus unterschiedlich großen DNA-Fragmenten, das für den untersuchten Organismus charakteristisch ist und als „DNA-Fingerprint“ bezeichnet werden kann. RAPD-Marker sind dominante Marker, d.h. in Diploiden zeigen Homozygote und Heterozygote das gleiche Bandenmuster.

Durch die einfache und schnelle Versuchsdurchführung sind RAPD-Marker besonders zur Untersuchungen von größeren Pflanzenpopulationen geeignet. HUFF et al. untersuchten (1993) natürliche Büffelgrass-Populationen (*Buchloè dactyloides*) in Mexiko und Texas und konnten mit nur sieben RAPD-Primer vier Populationen differenzieren, die regional und ökoklimatisch voneinander getrennt sind. HUFF et al. betonen, daß auch eine Stichprobe von nur 12 Individuen für populationsgenetische Untersuchungen ausreichend sein kann. Entscheidend hierbei ist der Einsatz geeigneter Primer. Für die Analyse der genetischen Variation innerhalb regionaler Populationen schlagen HUFF et al. jeweils 25 Individuen vor. In einer weiteren Untersuchung dieser Arbeitsgruppe (PEAKALL et al. 1995) wurden die gleichen Populationen mit Allozym-Markern untersucht, wobei lediglich die beiden regionalen Biotypen klar differenziert werden konnten.

RAPD-Untersuchungen liefern nicht zuletzt aufgrund der höheren Anzahl an Markern mehr genetische Variation als Allozyme, dies zeigten auch Untersuchungen bei *Allium* (WILKIE et al. 1993), *Apium* (YANG & QUIROS 1993), *Brassica* (HU & QUIROS 1991), *Hordeum* (DAWSON et al. 1993), *Theobroma* (RUSSELL et al. 1993) und *Stylosanthes* (KAZAN et al. 1993). Obwohl die Auflösung der genetischen Struktur durch das Dominanzverhalten eingeschränkt ist, werden RAPD-Marker in den unterschiedlichsten Gebieten eingesetzt, so z.B. bei der Erstellung genetische Karten wichtiger Kulturpflanzen (Sojabohne, WILLIAMS et al. 1990; Tomaten, KLEIN-LANKHORST et al. 1991; *Sorghum*, TAO et al. 1993; Weizen, DEVOS & GALE 1992), in der Virusresistenzzüchtung (Gerste, ORDON et al. 1998, SCHIEMANN et al. 1998) oder zur Hybrididentifizierung (Mais, WELSH et al. 1991; Sonnenblume, MÖSGES & FRIEDT 1994; KÖHLER 1997; Alfalfa, GJURIC & SMITH 1996, YU & PAULS 1993). Weiterhin zeigten RAPD-Untersuchungen bei Erbsen (RATNAPARKHE et al. 1995), Linsen (SHARMA et al. 1995) und Erdnuß (HALWARD et al. 1991), daß die genetische Diversität innerhalb der wildwachsenden Arten wesentlich höher als in Kulturpflanzen ist.

Es gibt zur Zeit keine genetischen Analysen von Futtergräsern aus der Sahelzone. Von größerem Interesse waren bisher vielmehr Ertrags- und Futterwertanalysen (NG et al. 1991, LE HOUËROU 1989; GLATZLE 1990, MILES et al. 1996). M'RIBU & HILU (1994) und HILU (1994) untersuchten vier verschiedene *Panicum*- Getreidearten aus Europa, Asien und Nordamerika mit RAPD-Marker und konnten diese mit 11 Primer voneinander differenzieren. Ebenso wurden von GUNTER et al. (1996) 14 Populationen des Präriegrases *Panicum virgatum* in Nordamerika mit 5 Primer identifiziert. PEAKALL et al. (1993) und HUFF et al. (1995) untersuchten natürliche Büffelgras-Populationen (*Buchloè dactyloides*) aus Texas und Mexiko mit Allozym- und RAPD-Marker. Als Ergebnis konnten sie mit Hilfe von RAPD-Markern regionale und individuelle Unterschiede verschiedener Populationen feststellen. Weitere molekulargenetische Untersuchungen bei Futterpflanzen führten KAZAN et al. (1992) und (1993) bei *Stylosanthes* durch. Hier konnten mit Hilfe der RAPD-PCR unterschiedliche Linien charakterisiert werden, die zuvor taxonomisch nicht eindeutig zugeordnet werden konnten.

Die beiden in der vorliegenden Arbeit untersuchten einjährigen Pflanzen *Brachiaria* und *Zornia* sind wildwachsende Gräser bzw. Leguminosen, die für die Viehhalter der Sahelzone eine wichtige Futterquelle darstellen. Durch Überweidung sowie Überstockung der Viehherden in Verbindung mit Dürreperioden hat sich jedoch die Vegetation der Sahelzone in den letzten Jahrzehnten dahin verändert, daß große Weideflächen zunehmend degradieren und

nur noch geringe Futtererträge bringen (LE HOUËROU 1989). Durch diese extremen Bedingungen verschwinden viele wichtige, ausdauernde Gräser und Leguminosen und werden durch einjährige, robustere Pflanzen ersetzt, die meistens vom Vieh verschmäht werden und sich dadurch ungehindert ausbreiten können. *Brachiaria* und *Zornia* stellen zwei wichtige Vertreter wildwachsender Futterpflanzen dar, wobei *Brachiaria* mit mehreren Arten im gesamten Sahel vertreten ist. *Zornia* zeichnet sich u.a. durch minimale Bodenansprüche aus, man findet sie deshalb besonders auf den verkrusteten Lateritplateaus, die für die meisten anderen Futterpflanzen keine Lebensgrundlage darstellen.

2. Regionaler Überblick

2.1 Allgemeines

Unter dem Begriff Sahelzone wird ein ca. 6000 km langes und 400 - 600 km breites Gebiet südlich der Sahara bezeichnet, daß sich vom Atlantischen Ozean bis zum Horn von Afrika quer durch den afrikanischen Kontinent erstreckt (Abb. 1). Mit ca. 4,5 Mio. km² entspricht dies ungefähr einer Fläche, die 13 mal so groß wie die von Deutschland (350.000 km²) ist. Das Wort „Sahel“ kommt ursprünglich aus dem Arabischen, wo es „Ufer“ oder „im Küstenbereich liegend“ bedeutet und wurde erstmals von CHEVALIER (1900) in das wissenschaftliches Vokabular aufgenommen. In die Schlagzeilen der Weltpresse kam der Sahel allerdings erst durch die Dürrekatastrophen in den Jahren 1969-73, als mehrere Jahre hintereinander die Niederschläge katastrophal niedrig ausfielen und für Mensch und Tier dramatische Folgen hatten (MENSCHING 1974).

An der Sahelzone haben die Staaten Niger, Mali, Tschad und Sudan Anteil. In Mauretanien gehört nur die südliche, in Senegal und Burkina Faso nur die nördliche Hälfte zum Sahel.

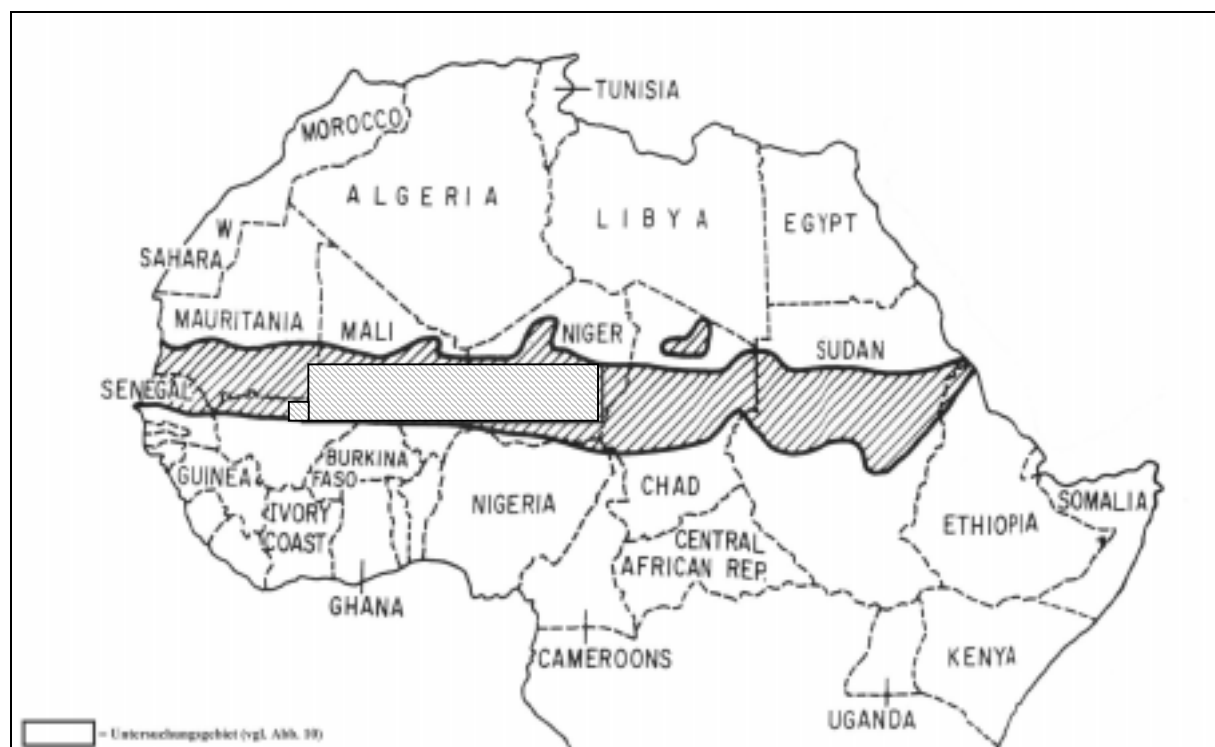


Abb. 1: Die Sahelzone in Afrika

Das Untersuchungsgebiet erstreckt sich über ca. 2000 km Ost-West-Ausdehnung in die Länder Niger, Mali und Burkina Faso hinein (schraffiert; verändert nach LE HOUËROU 1989).

2.2 Klima

Der Sahel ist naturgeographisch eine klimatisch-vegetationsmäßige Übergangszone von der vollariden Sahara zu den wechselfeuchten tropischen Savannen (KRINGS 1982). Die Sahelzone war in ihrer Geschichte wiederholten Klimaschwankungen ausgesetzt. Es wechselten sich feuchte und trockene Phasen voneinander ab (Abb. 2). Vor ca. 18000 Jahren hatte sich die Wüste weit nach Süden vorgearbeitet. Die Vegetation ging stark zurück und Sanddünen breiteten sich im Sahel aus. Als sich vor 8000 Jahren das Klima wieder veränderte und die Niederschläge zunahmen, konnte sich die Vegetation nach Norden hin ausbreiten und die Wüste bis auf kleine, isolierte Gebiete zurückdrängen. Der Tschadsee war um ein Vielfaches größer als heute, und droht in den kommenden Jahren völlig auszutrocknen (KRINGS 1982). Vor 2000 Jahren wurde das Klima wieder trockener, Flüsse und Seen bildeten sich stark zurück und der Regenwald schrumpfte auf einen schmalen Küstenstreifen. Die Wüste breitet sich seither wieder in Richtung Süden aus (LEISINGER 1992). Der Niger-Fluß bildet im Südosten Malis ein großes Binnendelta aus, das für die Bevölkerung eine wichtige Lebensgrundlage darstellt. Nach LE HOUËROU (1989) befand sich dieses Delta zu Beginn des letzten Jahrtausends noch etwa 150-200 km weiter nördlich.

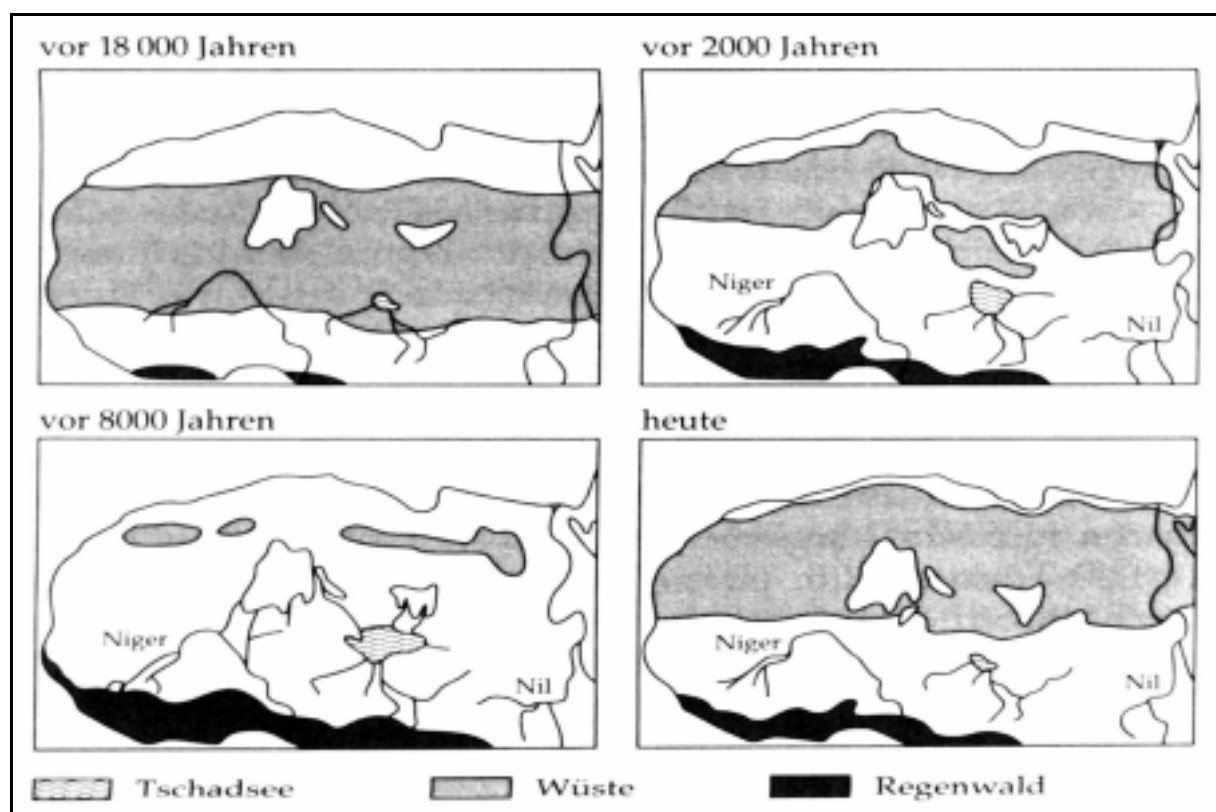


Abb. 2: Die klimatische Entwicklung der Sahara und Sahelzone seit 18000 Jahren. Die Sahara hat ihre alte Größe wieder erreicht, ist aber deutlich nach Norden verschoben. (aus LEISINGER 1992)

Das Klima im Sahel wird durch den Wechsel zwischen einer 9-monatigen Trockenzeit und einer 3-monatigen Regenzeit (Juli-September) bestimmt. Dabei nimmt die Niederschlagsmenge von Norden nach Süden kontinuierlich ab. Die Regenzeit dauert in der Saharo-Sahelischen Übergangszone 15-30 Tage, in der Sahelzone 30-90 Tage und der Sudano-Sahelischen Übergangszone 90-120 Tage (LE HOUÈROU 1989). Charakteristisch für den gesamten Sahel ist aber die höchst ungleiche Verteilung und Intensität der Niederschläge während der Regenzeit, da die Regenschauer nicht flächenhaft, sondern als lokal begrenzte Gewitterschauer niedergehen. Das bedeutet, daß zwischen zwei Niederschlägen an einem Standort mehrere Wochen vergehen können. Damit sind die Pflanzen einem extremen Trockenstreß ausgeliefert und die Gefahr des Verdorrens ist sehr groß. Die Variabilität des jährlichen Niederschlages steigt mit der Trockenheit, also von Süd nach Nord. Der Variationskoeffizient (C.V.) liegt beispielsweise am Südrand der Sahara bei über 80 %, in der Saharo-Sahelischen Übergangszone bei 45 % und der Sudano-Sahelischen Übergangszone bei 25 % (LE HOUÈROU 1989). Die Niederschlagsmengen variieren sehr stark von Jahr zu Jahr. Seit Ende der 60er Jahre liegen sie weit unter dem langjährigen Mittel (Abb. 3). Die Folgen sind eine Verknappung der Wasserressourcen, die zu einer Reduktion der Vegetation und damit zu Mißernten in den Jahren 1971-1974 bzw. 1982-1984 führten. Dadurch kam es insbesondere für die Tuareg-Stämme im Nordsahel zu hohen Viehverlusten.

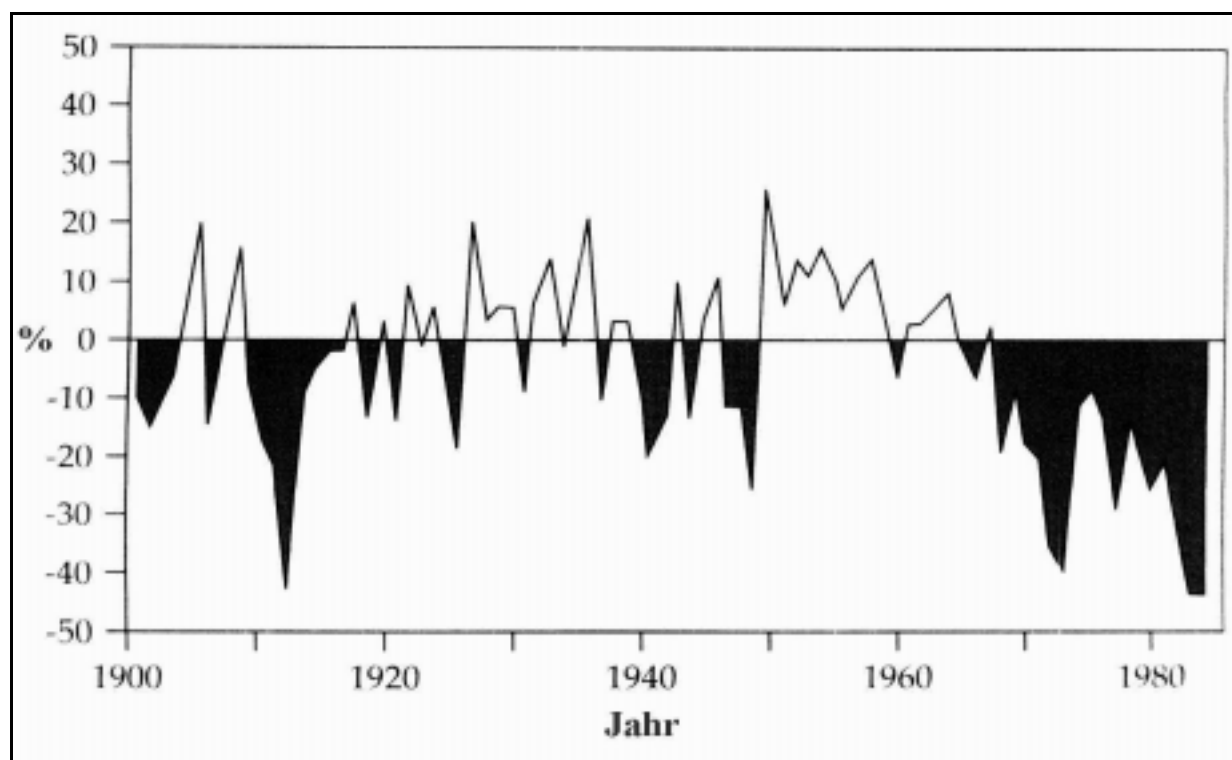


Abb. 3: Abweichung der Niederschläge vom langjährigen Mittel für den gesamten Sahelraum seit 1900 (verändert nach LEISINGER 1992).

LE HOUËROU (1980) teilt das Gebiet südlich der Sahara anhand der Isohyeten (Verbindungsline zwischen Meßstationen mit gleichem mittleren Jahresniederschlag) in mehrere Zonen ein (Abb. 4):

➤	Sahara	< 100 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Sahel	100 - 600 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Sudan	600 - 1000 / 1100 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Guinea	1000 / 1100 - 1500 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Äquatorialer Regenwald	1500 - 3000 mm	Niederschlag/Jahr

Weiterhin definiert LE HOUËROU (1989) speziell für die Sahelzone drei ökoklimatische Zonen:

➤	Saharo-Sahelische Übergangszone	100 - 200 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Sahelzone „senso stricto“	200 - 400 mm	Niederschlag/Jahr
➤	Sudano-Sahelische Übergangszone	400 - 600 mm	Niederschlag/Jahr

Saharo-Sahelische Übergangszone

Dieser Vegetationstyp ist gekennzeichnet durch eine Grasflur mit verstreuten Baum- und Buschgruppen, in der vorwiegend die xeromorphen Arten *Panicum turgidum*, *Stipagrostis sp.*, *Aristida pallida* und *Acacia raddiana* vorkommen.

Sahelzone „senso stricto“

Die Vegetationsformation ist eine Dornbuschsavanne, die sich in eine annuelle Krautschicht (dominierende Vertreter sind hier *Cenchrus* und *Zornia*) und eine Baum-Strauchschicht (*Acacia sp.*, *Balanites aegyptiaca*, *Commiphora africana*) gliedert.

Sudano-Sahelische Übergangszone

Die Artenzusammensetzung zeichnet sich durch eine Zunahme an feuchtliebenden Pflanzen aus. Der Anteil perennierender Arten (*Andropogon gayanus*) an der Krautschicht ist höher als in der Sahelzone. Als weitere Arten sind vertreten: *Aristida mutabilis*, *Schoenefeldia gracilis* sowie die fünf Zielarten *Cenchrus biflorus*, *Zornia glochidiata*, *Alysicarpus ovalifolius*, *Brachiaria* und *Dactyloctenium aegyptium*. Neben verschiedenen *Acacia*-Arten findet man unter der Baum- und Strauchschicht vor allem Vertreter der Gattung *Combretum* (*C. micranthum*, *C. nigricans*, *Guiera senegalensis*). Diese Vegetationsformation nennt man auch eine Combretaceen-Savanne.

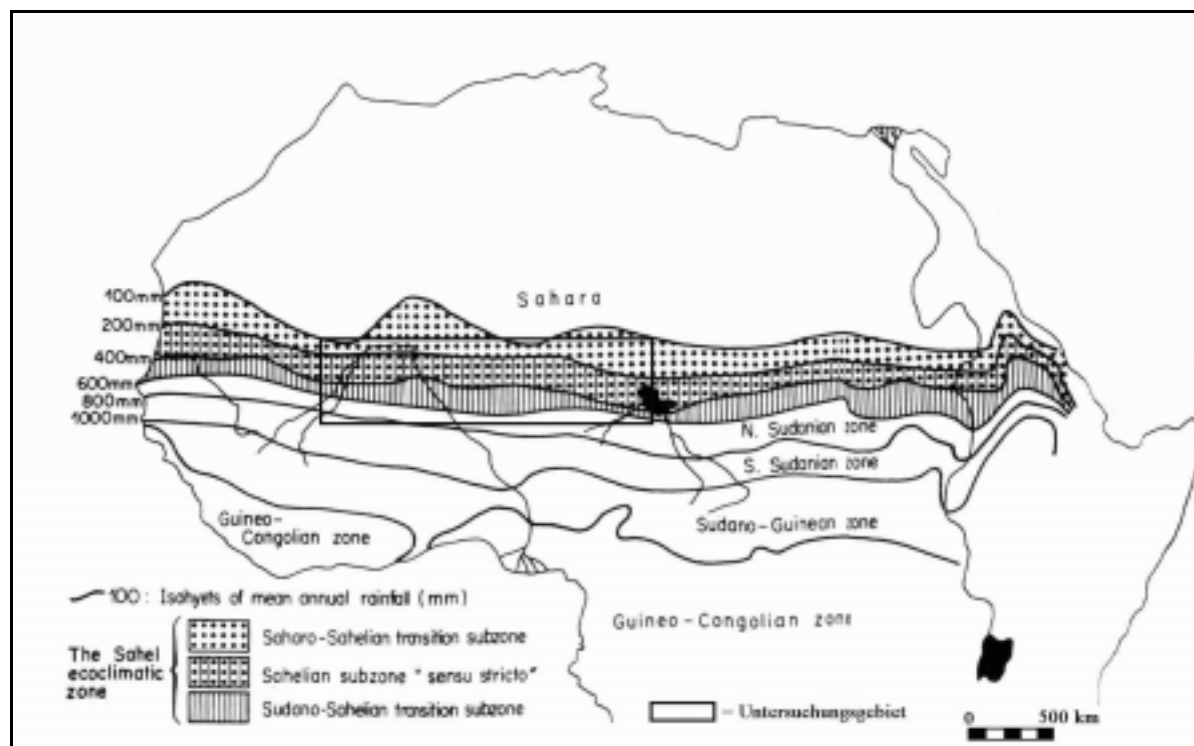
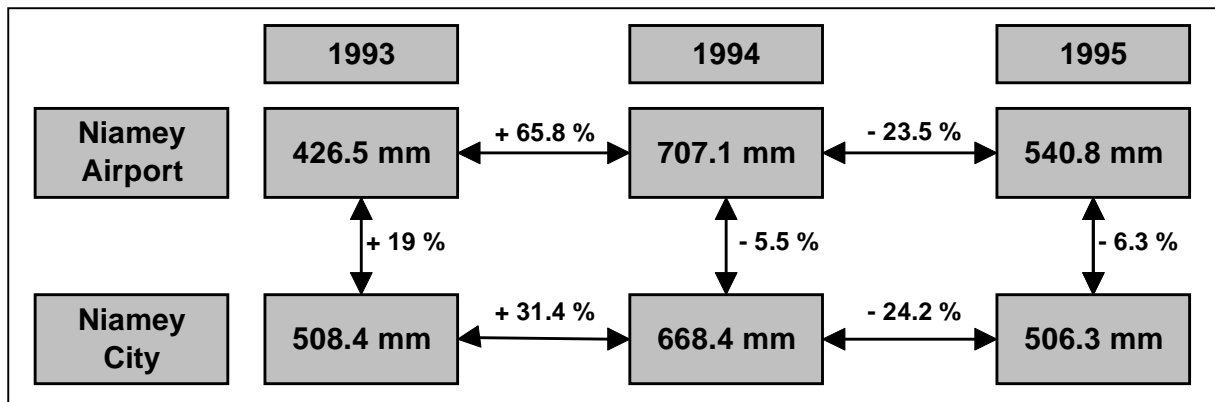


Abb. 4: Ökoklimatische Zonen der Sahelzone (verändert nach LE HOUËROU 1989).

Oft sind die Meßstationen im Niger über 100 km voneinander entfernt. Aufgrund der hohen lokalen Niederschlagsvariabilität weichen die Meßwerte vor Ort stark von den ermittelten Isohyeten ab. In einer Untersuchung von TAUPIN (1997) wurde die Niederschlagsvariabilität in Niamey / Niger 1994 und 1995 auf einer Fläche von 1 km² gemessen. Es kamen insgesamt 25 Meßgeräte zum Einsatz, die Unterschiede von bis zu 15 % in der Niederschlagsmenge registrierten. Niederschlagsmessungen in Niamey-Airport und Niamey-City zwischen 1993 und 1995 kamen zu ähnlichem Ergebnis (ANNUAIRE METEOROLOGIQUE DU NIGER 1995). Beide Meßstationen sind ca. 5 km voneinander entfernt. 1993 wurden in Niamey-City 19 % mehr Niederschlag gemessen als in Niamey-Airport. In den beiden darauf folgenden Jahren 1994 und 1995 sind die Unterschiede deutlich geringer und betragen 5.5 % für 1994 und 6.4 % für 1995 (Tab. 1). Ebenso wurden an der selben Meßstation von 1993 bis 1995 große Niederschlagsschwankungen festgestellt. Am Niamey-Airport wurden 1993 426.5 mm Jahresniederschlag gemessen, dieser Wert stieg im Folgejahr 1994 um 65.8 % auf 707.1 mm an, sank aber im darauf folgenden Jahr 1995 wieder um 23.5 % auf 540.8 mm. Für Niamey-City fielen diese Schwankungen etwas niedriger aus, so daß hier 1994 31.4 % mehr Niederschlag als 1993 und 1995 24.2 % weniger Niederschlag zu verzeichnen waren. Abb. 5 verdeutlicht diese Problematik anhand der Niederschlagsdaten von Niamey-City der letzten 90 Jahre. Zu Beginn der 70er und Anfang der 80er Jahre lagen die Werte weit unter dem Mittel und führten zu großen Einbußen in der Landwirtschaft und zu Engpässen in der Ernährung.

Tab. 1: Niederschlagsvariabilität in Niamey in den Jahren 1993–1995.

Niamey-City und Niamey-Airport sind 5 km voneinander entfernt. Angegeben sind die mittleren jährlichen Niederschläge und die prozentuale Änderung von Jahr zu Jahr bzw. zwischen den beiden Meßstationen. (ANNUAIRE METEOROLOGIQUE DU NIGER 1995)



Vergleicht man die Niederschlagsdaten mehrere Standorte über einen längeren Zeitraum miteinander, so kann im Niger eine Verschiebung der Isohyeten in südöstliche Richtung und damit ein starker Niederschlagsrückgang beobachtet werden. Abb. 6 zeigt einen Vergleich zweier Meßperioden (1950–1980 und 1981–1995) für den Staat Niger. Der Südwardstrend ist im Westen weniger stark ausgeprägt als im Osten Nigers. Lag die 350 mm Isohyete noch 1990 oberhalb Tahouas, ist sie in den folgenden fünf Jahren deutlich südwärts gewandert. Durch menschliche Eingriffe (u.a. Stauung der Zuflüsse in Nigeria) wird die Austrocknung des Tschadsee weiter beschleunigt, der heute nur noch einen Bruchteil seiner ursprünglichen Größe besitzt.

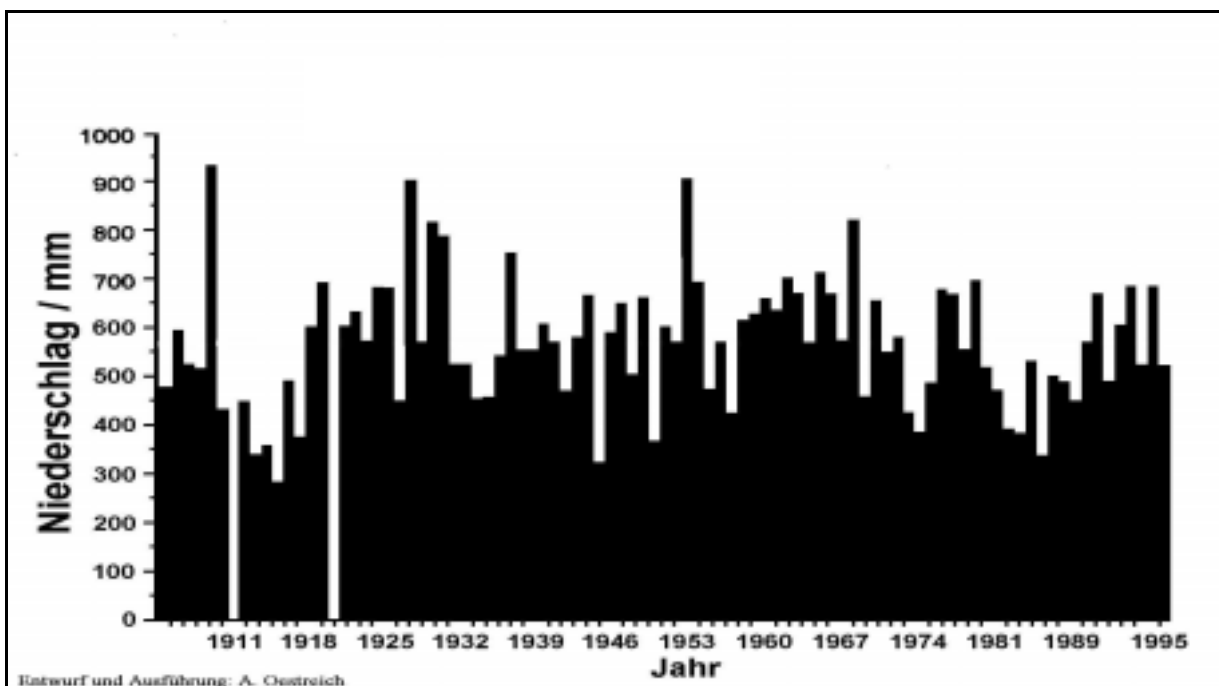


Abb. 5: Niederschlagsdaten aus Niamey-City der letzten 90 Jahre (1905–1995) Angegeben ist der jährliche Niederschlag. Die Meßdaten für 1911 und 1920 fehlen.

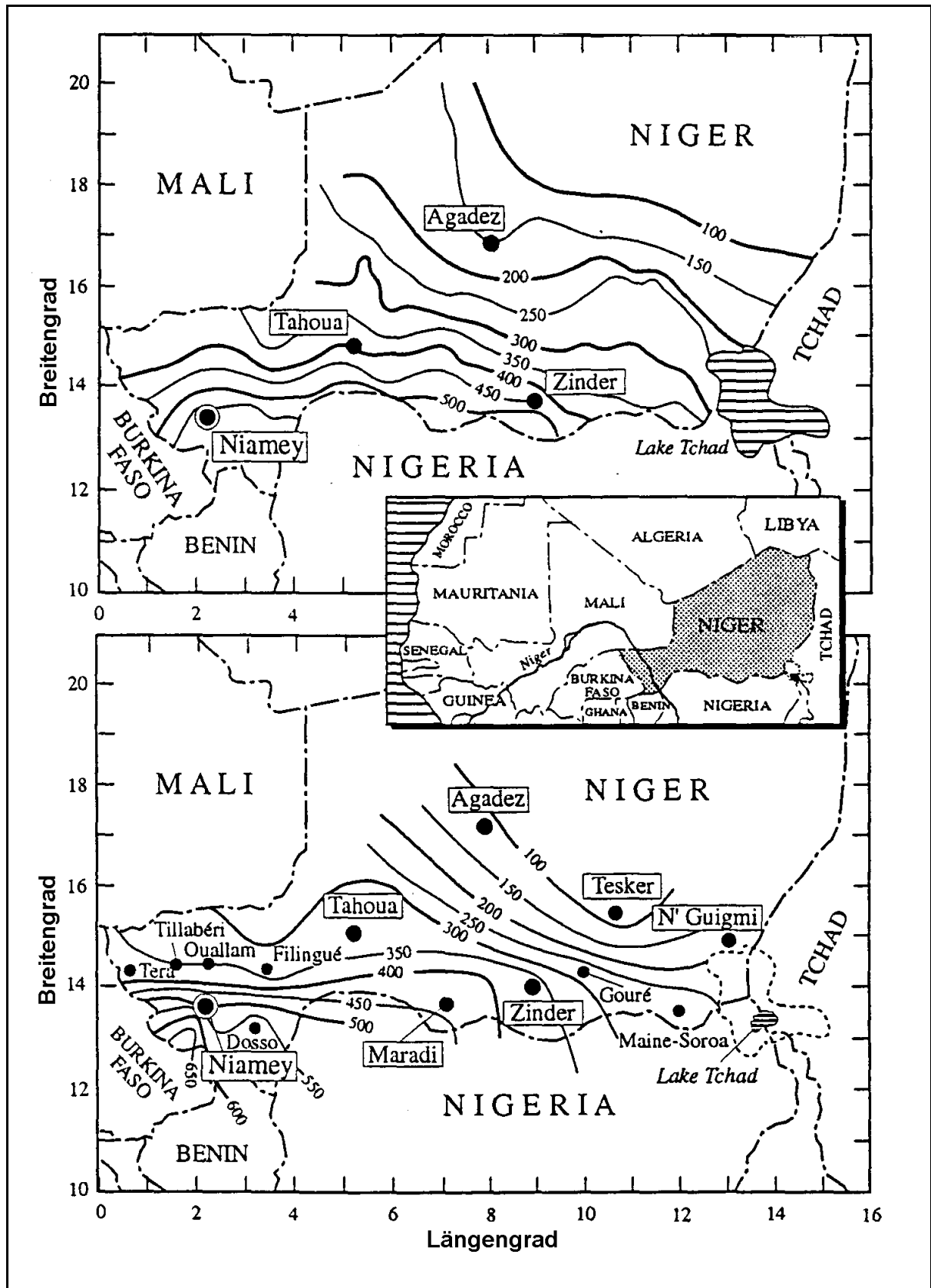


Abb. 6: Vergleich der Isohyeten der Periode 1950–1990 (obere Grafik) und 1981–1995 (untere Grafik) (aus KUSSEROW und OESTREICH 1998).

2.3 Böden

Im Norden des Sahels an der Grenze zur Wüste findet man sog. „Rohböden“, bestehend aus Kies, Geröll oder groben Sanden, weiterhin verfestigte rötliche Dünenböden, die eine dichte Grasbedeckung aufweisen (KRINGS 1982). Im Bereich der Trocken- und Feuchtsavannen des südlichen Sahels herrschen trockene tropische Rotlehmböden vor, die sich für den Anbau von Hirse eignen. Diese Böden sind der Gefahr der Laterisierung ausgesetzt, ein Prozeß, der weite Gebiete des Sahels und südlich davon erfaßt hat. Infolge hoher Verdunstungsraten während der heißen Jahreszeiten werden durch das aufsteigende Bodenwasser Eisenoxid an die Oberfläche abgegeben und dort angereichert. Durch zunehmende Abholzung bilden sich betonharte „Eisenkrusten-Plateaus“, die für den Ackerbau nicht mehr genutzt werden können. Auf diesen Lateritkrusten haben sich bestimmte Vegetationsmuster ausgebildet. Diese Strauchformationen, die aus dem Flugzeug betrachtet an ein Tigerfell erinnern, werden „Brousse tigrière“ genannt (KUSSEROW & HAENISCH 1999).

Die ausgewählten Testflächen weisen sowohl Sand- als auch Lateritböden auf. In einer bodenökologischen Bewertung (PERSCHON 1996) der ausgewählten Standorte wurden neben pH-Wert, Phosphat-, Stickstoff- und organische Kohlenstoffwerte sowie eine Reihe von Kationen (H^+ , Al^{3+} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) untersucht. Insbesondere der pH-Wert stellt eine wichtige Größe bei vielen Bodenprozessen dar. (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1992). Hierbei wirkt sich die Bodenacidität direkt oder indirekt aus auf

- die Verfügbarkeit von Nährstoffen
- die Nitrifikation
- das Auftreten toxisch oder antagonistisch wirkender Al^{3+} - und Schwermetall-Ionen
- das Bodengefüge
- die Lebensbedingungen der Bodenorganismen

Für die untersuchten Testflächen wurden pH-Werte zwischen 4.7 und 7.0 ermittelt. Neutrale bis schwach saure Bodenreaktionen sind in der Regel günstig für das Pflanzenwachstum. Dies gilt insbesondere für Phosphat, das in diesem pH-Bereich kaum als Calciumphosphat fixiert und somit gut verfügbar ist (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1992). Außer Phosphat ist Stickstoff sehr häufig limitierender Faktor für das Pflanzenwachstum. BREMAN & DEWIT (1983) stellten in Analysen in der Sahelzone fest, daß oberhalb der 300 mm Isohyete ein Mangel an Stickstoff und Phosphat den Ertrag der dortigen Naturweiden erheblich stärker begrenzt als ein Wassermangel.

Nach landwirtschaftlichen Klassifikationsmaßstäben sind die von PERSCHON (1996) ermittelten Werte für Phosphor, Stickstoff und Kohlenstoff sehr gering. Zu hohe Al^{3+} -Werte können hingegen in Verbindung mit pH-Werten unterhalb 5.5 zu einer Pflanzentoxizität führen und damit den Pflanzenbestand auf nur wenige widerstandsfähige Arten reduzieren (FOY et al. 1978). Dies gilt insbesondere für die Lateritplateaus der Brousse tigrée, hier wurden die höchsten Al^{3+} -Werte gemessen.

2.4 Flora und Vegetation

Die Flora der Sahelzone zeichnet sich durch eine geringe Artenzahl von ca. 1500 blühenden Pflanzen auf einer Fläche von 4.5 Mio. km^2 aus (LE HOUËROU 1989). Die hier vorkommenden Arten gehören zum paleotropischen Florenreich, wobei folgende Familien am häufigsten vertreten sind: *Poaceae* (Ordnung *Poales*); *Fabaceae*, *Mimosaceae*, *Caesalpinaceae* (Ordnung *Leguminosae*); *Capparidaceae* (Ordnung *Capparales*); *Malvaceae* (Ordnung *Malvales*); *Combretaceae* (Ordnung *Myrtales*). Es gibt etwa 40 endemische Arten (WHITE 1983). In Abhängigkeit der Niederschläge bildet sich ein Nord-Süd-Gradient in der floristischen Zusammensetzung von der südlichen Sahara zur Sudanzone aus.

Die Zusammensetzung der Kraut- und Grasschicht ist in hohem Maße abhängig von den jährlichen Niederschlägen, die großen Einfluß auf die Samenproduktion und den Samenvorrat im Boden nehmen. Eine Art kann somit an einem bestimmten Standort für ein oder mehrere Jahre dominant und dann im folgenden Jahr völlig ohne besonderen Grund von der Oberfläche verschwinden (LE HOUËROU 1989). Diese Dynamik ist sehr kompliziert und bis heute nicht völlig geklärt. Offensichtlich gibt es Interaktionen zwischen dem Niederschlag und der Samenproduktion. So legen einige Arten unter bestimmten Bedingungen (geringe Niederschläge) eine Samenruhe von einen bis mehreren Jahren ein, z.B. *Cenchrus biflorus* (pers. Mitteilung I. Salifou). Entsprechend haben diese Samen eine dünne Samenschale und können bei ausreichendem Niederschlag schnell wieder keimen und neue Samen bilden. *Dactyloctenium* und *Zornia* hingegen haben eine dickere Samenschale und sind deshalb unempfindlicher gegenüber Wassermangel (DE VRIES & DJIETEYE 1982; CISSÈ 1986). Dies bedeutet für die Zusammensetzung der Pflanzengesellschaft, daß sich z.B. letztgenannte Arten schon nach den ersten Niederschlägen vor der eigentlichen Regenzeit durch ihr früheres Auskeimen einen Konkurrenzvorteil verschaffen können.

2.5 Landwirtschaft

Der Großteil der Bevölkerung (Niger und Mali >80 %, Burkina Faso >90 %; LEISINGER 1992) lebt im ländlichen Raum und ist für ihren Lebensunterhalt auf landwirtschaftliche Arbeit angewiesen. Neben dem Hirseanbau ist die Viehhaltung die dominierende Wirtschaftsform in der Sahelzone. Hierbei haben sich verschiedene Formen der Viehhaltung entwickelt. So findet man in den trockenen Gebieten des Nordsahels nur noch nomadische Viehhaltung (Pastoral Nomadism), wobei durch häufigen Ortswechsel dem Vieh die jeweils bestmöglichen Weidegründe und Wasserstellen zugänglich gemacht werden. Während der Regenzeit wandern die Nomaden mit ihren Herden nordwärts zu den großen Weiden, auf denen vorwiegend annuelle Gräser, u.a. die fünf hier beschriebenen Zielarten, wachsen. Mit dem Beginn der Trockenzeit ziehen die Viehhalter wieder zurück in den Süden der Sahelzone. Eine besondere Art der Viehhaltung beschreibt die Transhumanz, einer nur saisonalen Herdenwanderungen, wobei die Herdenbesitzer sesshaft sind und meist noch Ackerbau betreiben (ähnlich der Almwirtschaft in Mitteleuropa) (GLATZLE 1990). Seminomadismus schließlich umfaßt eine Vielzahl von Zwischenformen, insbesondere solche, bei der durch moderne Veränderungen ehemals reine Nomaden (pure nomads) ganz oder teilweise sesshaft geworden sind. Bei der stationären Tierhaltung werden die Tiere das ganze Jahr nahe der Siedlung gehalten, wobei meist Ernterückstände als Futter dienen. Das Vieh wird nach der Hirseernte auf die Felder gelassen und somit noch als Dungproduzent nutzbar gemacht (SCHLEICH 1985). Oft werden auch Futterpflanzen innerhalb von Hirsefeldern stehen gelassen und bei ausreichender Größe geerntet und verfüttert oder auf dem Markt verkauft. Zu den wichtigsten Nahrungsmitteln in der Sahelzone gehören die Perlhirse (*Pennisetum glaucum*) und die Sorghumhirse (*Sorghum vulgare*). Neben Hirse sind die Exportkulturen Erdnuß und Baumwolle („cash-crops“) von großer Bedeutung, benötigen aber höhere Niederschläge und werden überwiegend in der nördlichen Sudanzone angebaut (KRINGS 1982).

2.6 Desertifikation

Die Desertifikation beschreibt eine schwere Degradationsform von Ökosystemen in den Trockengebieten der Erde. Insbesondere durch die Dürren in der Sahelzone in den 70er Jahren ist man auf dieses Thema aufmerksam geworden. Das Ausmaß der Desertifikation ist bis heute nur schwer zu ermitteln. So geht MABBUTT (1984) von insgesamt 1.5 bis 2 Milliarden ha Fläche aus, die bereits desertifiziert sind. DREGNE (1983) errechnete hingegen über 3

Milliarden ha Fläche aus, wobei jährlich etwa 20 Mio. ha landwirtschaftlich genutzte Fläche hinzukommen.

Der Begriff „Desertifikation“ (AUBREVILLE 1949) stammt aus dem Lateinischen „desertus facere“ und bedeutet wüstmachen, verwüsten. Im Rahmen der UN-Konferenz über Umwelt und Entwicklung (UNCED) in Rio de Janeiro, Brasilien, wurde 1992 die folgende Definition für Desertifikation festgelegt: “Desertification is land degradation in arid, semi-arid and dry sub-humid areas resulting from various factors, including climatic variations and human activities“ (UNEP 1993). Eine weitere Definition gibt MENSCHING (1990): Die Desertifikation ist eine „...Ausbreitung wüstenähnlicher Verhältnisse in Gebiete hinein, in denen sie zonal-klimatisch eigentlich nicht existieren sollten“. Das bedeutet, daß im Gegensatz zur Dürre, der Mensch an der Desertifikation ursächlich beteiligt ist. MENSCHING spricht hier von „man-made desert“. Insbesondere während Dürreperioden wirkt sich der Einfluß des Menschen besonders drastig auf die Vegetation aus. Die Vegetationsschicht bezeichnet GRAINGER (1992) als degradiert, wenn sich über längere Zeit die Vegetation am Standort ändert und sich dadurch die Nutzung durch den Menschen verschlechtert. So bilden sich zunächst punktuell bis flächenhaft nicht bewachsene Flächen in einer ansonsten geschlossenen Vegetation aus. Als Folge zu starker Überweidung ist eine Zunahme der nicht freißbaren Pflanzenanteile in der natürlichen Vegetation zu beobachten. Damit verbunden ist eine Vernichtung wichtiger perennierender Gräser, z.B. einige Arten der Gattungen *Arista* und *Andropogon*, anstelle derer einjährige weniger nahrhafte Gräser treten (LE HOUËROU 1989). Zudem findet eine Abnahme der Vegetationsdichte und eine Änderung des Verteilungsmusters der Gehölzgesellschaft statt (KUSSEROW 1992, 1994). Weitere Indikatoren sind das Absenken des oberflächennahen Grundwasserspiegels, vor allem im Einzugsbereich der Brunnen und der periodisch wasserführenden Talungen (Marigot) (MENSCHING 1990). Die verstärkte Vegetationszerstörung wird durch Bodenerosion gefördert, wobei feine Partikel ausgeblasen und weggeschwemmt werden und ein verkrusteter Horizont zurückbleibt. Dadurch können Samen nicht mehr in den Boden eindringen und auskeimen (HAHN und KUSSEROW 1998).

Abb. 7 zeigt eine Aufnahme aus der Region Tahoua (September 1994). Ein Großteil der Wurzeln dieses Strauches wurde bereits durch Wind und Wasser freigelegt. Im offenen Gelände findet man meist nur an windgeschützten Stellen (unter Büschen und Sträuchern) eine Gras- und Krautschicht. Abb. 8 zeigt eine Aufnahme eines lateritischen Plateaus aus der Region Tillaberi (30 km südlich von Niamey) während der Regenzeit 1994. Hier können vom Wind mitgeführte Samen auskeimen.



Abb. 7:

Folgen der Bodenerosion in der Region Tahoua (September 1994). Diese Aufnahme entstand während der Regenzeit, in der eine geschlossene Grasbedeckung zu erwarten ist. Der sandige Boden ist um ca. 60 cm abgetragen der Wurzelhorizont von *Guiera senegalensis* freigelegt.

Abb. 8:

Bodenerosion in der Nähe von Tillabéri, etwa 35 km nördlich von Niamey (September 1994). Ein Autowrack bietet Schutz gegen Wind- und Wassererosion. Es reichern sich feine Bodenpartikel an, die wiederum vom Wind mitgeführten Samen als Substrat dienen.



3. Material und Methoden

3.1 Auswahl der Untersuchungsflächen

Es wurden durch die Projektleiterin Fr. Dr. Kußerow in Niger, Mali und Burkina Faso 34 Untersuchungsflächen ausgewählt (Tab. 2), die folgende Kriterien erfüllen sollten:

- (1) Die Flächen sollen einen Niederschlagsgradienten aufweisen
- (2) Die Flächen sollen von unterschiedlicher Bodenbeschaffenheit sein
- (3) Die Flächen sollen räumlich voneinander getrennt sein

Zur Unterstützung wurden neben topographischen Karten insbesondere Satellitendaten herangezogen. Auf der Basis dieser Daten wurden zwei morphologische Einheiten als für diese Landschaft typisch ausgewiesen:

➤ **Brousse tigrée** - Formation auf den Plateauflächen (Abb. 9 und Abb. 10)

Die Brousse tigrée beschreibt ein besonderes Vegetationsmuster, wobei sich vegetationslose Flächen mit linienförmig angelegten Baum-Busch-Komplexen abwechseln und vom Flugzeug aus betrachtet wie ein Tigerfell aussehen.

➤ **Sandige Täler** - Krautgrasflur in der Umgebung von Hirsefeldern am Pisten- oder Straßenrand (Abb. 9 und Abb. 10)

➤ Als Vergleich wurde eine Testfläche innerhalb des umzäunten und kontrolliert beweideten ICRISAT-Geländes (Sadorè, Niamey) angelegt.

Die Auswahl der Untersuchungsflächen wurde dadurch erschwert, daß die Plateauflächen oft als Weide und die Täler für die Anlage von Hirsekulturen genutzt werden. Ein 1994 angelegter Teststandort (*H8*, Tillabéri) wurde im folgenden Jahr 1995 in eine Ackerfläche umgewandelt und konnte deshalb nicht mehr weiter untersucht werden. Die Testflächen wurden deshalb in der unmittelbaren Umgebung von Hirsekulturen angelegt, denn hier werden nur wenige Tiere zur Weide zugelassen und die Bauern halten meist einen Abstand von 1 m -1.5 m zwischen ihren Feldern und der Piste ein. Neben dem Einsatz von GPS-Daten wurde der Kilometerstand notiert und vor allem durch Training eine Wiederauffindbarkeit der Testflächen auch in der Regenzeit gewährleistet. Aufgrund der Sicherheitslage (militärische Konflikte der Staaten Mali, Niger mit Tuareg-Stämmen) mußten für die Anlage der

Testflächen überwiegend Gebiete in der sahelo-sudanischen Übergangszone (geplant war die Sahelzone „sensu stricto“) ausgewählt werden.

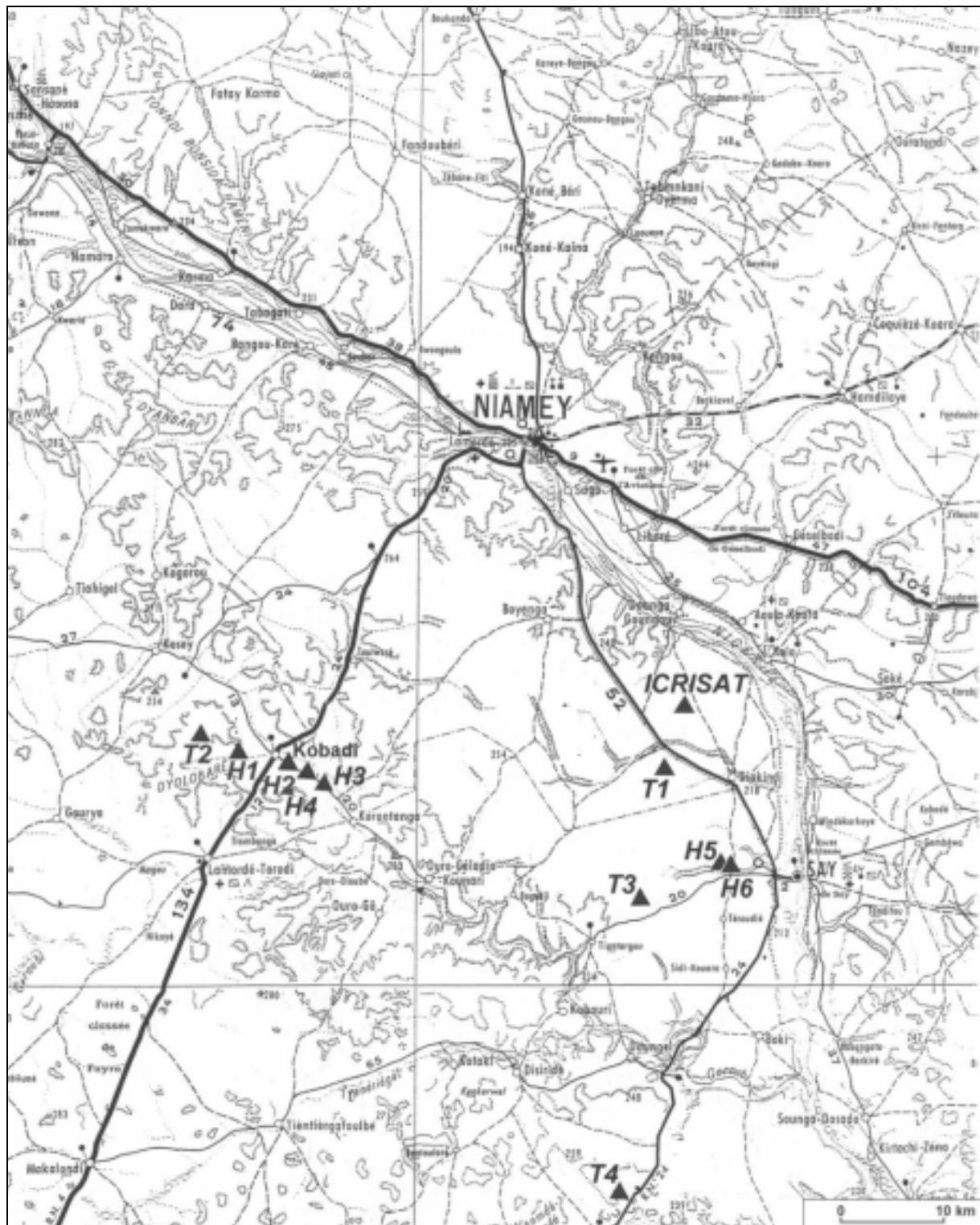


Abb. 9: Lage der Standorte *T1-T4*, *H1-H6* und *ICRISAT* südlich von Niamey (▲). *T1-T4* sind Testflächen auf Lateritplateaus, *H1-H6* sind sandige Flächen am Pistenrand, *ICRISAT* ist ein eingezäuntes Testfläche innerhalb des ICRISAT-Geländes. (Nähere Beschreibung der Testflächen siehe Tab. 2)

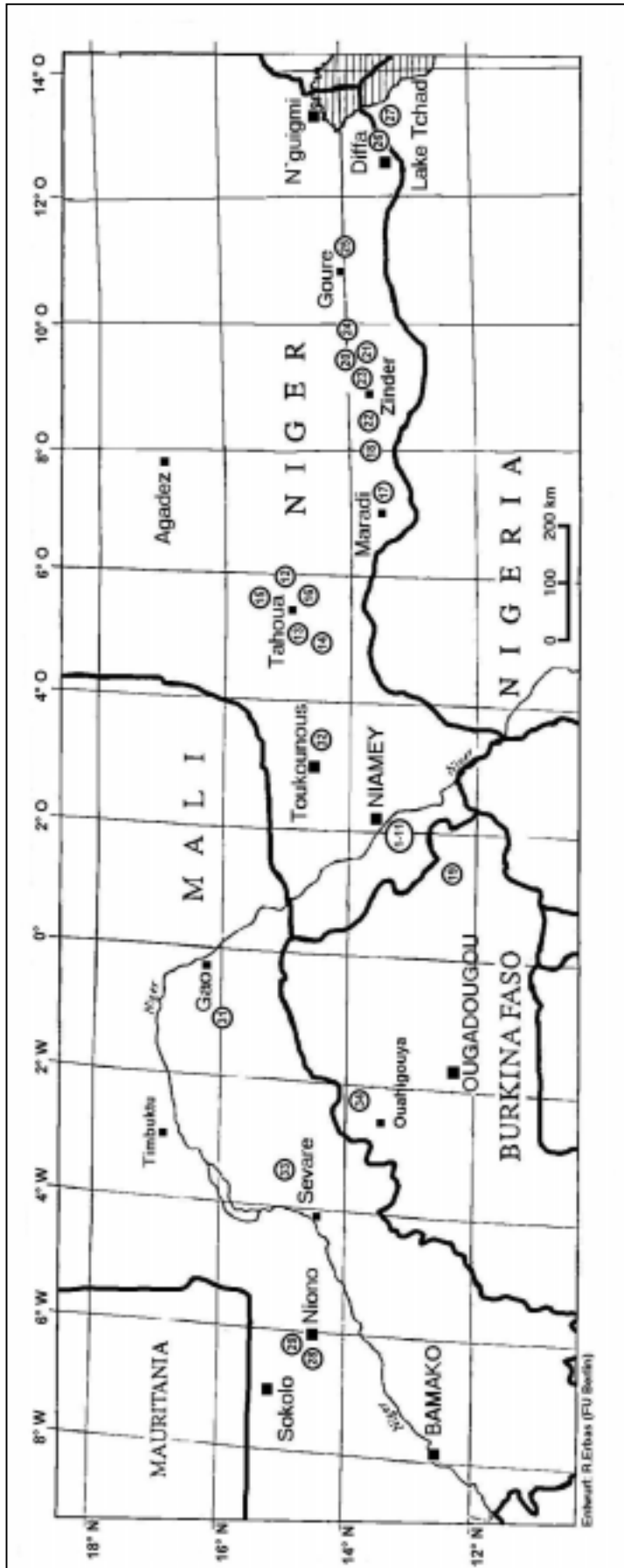


Abb. 10: Geographische Lage der 34 Teststandorte in Niger, Burkina Faso und Mali. (Beschreibung der Testflächen in Tab. 2 und Abb. 9).

- | | | |
|------|---|------------------------------|
| 1-11 | = | <i>T1-T4, H1-H6, ICRISAT</i> |
| 12 | = | <i>H10</i> |
| 13 | = | <i>H11</i> |
| 14 | = | <i>H13</i> |
| 15 | = | <i>Ibecetene</i> |
| 16 | = | <i>Tahoua</i> |
| 17 | = | <i>Maradi</i> |
| 18 | = | <i>Maradi-Zinder</i> |
| 19 | = | <i>Burkina</i> |
| 20 | = | <i>Zinder I</i> |
| 21 | = | <i>Zinder II</i> |
| 22 | = | <i>Takieta</i> |
| 23 | = | <i>Hamdara</i> |
| 24 | = | <i>Palmen</i> |
| 25 | = | <i>Gouré</i> |
| 26 | = | <i>Diffa I</i> |
| 27 | = | <i>Diffa II</i> |
| 28 | = | <i>Niono I</i> |
| 29 | = | <i>Niono II</i> |
| 30 | = | <i>Ouagadougou</i> |
| 31 | = | <i>Gao</i> |
| 32 | = | <i>Toukounous</i> |
| 33 | = | <i>Sevaré</i> |
| 34 | = | <i>Ouahigouya</i> |

Tab. 2: Beschreibung der 34 Teststandorte in Niger, Mali und Burkina Faso.

Angegeben sind die geographische Lage und Größe der Standorte (vergl. dazu Übersichtskarten in Abb. 4, Abb. 9, Abb. 10), die Vegetationszusammensetzung, pH-Wert der Böden, Einflüsse des Menschen auf den Standort, die nächstgelegene Niederschlagsmeßstation und die nach LE HOUËROU (1989) definierten ökoklimatische Zonen. Die Angaben zur Vegetationsbestimmung stammen von Fr. Dr. Küppers (Uni Frankfurt), die Bodenanalysen wurden von Fr. Perschon (TU Berlin) und die GPS-Daten von Fr. Dr. Kusserow zur Verfügung gestellt.

(Sud.-Sah.-Zone = Sudano-Sahelische Übergangszone; Sah.-Sah.-Zone = Saharo-Sahelische Übergangszone; nach LE HOUËROU, 1989) ([1] – [34] Standortbezeichnungen aus Abb. 10)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>T 1</i>	13°11'55"N / 02°14'23"O Sud.-Sah.-Zone [1]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau (Brousse tigrè), pH= 5.2 - in der Nähe von Damari (ICRISAT), 2m x 5m große Testfläche, (Abb. 11), Überweidung und Holzeinschlag sehr stark - Strauchschicht: <i>Combretum micranthum</i>, <i>C. nigricans</i>, <i>Acacia pennata</i>, <i>Guiera senegalensis</i> - Krautschicht: <i>Borreria scabra</i>, <i>Triumfetta pentandra</i>, <i>Cassia nigricans</i>, <i>Panicum laetum</i>, <i>Microchloa indica</i>, <i>Tripogon minimus</i>. - Zielarten: <i>Zornia glochidiata</i> - Nächste Meßstation: ICRISAT (3 km) Mittlerer jährlicher Niederschlag: 542 mm (Meßperiode 1982-1996)
<i>T 2</i>	13°13'54"N / 01°47'41"O Sud.-Sah.-Zone [2]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau (Brousse tigrè), pH=5.4 - 8.7 km westlich von Kobadi, 3m x 3m groß, Überweidung und Holzeinschlag sehr stark Vegetation ähnlich wie <i>T1</i>. - Zielarten: <i>Zornia glochidiata</i> - Nächste Meßstation: Torodi (13 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 548.6 mm (Meßperiode 1981-1995, ohne 1994)
<i>T 3</i>	13°04'03"N / 02°13'34"O Sud.-Sah.-Zone [3]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau (Brousse tigrè), pH= 4.7 - an der Piste von Say nach Kobadi, 3m x 8m große Testfläche, Überweidung und Holzeinschlag nicht so stark wie bei <i>T1</i> und <i>T2</i>, dadurch dichtere Vegetation - Zielarten: <i>Zornia glochidiata</i> - Nächste Meßstation: Say (17 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 546.6 mm (Meßperiode 1982-1995)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>T 4</i>	12°50'07"N / 02°10'50"O Sud.-Sah.-Zone [4]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau (Brousse tigree) - 10 km nördlich von Tamou, dichtester Baum- und Buschbestand im Vergleich zu <i>T1-T3</i> - Zielarten: <i>Zornia glochidiata</i>, - Nächste Meßstation: Tamou (12 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 660 mm (Meßperiode 1984-1993, ohne 1991)
<i>H 1</i>	13°13'35"N / 01°49'43"O Sud.-Sah.-Zone [5]	<ul style="list-style-type: none"> - Am Fuße eines Laterit-Plateaus - 4.4 km westlich von Kobadi, 6m x 16m große Testfläche, Hirsefelder - Krautschicht: <i>Zornia glochidiata</i>, einige <i>Brachiaria xantholeuca</i> (1995) und <i>Cenchrus biflorus</i> (1996) - Sandboden pH: 4.7 - Nächste Meßstation: Torodi (13 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 584.6 mm (Meßperiode 1981-1995, ohne 1984)
<i>H 2</i>	13°12'40"N / 01°52'21"O Sud.-Sah.-Zone [6]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche an der Piste, von Kobadi in Richtung Say (Abb.12), 1m x 10m groß - Krautschicht: <i>Sida cordifolia</i>, <i>Melochia corchorifera</i>, <i>Ipomea vagans</i> - Alle fünf Zielarten - Sandboden pH: 5.9 - Nächste Meßstation: Torodi (13 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 584.6 mm (Meßperiode 1981-1995, ohne 1984)
<i>H 3</i>	13°11'52"N / 01°53'42"O Sud.-Sah.-Zone [7]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche an der Piste, 4.1 km östlich von Kobadi, 3m x 10m groß, auf beiden Seiten der Piste Hirsefelder - Alle fünf Zielarten - Sandboden - Nächste Meßstation: Torodi (13 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 584.6 mm (Meßperiode 1981-1995, ohne 1984)
<i>H 4</i>	13°12'33"N / 01°52'27"O Sud.-Sah.-Zone [8]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche an der Piste, 1.5 km östlich von Kobadi, 5m x 10m groß, an einem Marigot, in Umgebung Hirsefelder. Vegetation wie <i>H2</i>. - Alle fünf Zielarten - Sandboden pH: 5.9 - Nächste Meßstation: Torodi (13 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 584.6 mm (Meßperiode 1981-1995, ohne 1984)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>H 5/H 6</i>	13°05'39"N / 02°17'14"O Sud.-Sah.-Zone [9] / [10]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am rechten und linken Rand der Piste, 8 km westlich von Kobadi in Richtung Say, 1m x 8m bzw. 0.5m x 5m groß, umgeben von Hirsefeldern. - Alle fünf Zielarten - Sandboden pH: 5.9 (<i>H5</i>) und 6.2 (<i>H6</i>) - Nächste Meßstation: Say (8 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 545.6 mm (Meßperiode 1982-1995)
<i>ICRISAT</i>	13°13'29"N / 02°16'33"O Sud.-Sah.-Zone [11]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche auf dem ICRISAT-Gelände in Damari, 40 km südlich von Niamey, kontrolliert beweideter Standort - Alle Zielarten - Sandboden - Nächste Meßstation: ICRISAT (1 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 542 mm (Meßperiode 1982-1996)
<i>H 10</i>	14°55'33"N / 05°28'21"O Sahelzone [12]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau, 22 km nordöstlich von Tahoua, 2.5m x 25m große Testfläche, in der Umgebung Hirsefelder. - Baum-Strauchschicht: <i>Acacia nilotica</i>, <i>Bauhinia rufescens</i>, <i>Ziziphus mauritana</i>, <i>Calotropis procera</i>. - Krautschicht wird dominiert von <i>Cenchrus biflorus</i>, sonst die restlichen vier Zielarten - Lateritboden pH: 6.2 - Nächste Meßstation: Tahoua (25 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 332.5 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>H 11</i>	14°52'15"N / 05°03'40"O Sahelzone [13]	<ul style="list-style-type: none"> - Erodiertes Boden mit isolierter Sandauflage, 18 km westlich von Tahoua - Zielarten: <i>Brachiaria</i> - Nächste Meßstation: Tahoua (18 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 332.5 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>H 13</i>	14°25'25"N / 05°06'26"O Sahelzone [14]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau, 81 km südwestlich von Tahoua, Vegetationszusammensetzung wie <i>H10</i>, Sandboden - Nächste Meßstation: Tahoua (18 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 332.5 mm (Meßperiode 1981-1995)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>Ibecetene</i>	15°25'56"N / 05°56'10"O Sahelzone [15]	<ul style="list-style-type: none"> - 80 km nordöstlich von Tahoua in Richtung Agadez, 10m x 20m große eingezäunte Testfläche, ehem. Ranch zur Nutztierhaltung - Sandboden - Nächste Meßstation: Tahoua (80 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 332.5 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>Tahoua</i>	14°52'56"N / 05°31'13"O Sahelzone [16]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau, 5m x 10m große Testfläche, GTZ-Aufforstungsgebiet - Krautschicht: <i>Cenchrus biflorus</i>, <i>Dactyloctenium aegyptium</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i>. Einige Arten, die hier normalerweise nicht vorkommen: <i>Pennisetum pedicellatum</i> (typisch für Sudanzone); <i>Schoenefeldia gracilis</i>, <i>Aristida adscensionis</i>, <i>Panicum laetum</i>, <i>Andropogon fastigiatus</i> (feuchte Böden); <i>Brachiaria jubata</i> (sandige Böden) - Boden-pH: 5.8 - Nächste Meßstation: Tahoua (32 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 332.5 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>Burkina</i>	12°36'49" N / 1°34'03" O Sud.-Sah.-Zone [19]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 150 km südwestlich von Niamey in Burkina Faso - Sandboden - Zielarten: <i>B. xantholeuca</i>, <i>Zornia glochidiata</i> - Nächste Meßstation: - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 700 mm - (Meßperiode 1986-1996)
<i>Maradi</i>	13°32'06"N / 07°37'03"O Sud.-Sah.-Zone [17]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 55.6 km östlich von Maradi in Richtung Zinder, 12m x 50m groß, grenzt an Hirsefeld. Offene stark beweidete Krautschicht aus vorwiegend <i>Zornia glochidiata</i>, weniger häufig die anderen vier Zielarten - Sand-Boden - Boden-pH: 6.1 - Nächste Meßstation: Maradi (55.6 km) - Mittlerer Jährlicher Niederschlag: 434.5 mm (Meßperiode 1982-1995)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>Maradi</i> - <i>Zinder</i>	13°41'49"N / 09°19'02"O Sahelzone [18]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 153.5 km östlich von Maradi in Richtung Zinder, 4 m x 26 m groß, von Hirsefeldern umgeben - Krautschicht: <i>Sesbania pachycarpa</i>, <i>Indigofera astragalina</i>, <i>Schoenefeldia gracilis</i>, <i>Sida cordifolia</i>, <i>Cassia mimosoides</i>, <i>Ipomea vagans</i>. - Alle fünf Zielarten - Sandboden - Boden-pH: 6.6 - Nächste Meßstation: Zinder (75 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 365.1 mm (Meßperiode 1982-1995)
<i>Zinder</i> <i>I + II</i>	13°41'03"N / 09°38'48"O Sahelzone [20] / [21]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 80 km östlich von Zinder in Richtung Gourè, Sandboden, 7m x 25m groß (Abb. 13). Zwei Standorte I und II, die durch die Straße voneinander getrennt sind. - Krautschicht: <i>Aristida mutabilis</i>, <i>Cenchrus ciliaris</i> - Zielarten: <i>B. xantholeuca</i>, <i>Cenchrus biflorus</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i> - Sandboden - Boden-pH: 6.2 - Nächste Meßstation: Zinder (80 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 365.1 mm (Meßperiode 1982-1995)
<i>Takieta</i>	13°43'02"N / 8°37'07"O Sahelzone [22]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 34 km westlich von Zinder in Richtung Maradi - Vegetationszusammensetzung wie <i>Zinder</i> - Zielarten: <i>B. xantholeuca</i>, <i>Cenchrus biflorus</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Zinder (34 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 365.1 mm (Meßperiode 1982-1995)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>Hamdara</i>	13°40'42"N / 9°28'22"O Sahelzone [23]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 58.5 km östlich von Zinder in Richtung Gourè - Vegetationszusammensetzung wie <i>Zinder</i> - Zielarten: <i>B. xantholeuca</i>, <i>Cenchrus biflorus</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Zinder (58.5 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 365.1 mm (Meßperiode 1982-1995)
<i>Palmen</i>	13°40'59"N / 09°50'39"O Sahelzone [24]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 350 km westlich von Diffa, Palmen in Dünenenken - Vegetationszusammensetzung wie <i>Zinder</i> - Zielarten: <i>B. xantholeuca</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Zinder (102 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 365.1 mm (Meßperiode 1982-1995)
<i>Gourè</i>	13°46'44"N / 10°39'48"O Sahelzone [25]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 55 km östlich von Gourè in Richtung Diffa, weite Dünenlandschaft mit Palmengruppen in den Tälern (Abb. 14) - Zielarten: <i>Cenchrus biflorus</i>, <i>B. xantholeuca</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i> und <i>Aristida mutabilis</i>. - Sandboden - Boden-pH: 7.0 - Nächste Meßstation: Gourè (55 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 269.6 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>Diffa I + II</i>	13°14'37"N / 12°27'19"O Sahelzone [26] / [27]	<ul style="list-style-type: none"> - 2 Testflächen am Straßenrand, <i>Diffa I</i> etwa 21 km nördl. und <i>Diffa II</i> 16 km südwestl. von Diffa entfernt, 18 m x 22 m groß (<i>Diffa II</i>), - Zielarten: <i>Brachiaria xantholeuca</i>. - Sandboden - Boden-pH: 6.9 - Nächste Meßstation: Diffa (16 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 275 mm - (Meßperiode 1982-1996)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>Niono I</i>	14°16'37"N / 05°57'32"O Sud.-Sah.-Zone [28]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche in der „Centre du Sahel“-Meßstation, 2m x 1m groß - Zielarten: <i>B. ramosa</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Niono (1 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 522 mm (Meßperiode 1951-1995)
<i>Niono II</i>	14°14'37"N / 06°00'08"O Sud.-Sah.-Zone [29]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche in einem Garten in einer holländ. Siedlung („Joeseofs Garten“), etwa 8 km von <i>Niono I</i> entfernt - Zielarten: <i>Brachiaria lata</i>, <i>Alysicarpus ovalifolius</i>, <i>Zornia glochidiata</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Niono (8 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 522 mm (Meßperiode 1951-1995)
<i>Ouagadougou</i>	12°48'29" N / 1°32'37" O Sud.-Sah.-Zone [30]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand - Zielarten: <i>Zornia glochidiata</i> - Nächste Meßstation: - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 753 mm (Meßperiode 1986-1996)
<i>Gao</i>	15°07'04" N / 3°31'01"O Sah.-Sah.-Zone [31]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Straßenrand, 129 km westlich von Gao in Richtung Mopti - Offene Trockensavanne mit <i>Acacia raddiana</i>, <i>Leptadenia pyrotechnica</i> und <i>Balanites aegyptiaca</i> - Zielarten: <i>Brachiaria xantholeuca</i>, <i>Cenchrus biflorus</i> - Sandboden - Nächste Meßstation: Gao (129 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 172 mm (Meßperiode 1981-1995)
<i>Toukounous</i>	14°32'33"N / 3°18'44" O Sahelzone [32]	<ul style="list-style-type: none"> - Eingezauntes Farmgelände - Sandboden - Alle Zielarten - Nächste Meßstation: Filinguè - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 316 mm (Meßperiode 1982-1996)

Standort	GPS-Daten	Beschreibung
<i>Sevarè</i>	15°07`04 N / 3°31`01`` W Sahelzone [33]	<ul style="list-style-type: none"> - Laterit-Plateau, Testfläche am Straßenrand, 106 km nordöstlich von Sevarè in Richtung Gao - Vegetation sehr spärlich (u.a. <i>Leptadenia pyrotechnica</i>) - Zielarten: <i>Brachiaria xantholeuca</i> - Nächste Meßstation: Mopti (106 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 467 mm (Meßperiode 1982-1996)
<i>Ouahigouya</i>	13°51`47`` N / 1°59`50`` O Sud.-Sah.-Zone [34]	<ul style="list-style-type: none"> - Testfläche am Pistenrand, 60 km östlich von Ouahigouya in Richtung Djibo, umgeben von Hirsefeldern. - Alle Zielarten - Sandboden - Nächste Meßstation: Ouahigouya (60 km) - Mittlerer jährlicher Niederschlag: 630 mm (Meßperiode 1986-1996)



Abb. 11: Standort *T1*, in der Brousse tigrèè, 45 km südlich von Niamey (22.09.1995; Photo H. Kusserow)



Abb. 12: Standort *H2*, Testfläche am Pistenrand, 50 km südwestlich von Niamey (23.09.1996; Photo H. Kusserow)



Abb. 13: Standort *Zinder*, Testfläche am Straßenrand (13.09.1996; Photo H. Kusserow)



Abb. 14: Standort *Gourè*, Testfläche am Straßenrand (01.09.1995; Photo H. Kusserow)

3.2 Auswahl der Pflanzen-Stichproben

Die Probenentnahme erfolgte nach folgenden Kriterien: Es sollten viele Standorte ausgewählt und, wenn möglich, jeweils 5-10 Individuen pro Pflanzenart gesammelt werden. An einigen Standorten wurden für populationsgenetische Analysen jeweils 20 Individuen gesammelt. Neben der räumlichen Komponente (verschiedene Standorte) wurde zusätzlich die zeitliche Komponente untersucht, indem an ausgewählten Standorten im Zeitraum von drei Jahren Pflanzenproben entnommen wurden. Hier stellte sich die Frage, ob mit Hilfe von RAPD-Markern unterschiedliche Sammeljahre differenziert werden können.

Das Auswahlverfahren der Blattproben erfolgte, vorausgesetzt es waren ausreichend Pflanzen vor Ort, nach einer Zufallsmethode (GUARINO et al. 1996), wobei nach zwei Schritten rechts eine Blattprobe und nach weiteren zwei Schritten links eine Blattprobe entnommen wurde. Zusätzlich wurden von diesen Pflanzen, soweit vorhanden, Samen entnommen und für die Isozymanalyse (Bearbeitung I. Salifou) im ICRISAT, Niamey, bereitgestellt. Aufgrund des hohen Beweidungsdruckes und der Größe des Untersuchungsgebietes (2000 km Ost-West-Ausdehnung) war es nicht immer möglich, zum Zeitpunkt der Samenreife am Standort zu sein. Deshalb wurde in der Isozymanalyse neben Samen auch Blattmaterial derselben Pflanzen eingesetzt.

In Diskussion mit Prof. M. Saadou (Universität Niamey) wurden aus 12 im Sahel vorkommenden Futterpflanzen fünf ausgewählt, die folgende Kriterien erfüllten:

- sie stellen für die ansässige Bevölkerung wichtige Futterpflanzen dar
- sie sind weit verbreitet
- sie sind im Gelände leicht zu identifizieren

Im Zeitraum 1993-1996 wurden ca. 2000 Pflanzenproben der folgenden Futterpflanzen gesammelt, mit Silicagel getrocknet und nach Giessen gebracht:

Brachiaria spp.
Zornia glochidiata
Alysicarpus ovalifolius
Dactyloctenium aegyptium
Cenchrus biflorus

Neben molekulargenetischen und biochemischen Analysen wurden Erkenntnisse über die Art und Verteilung der Vegetation mit Schwerpunkt auf die krautigen Vertreter erarbeitet (Fr. Dr. Küppers, Uni Frankfurt). Zur Vegetationsklassifizierung dieser Gebiete, mit dem Ziel der Definition von Pflanzengesellschaften, wurde ein Pflanzenherbar angelegt. Die Auswertung von Luft- und Satellitenbilder von Pflanzengesellschaften bzw. die Untersuchung von Änderungen der Landoberfläche (Vegetation-Bodenkomplexe) sollte eine Abschätzung der Gefährdung dieser Gebiete ermöglichen. Fr. Dipl. Geogr. L. Cremers (FU Berlin) führte eine Befragung über die Weidepraktiken der einheimischen Bevölkerung im Hinblick auf eine *in situ*- Konservierung der genannten Zielarten durch.

3.3 Arbeitsmethoden

3.3.1 DNA - Extraktionsmethoden

Es wurden Vorversuche mit einheimischen Gräsern (*Lolium multiflorum*, *Echinochloa crus-galli*) und einer Leguminose (*Trifolium pratense*) durchgeführt. Hierbei sollte zunächst eine DNA- Extraktionsmethode etabliert werden, die sich auf die afrikanischen Pflanzenproben anwenden ließ. Dazu wurden die Testpflanzen mit Silicagel (ZHANG & TAO 1989) getrocknet. Nach 10 Tagen und dreimaligem Wechseln des Gels konnte das Blattmaterial mit verschiedenen Extraktionsmethoden bearbeitet werden. Dabei mußte die Methode schnell und problemlos durchzuführen sein, denn es sollten insgesamt 400 afrikanische Pflanzenproben extrahiert und für PCR-Versuche gereinigt werden. Zwei DNA-Extraktionsmethoden standen am Ende der Vorversuche zur Auswahl:

a) CTAB-Extraktionsmethode (DOYLE & DOYLE 1990), leicht modifiziert

Puffer:	0.1	M	Tris / HCl	pH 8.0
	1.4	M	NaCl	
	0.02	M	EDTA	pH 8.0
	4	%	CTAB	
	0.2	%	Mercaptoethanol	

b) SDS-Extraktionsmethode (EDWARDS et al. 1991), leicht modifiziert

Puffer:	0.2	M	Tris / HCl	pH 7.4
	0.25	M	NaCl	
	0.025	M	EDTA	pH 8.0
	0.5	%	SDS	

Versuchsdurchführung:

1. 500 bis 1000 mg Blattmaterial werden mit etwas Quarzsand und Stickstoff gemörsert, das feine Pulver in 12 ml Greiner-Plastikröhrchen überführt und 4 ml vorgewärmten CTAB-Extraktionspuffer (bzw. SDS-Extraktionspuffer) sowie 40 μ l Proteinase K zugegeben. Dieser Ansatz wird für 45 min bei 65 °C im Wasserbad inkubiert. Proteinase K ist ein hitzebeständiges Enzym, das über einen großen pH-Bereich (7.4 -11.5) hinweg arbeitet und für die Denaturierung von DNAsen zuständig ist, die während der Extraktion aus den Zellen freigesetzt werden und die DNA empfindlich schädigen können.
2. Es werden 4 ml Chloroform / Isoamylalkohol (24:1) zugegeben und vorsichtig die beiden Phasen gemischt. Es folgt eine 15 minütliche Zentrifugation (4500 g Heraeus Minifuge), wobei sich die beiden Phasen wieder voneinander trennen. Dabei bildet sich in der Übergangszone eine sogenannte feste Interphase, in der sich denaturierte Proteine, Polysaccharide und Zellreste befinden. Die obere wäßrige Phase besteht aus Extraktionspuffer und DNA, die untere organische Phase aus Chloroform, gelösten bzw. denaturierten Proteinen und Polysacchariden. Am Röhrchenboden hat sich der Quarzsand und weiteres Zellmaterial abgelagert.
3. Die obere wäßrige Phase wird in ein neues Greiner-Röhrchen überführt und Punkt 2 wiederholt. Danach sollte die Interphase verschwunden bzw. nur noch sehr schwach zu sehen sein. Die obere wäßrige Phase hat nun ihre typische grüne Färbung verloren und wird vorsichtig in ein neues Greiner-Röhrchen überführt. Hierbei ist besonders darauf zu achten, daß keine Bestandteile aus der Interphase und keine Flüssigkeit aus der unteren organischen Phase mit übertragen werden.
4. Es werden nun 2 Volumen (ca. 8 ml) Ethanol (96 %) zugegeben, vorsichtig durchmischt und die DNA (evtl. über Nacht bei 4 °C) ausgefällt.
5. Durch Zentrifugation für 30 min (Heraeus Minifuge) wird sämtliche DNA als Pellet am Boden des Röhrchen konzentriert. Der Überstand wird dekantiert und das Pellet mit 4 ml Ethanol (70 %) vorsichtig gewaschen. Dabei sollte es sich vom Boden lösen.
6. Nach erneuter Zentrifugation für 10 min und Dekantieren des Ethanols läßt man die DNA etwas lufttrocknen, damit Reste des Ethanols noch verdunsten können. Das DNA- Pellet wird nun mit 1-2 ml TE-Puffer aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gelöst. Durch Zugabe von 3 μ l RNase/ml DNA-Lösung wird sämtliche RNA innerhalb einer Stunde verdaut. Die DNA kann nun eingefroren oder im Kühlschrank aufbewahrt werden.

7. Untersuchungen in der PCR- bzw. RAPD-Technik zeigten, daß das erzeugte Bandenmuster stark von der DNA-Konzentration abhängig sein kann, insbesondere zu hohe Konzentrationen führen oft zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen (TINGEY et al. 1992).

Aus diesem Grund wurde die DNA entsprechend verdünnt und die Konzentration mit Hilfe eines DNA- Markers (λ -Marker) bestimmt. Für eine RAPD- PCR- Reaktion sind 10-15 ng DNA notwendig (WILLIAMS 1990).

Die SDS-Methode unterscheidet sich in der Versuchsdurchführung nicht von der CTAB-Methode. Letztere zeigte bei *Zornia glochidiata* keine zufriedenstellenden Ergebnisse, die SDS-Methode hingegen arbeitete für beide Pflanzen problemlos. Für alle weiteren Extraktionsversuche wurde deshalb die SDS-Methode verwendet.

3.3.2 Die Polymerase Ketten Reaktion (PCR)

Die Entwicklung der Polymerase Ketten Reaktion (polymerase chain reaction) durch MULLIS (1986) ist eine der bedeutendsten Erfindungen in der Molekularbiologie der letzten Jahrzehnte und hat mittlerweile weltweite Anwendung gefunden. Der wesentliche Fortschritt dieser Technik besteht in der Einfachheit und Schnelligkeit, jeden DNA- Bereich des Genoms in theoretisch unbegrenzter Menge amplifizieren zu können. Dabei sind nur geringe Mengen DNA notwendig und die technischen Voraussetzungen gering. Die Erbinformation DNA (Desoxyribonukleinsäure) besteht aus zwei komplementären Strängen, die zu einer Doppelhelix aufgewunden sind. Die vier beteiligten Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin sind über Wasserstoffbrückenbindungen mit den komplementären Basen des Gegenstranges verbunden. Die Information der DNA ist durch die Basenabfolge der DNA kodiert und die Größe kann dabei erheblich variieren. So haben Bakterien (*Escherichia coli*) eine Genomgröße von 4×10^6 Basenpaaren (bp), das haploide Genom des Menschen 3×10^9 bp und das der Pflanzen (*Allium cepa*) $1,5 \times 10^{10}$ bp (KRAWCZAK & SCHMIDTKE 1994).

Die PCR-Reaktion findet heute in sog. Thermocyclern statt, welche die Reaktionsproben in kürzester Zeit aufheizen und abkühlen können. Zunächst speichert man ein Temperaturprofil ab, das aus einem Zyklus mit drei Reaktionsschritten besteht. Der Reaktionsmix wird zu Beginn auf 94°C erhitzt. Bei dieser Temperatur werden die Wasserstoffbrückenbindungen gelöst und die doppelsträngige DNA zerfällt in ihre beiden Einzelstränge (Denaturierung), das anschließende schnelle Abkühlen auf $36-60^\circ\text{C}$ verhindert, daß die Stränge wieder miteinander verschmelzen. Bei dieser Temperatur (Annealing) kommen Primer zum Einsatz, die

komplementär an die beiden Einzelstränge binden und sog. Hybridmoleküle bilden. Dazu wird vorher die richtige Annealing-Temperatur eingestellt, die wiederum von der Länge und Nukleotidabfolge des Primers abhängt. Ein Primer besteht aus einer kurzen einzelsträngigen DNA-Sequenz, die man entweder synthetisch herstellt oder experimentell durch Isolierung des gewünschten DNA-Abschnitts, z.B. aus einem Gen, erhält. Man verwendet zwei verschiedene Primer, die die Anfangs- bzw. Endsequenz des gewünschten Fragments kodieren. Nach der Annealing-Phase wird der Reaktionsmix auf 72°C erhitzt. Nun folgt der wichtigste Schritt der PCR, die Primerelongation. Der durch das Primer-Annealing entstandene, doppelsträngige Bereich dient nun als Startpunkt für die DNA-Polymerase, mit deren Hilfe der Einzelstrang zum Doppelstrang aufsynthetisiert wird. Die DNA-Polymerase ist ein Enzym, das aus dem hitzestabilen Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wird, das bei 72°C sein Temperaturoptimum hat. Dieses Enzym baut Nukleotidtriphosphate (dNTPs) komplementär in 5'-3'-Richtung ein und vervollständigt somit den Doppelstrang. Als Produkt erhält man zwei neue doppelsträngige DNA-Moleküle, deren Länge durch die 5'-Enden der Primer festgelegt sind. Durch erneutes Erhitzen werden diese Doppelstränge in Einzelstränge zerlegt und die Primer können nach wiederholtem Abkühlen an die Enden dieser neuen Matrizen anbinden. Durch die Wiederholung dieses Zyklus (30-40 mal) aus Denaturierung, Annealing und DNA-Synthese kommt es jedesmal zur Verdopplung der DNA und damit in einer "Kettenreaktion" zu einer exponentiellen, selektiven etwa 10^6 - 10^7 fachen Anreicherung der durch die Oligonukleotide flankierten DNA-Sequenz (WINK und WEHRLE 1994). Damit erlaubt die PCR eine schnelle, hochsensitive Detektion und Amplifizierung von speziellen DNA-Abschnitten. Als Ausgangsmaterial ist theoretisch eine einzige Kopie der zu untersuchenden DNA ausreichend.

3.3.3 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Eine abgewandelte Form der PCR ist die sogenannte RAPD-Methode, die 1990 gleichzeitig von WILLIAMS et al. und WELSH & MCCLELLAND entwickelt wurde. Diese genetischen Marker sind DNA-Fragmente, die mit nur einem Primer amplifiziert werden. Der Primer ist ein Oligonukleotid von 9-10 bp Länge und besteht aus einer zufälligen DNA-Sequenz, die nur durch den GC-Gehalt von über 50 % bestimmt ist. Da der Primer sehr kurz ist, gibt es im untersuchten Genom mehrere Bindungsstellen. Statistisch findet man daher etwa alle 10^6 Basen einen komplementären Bindungsort. Liegen nun zwei solcher Hybridisierungsstellen in entgegengesetzter Richtung und in einer Entfernung unterhalb 5 kb, kann mit Hilfe der PCR der dazwischen liegende DNA-Bereich amplifiziert werden. Befinden sich nun innerhalb des

Genoms mehrere dieser Bereiche, was in der Regel auch vorkommt, werden diese auch amplifiziert. Da diese DNA-Abschnitte zwischen den beiden Primerbindungsstellen meistens unterschiedlich lang sind, werden in einer PCR-Reaktion unterschiedlich lange DNA-Fragmente amplifiziert, die man im Anschluß auf einem Agarose-gel auftrennen und auswerten kann. Trotz der Einfachheit dieser Methode, sind die Fehlerquellen ungleich größer als bei der konventionellen PCR. RAPD-Marker verhalten sich in der Regel dominant im Vergleich zu codominanten Isozym- oder RFLP-Markern (LYNCH & MILLIGAN 1994). Dies bedeutet, daß sich eine Homo- oder Heterozygotie nicht ohne weiteres erkennen läßt. In einem diploiden Organismus können somit beide Allele nicht getrennt analysiert werden, da die genetische Information der amplifizierten DNA-Fragmente nicht bekannt ist, mit der Ausnahme, daß alle RAPD-Marker sogenannte „inverted repeats“ darstellen, d.h. am Anfang und Ende des Fragments besitzen sie die gleiche (komplementäre) Primersequenz (10 bp). Bei Homozygotie der Ziel-DNA wird von beiden Allelen das gleiche Amplifikationsprodukt gebildet, wohingegen bei Heterozygotie nur ein Produkt gebildet wird. Erst durch den Einsatz von RAPD-Sonden in der RFLP-Technik können auch verschiedene Allele differenziert werden. Dies gilt auch für die Komigration gleich großer DNA-Fragmente im Agarosegel. Vergleicht man das Bandenmuster zweier Individuen miteinander, so können Banden, die im Agarosegel als identisch bewertet werden, trotzdem unterschiedlicher genetischer Natur sein. Untersuchungen haben gezeigt, daß die Einhaltung der Solltemperatur und die Temperaturverteilung innerhalb des Heizblocks größeren Schwankungen unterliegen kann (HOELZEL 1990; LINZ 1990). Insbesondere bei der Verwendung von Mikrotiterplatten in der RAPD-Analyse ist eine homogene Temperaturverteilung notwendig. Durch den Einsatz von Deckelheizungen und hochwertigen Heizblöcken werden diese Anforderungen weitgehend erfüllt. Inzwischen werden für viele Thermocycler speziell geformte Reaktionsgefäße angefertigt, die durch ihr dünnwandiges Material einen optimalen Kontakt mit dem Heizblock gewährleisten. Trotz dieser Fortschritte findet man Variationen im RAPD-Muster, verwendet man das gleiche Temperaturprofil auf verschiedenen Thermocyclern (HE et al. 1994; MACPHERSON et al. 1993; MEUNIER & GRIMONT 1993; PENNER et al. 1993).

Weitere Fehlerquellen können das Ergebnis wesentlich beeinflussen. Wird z.B. die Annealing-Temperatur zu niedrig angesetzt, kann der Primer unspezifisch an nicht komplementäre Stellen (z.B. an nur 8 statt 10 komplementäre Basen) des Genoms binden und damit zur Amplifikation unerwünschter DNA-Fragmente führen. $MgCl_2$ verändert die Syntheseigenschaften der DNA-Polymerase, wobei zu hohe Konzentrationen zu unspezifischen DNA-Fragmenten führt. Gleiches gilt für die Primerkonzentration, hohe

Konzentrationen produzieren zusätzlich kleinere DNA-Fragmente. Abb. 15 zeigt den Einfluß unterschiedlicher Reaktionseinstellungen auf das RAPD-Bandenmuster.

Verunreinigte DNA kann die Aktivität der DNA-Polymerase einschränken. Dadurch sind u.U. bestimmte Bereiche des Genoms nicht zugänglich und werden deshalb bei der Amplifikation nicht berücksichtigt. Die dadurch fehlenden DNA-Fragmente führen dann bei der Auswertung zu Fehlinterpretationen. Eine andere Fehlerquelle stellt die DNA-Polymerase dar. Dieses Enzym wird heute synthetisch hergestellt und besitzt keine Reparaturfunktion, um den neu synthetisierten Strang noch einmal zu überprüfen und falsch eingebaute Basen auszutauschen. Tritt während einer PCR-Reaktion dieser Fehleinbau in den ersten Reaktionszyklen auf, so wird der Fehler nicht erkannt und pflanzt sich somit exponentiell fort. Das Ergebnis ist ein DNA-Produkt mit einer falsch eingebauten Base. Die Gesamtfehlerhäufigkeit der *Taq*-Polymerase beträgt bei 30 Zyklen etwa 0,25 %, das entspricht einer Fehlereinbaurrate von $1,2 \times 10^{-4}$ oder 1/12000 pro Nukleotid und Zyklus (SAIKI et al. 1988; SWATSCHEK 1992). Dieser Fehler kann z.B. durch den Einsatz mehrere DNA-Moleküle als Matrize minimiert werden. Weiterhin führt die Verwendung von DNA- Polymerasen verschiedener Anbieter zu unterschiedlichen Ergebnissen (Abb. 16). Das bedeutet, daß vor Beginn der RAPD-Analysen eine sorgfältige Auswahl des Puffersystems nach qualitativen und finanziellen Kriterien getroffen werden muß (SNOWDON & LANGSDORF 1998). Letzteres gilt insbesondere bei der Auswahl des Enzyms DNA-Polymerase und dem Kauf eines Thermocyclers. Die RAPD-Analysen von *Brachiaria spp.* und *Zornia glochidiata* wurden mit einem eigens hergestellten Puffer durchgeführt. Weiterhin konnte für beide zu untersuchenden Pflanzen der gleiche Reaktionsmix benutzt und die gleichen Temperaturprofile im Thermocycler eingestellt werden. Die RAPD-Versuche für *Brachiaria* wurden auf einem Thermocycler der Marke *Hybaid Omnigene* und für *Zornia glochidiata* auf dem Thermocycler der Marke *MJ Research PTC-200* durchgeführt.

Das Probenvolumen einer PCR-Reaktion betrug 25 µl und setzte sich folgendermaßen zusammen:

- 21 µl PCR-Puffer
- 1 µl Primer-Lösung
- 1 µl genomische DNA (in TE gelöst; 10-50 ng / µl)
- 1 µl dNTP-Mix
- 1 µl DNA-Polymerase (1 µl = 1U)

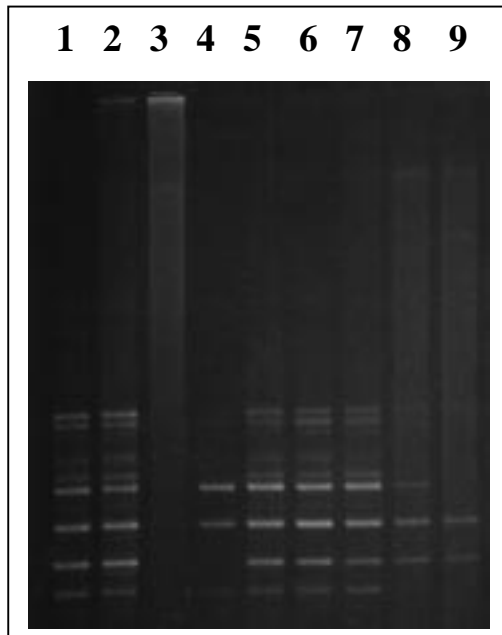


Abb. 15: Einfluß unterschiedlicher Reaktionsparameter auf das RAPD-Bandenmuster. Lane 1-3 und 7-9 wurden jeweils mit drei unterschiedlichen $MgCl_2$ -Konzentrationen (2.5, 3.5, 4.5 mM) amplifiziert, wobei in Lane 7-9 zusätzlich die Primer- und DNA-Konzentration halbiert wurde. Lane 4-6 zeigt den Einsatz verschiedener DNA-Polymerasekonzentrationen (0.5, 1.0, 1.5 U). Alle Reaktionen wurden mit der Pflanzenprobe Z-111 von *Zornia glochidiata* und dem Primer B-17 durchgeführt.

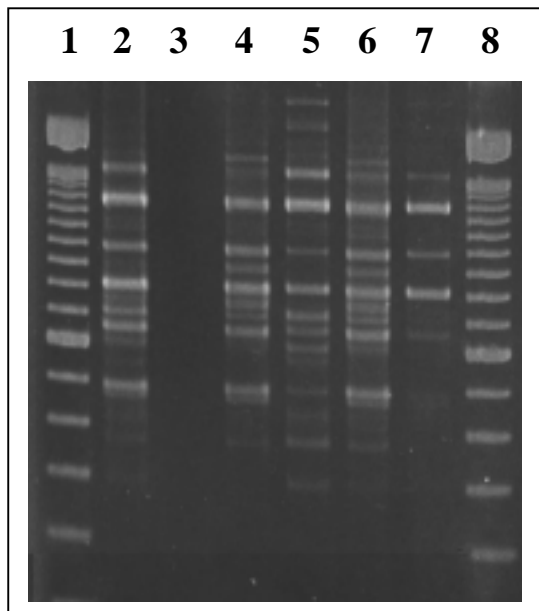


Abb. 16: RAPD-Bandenmuster bei *Zornia*, mit DNA-Polymerasen verschiedener Hersteller. Der Versuch wurde mit dem Standardprotokoll und den mitgelieferten Puffersystemen durchgeführt, mit Ausnahme von Lane 6 (Hier wurde der eigens angesetzte Puffer eingesetzt). Lane 1 und 8 sind Längenstandardmarker (BRL). Folgende Puffer- Polymerase- Systeme wurden verwendet: Lane 2 = Boehringer; Lane 3 = AGS; Lane 4 = BRL; Lane 5 = Pharmacia; Lane 6 = Pharmacia + eigener Puffer; Lane 7 = Supertaq.

Sämtliche Versuche wurden in Mikrotiterplatten (Fassungsvermögen für 96 Reaktionen) durchgeführt. Um eine Verdunstung des Puffers während der Aufheizphasen zu vermeiden, wurden alle Proben mit 50 μ l Mineralöl überschichtet.

Das Temperaturprofil setzte sich folgendermaßen zusammen:

- 1 min 94 °C (Denaturierung)
- 1 min 40 °C (Annealing)
- 2 min 72 °C (DNA-Synthese)
- 40 x wiederholen, dann
- 10 min 72 °C (DNA-Synthese)
- abkühlen auf 4 °C

Nach der PCR-Reaktion wurden die Proben im Kühlschrank aufbewahrt oder gleich auf ein Agarosegel aufgetragen. Dazu wurde der gesamte Probenansatz (25 μ l) mit Dye (1:6) angefärbt. Dieser Farbstoff enthält 30 % Glycerol, das sich an die DNA bindet und aufgrund der höheren Dichte beim Auftragen der Proben im Agarosegel ein Wegdiffundieren in den wäßrigen Puffer verhindert. Weiterhin befinden sich in diesem Farbstoff Bromphenolblau und Xylencyanol, die den Verlauf der Elektrophorese sichtbar machen. Hierbei bilden das Bromphenolblau eine dunkelblaue Elektrophoresefront, die etwa einem 400 bp großen DNA-Fragment entspricht und das Xylencyanol eine hellblaue Front von etwa 4000 bp. Da sich innerhalb einer RAPD-PCR die meisten DNA-Fragmente zwischen diesen beiden Molekulargrößen befinden, konnte so das Ende der Elektrophorese leichter abgeschätzt werden. Dies ist besonders dann wichtig, wenn unterschiedliche Agarosekonzentrationen zum Einsatz kommen und sich dadurch die Dauer der Elektrophorese verändert. In der Regel verwendet man in der RAPD-Analyse Agarosekonzentrationen von 1.4–2.0 % (1.4–2.0 g/100 ml), wobei eine höhere Konzentration eine längere Laufzeit bedeutet.

Aus dem Proben-Dye-Gemisch wurden nun jeweils 10 μ l auf ein Agarosegel aufgetragen, zusätzlich einen DNA-Längenstandard (BRL, 100 bp-Ladder), damit man nach Beendigung der Elektrophorese die Größe der einzelnen Fragmente bestimmen konnte. Dieser Marker wurde in der ersten und letzten Lane des Gels aufgetragen, denn die spätere Auswertung mit der dafür entwickelten Software RFLPscan benötigte pro Gel zwei Längenstandards. Nach der gelelektrophoretischen Auftrennung wurde das Gel mit Ethidiumbromid angefärbt, wobei sich der Farbstoff an die DNA anlagert und bei Bestrahlung mit UV-Licht orangefarbenes Licht emittiert. Sämtliche Agarosegele wurden nach der Anfärbung mit einer Polaroid S/W- Kamera fotografiert.

3.3.4 Datenauswertung

Die Photos wurden mit Hilfe eines Hand- bzw. Tischscanners bei 400 dpi Auflösung in den Computer eingescannt. Mit entsprechender Graphiksoftware wurden die Bilder für eine Auswertung mit der Spezialsoftware RFLPscan vorbereitet (Invertieren und Ausrichten).

3.3.4.1 RFLPscan

Das Programm RFLPscan (SCANALYTICS 1994) wurde für die Auswertung von RFLP-, RAPD- und Isozymdaten entwickelt. Hierbei werden zunächst das Photo eingelesen und das RAPD-Bandenmuster gescreent. Das Programm erkennt die Anordnung der Banden, markiert diese und ordnet jeder Bande ein Molekulargewicht zu (Abb. 17). Der Anwender muß nun entscheiden, welche dieser Banden er auswerten will, denn aufgrund der hohen Erkennungsrate des Programmes werden meist zu viele Banden identifiziert. Die Ursache dafür ist, daß die Auftrennung des Bandenmusters im Agarosegel nicht immer „optimal“ verläuft. Oft werden sog. „smiling lanes“ gebildet oder die Banden werden unterschiedlich stark amplifiziert. Agarosegele unterscheiden sich in der Regel durch ihre unterschiedliche Lauflänge des Bandenmusters. Erst durch das Auftragen eines Molekulargewicht-Längenstandards ist eine genaue Größenbestimmung der Banden möglich. Ein weiterer Vorteil des Programmes RFLPscan ist die Erstellung einer 1/0-Matrix. Die Auswertung dieser Daten erfolgt auf der Basis der An- oder Abwesenheit der entsprechenden Molekulargewichtsgrößen. Ist die Bande bei Individuum A vorhanden, wird sie mit 1 gewertet, fehlt sie hingegen bei Individuum B, wird eine 0 zugeordnet. Um Verwechslungen mit gleich großen Molekulargewichtsgrößen aus RAPD-Analysen anderer Primer zu vermeiden, wurde pro Agarosegel nur das RAPD-Bandenmuster eines Primers aufgetragen.

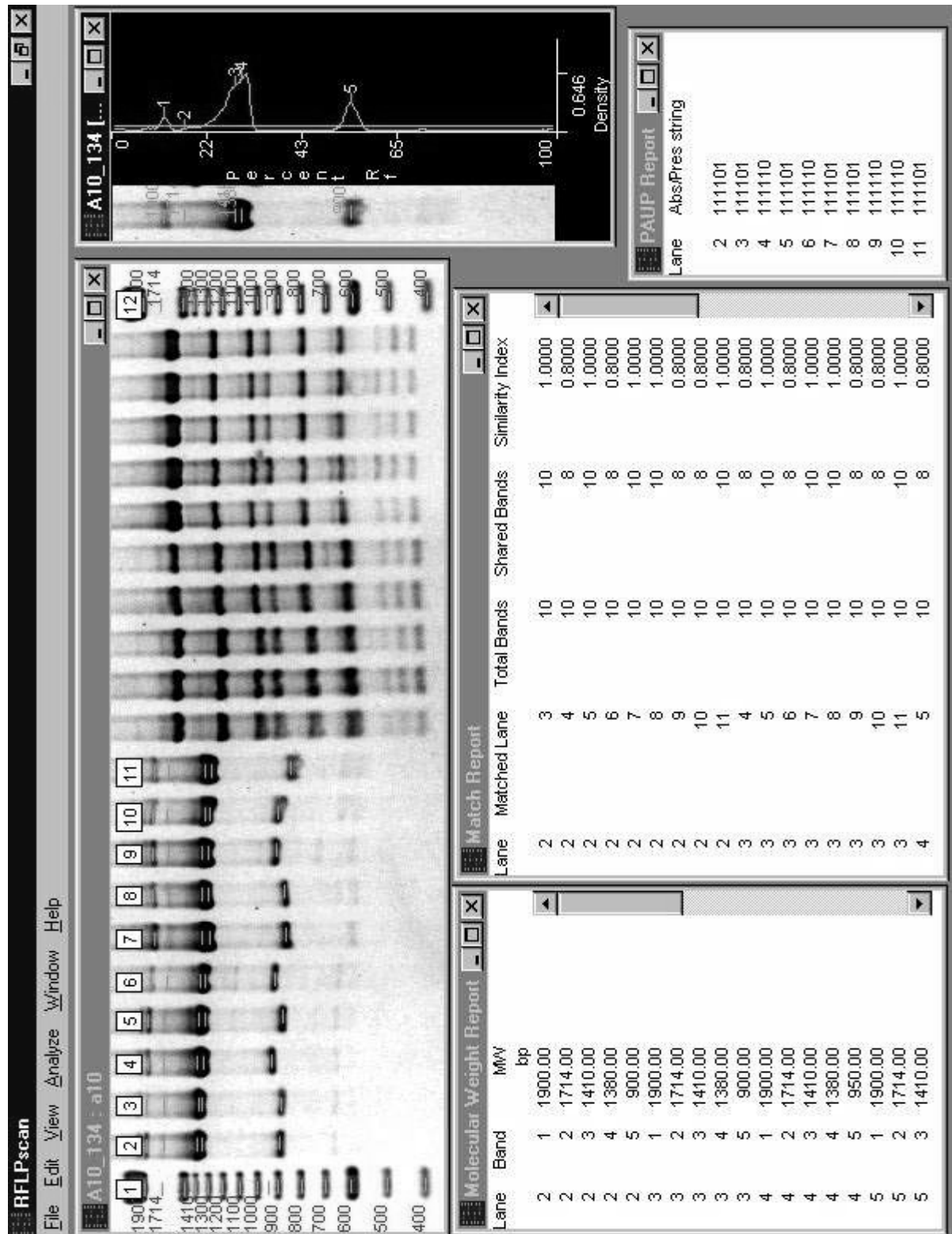


Abb. 17: RFLPscan Software zur Auswertung der RAPD-Daten.

Abgebildet ist ein Screenshot des Programmes. Bild oben links: RAPD-Bandenmuster mit zwei Molekulargewichtsmarkern (Lane 1 und 12); Zur besseren Auswertung wurde das Polaroid-Photo invertiert. Bild oben rechts: Angabe des RF-Wertes und der Bandenintensität. Bild unten links: Für jede Bande wird das Molekulargewicht berechnet. Bild unten Mitte: Berechnung des Similarity-Index (simple matching) und der Anzahl polymorpher Banden. Bild unten rechts: Berechnung einer 1/0-Matrix.

3.3.4.2 Distanz- und Ähnlichkeitsmaße

Die genetische Diversität bezeichnet die Vielfalt bzw. Mannigfaltigkeit in der genetischen Zusammensetzung von Organismengruppen auf derselben oder auf unterschiedlichen Organisationsstufen. Sie ist das Ergebnis der Evolution und daher die Konsequenz der Wirkung der verschiedenen Evolutionsfaktoren, insbesondere von Mutation, Selektion, Zufallsdrift und Migration sowie der Vermehrungsstruktur von Populationen. Auch der Einfluß des Menschen durch Domestizierung und gezielte Auswahl in der Züchtung spielt dabei eine wichtige Rolle (SPERLICH 1988; HINTUM 1995). Die Charakterisierung der genetischen Diversität kann auf der Ebene von Individuen, Populationen, Arten oder auch hinsichtlich höherer taxonomischer Einheiten erfolgen (PONS et al 1998). Die genetische Diversität beschreibt das Ausmaß an Unterschieden im gesamten genetischen Material (genomische und zytoplasmatische DNA) der untersuchten Organismengruppe. Bei der eingeschränkten Materialauswahl ist die Erfassung und Erhaltung der genetischen Variation für eine Genbank oder für einen Pflanzenzüchter von besonderer Bedeutung. Ziel der Konservierung genetischer Ressourcen ist eine vollständige, zumindest eine repräsentative Auswahl der vorhandenen genetischen Variation einer Pflanzenart.

Um einer solchen Zielvorstellung gerecht zu werden, genügt es nicht, die genetische Variation innerhalb und zwischen den einzelnen Gruppen aufzuzeigen. Eine Struktur ist oft nicht von vornherein bekannt und zudem kann nicht vorausgesetzt werden, daß eine vermutete Gruppierung den „wahren“ genetischen Strukturen im Untersuchungsmaterial entspricht.

Es ist also sinnvoll und notwendig, bei der Analyse der experimentellen Ergebnisse Methoden anzuwenden, die eine Charakterisierung des Materials entsprechend der Zielvorstellung gestatten.

Genetische Distanzen drücken genetische Unterschiede / Ähnlichkeiten zwischen Individuen oder Populationen durch eine einzige Zahl aus, die in der Regel zwischen 0 (kein Unterschied) und 1 (maximaler Unterschied) liegt (DICE 1945). Die Analyse der genetischen Diversität anhand von RAPD-Marker wird auf der Basis von binären Daten durchgeführt. Hierbei liegt für jedes Individuum ein Vektor von Nullen und Einsen vor, der das Vorhandensein (1) oder Fehlen (0) des beobachteten Merkmals, z.B. einzelner Banden auf einem Agarosegel, charakterisiert. Für die Berechnung von Ähnlichkeiten bzw. Distanzen wurden zwei Koeffizienten verwendet.

Der Ähnlichkeitskoeffizient S_{xy}

S_{xy} bezeichnet den Ähnlichkeitskoeffizienten (Dice-Index, DICE 1945), der auf der Anzahl gemeinsamer Banden beruht, dessen Wertebereich zwischen 0 (keine gemeinsamen Banden) und 1 (gemeinsame Banden) liegt. Da jeder Primer pro Individuum eine bestimmte Anzahl an Banden produziert, können diese Daten als Binärdatei bearbeitet werden. Der Dice-Index ist identisch mit der genetischen Distanz nach NEI & LI (1979). Somit berechnet sich der Ähnlichkeitskoeffizient S_{xy} wie folgt:

$$S_{xy} = \frac{2n_{xy}}{n_x + n_y + 2n_{xy}}$$

x und y bezeichnen die beiden zu vergleichenden Individuen
 n_{xy} Anzahl gemeinsamer Banden
 n_x und n_y Anzahl Banden der Einzelindividuen

Im Unterschied zum Tanimoto Ähnlichkeitsmaß (Jaccard-Index) werden beim Dice-Index die Anzahl gemeinsamer Banden doppelt gewertet. Damit stellt S_{xy} ein qualitatives Ähnlichkeitsmaß dar, das besonders das Ausmaß der genetischen Konservierung widerspiegelt. Zudem ist der Dice-Algorithmus identisch mit der genetischen Distanz $(1 - S_{xy})$ nach NEI & LI (1979), die in der statistischen Auswertung von RAPD-Daten breite Anwendung gefunden hat (HUFF et al. 1993, MÖSGES & FRIEDT 1994, SKROCH et al. 1992, OROZCO-CASTILLO et al. 1994, LYNCH & MILLIGAN 1994, TAO et al. 1993, TOHME et al. 1996, M'RIBU & HILU 1994, CLARK & LANIGAN 1993, YU & PAUL 1993, SHAH et al. 1994).

Die quadrierte euklidische Distanz D

Der Koeffizient D bezeichnet die quadrierte euklidische Distanz, d.h. der Abstand zwischen zwei Individuen ist die Quadratwurzel aus der Summe der quadrierten Wertedifferenzen über jeder Variablen. Hierbei werden gemeinsame Banden nicht berücksichtigt. Nach HUFF et al. (1993) sind die genetische Distanz nach NEI & LI und die euklidische Distanz D nahezu austauschbar. D stellt ein quantitatives Maß für die Unähnlichkeit zweier Individuen dar und ist wie folgt definiert:

$$D = \sum_k (n_{kx} - n_{ky})^2$$

x, y stehen für die beiden zu vergleichenden Individuen,
 k Anzahl vergleichbarer Banden jedes Individuums
 n_x, n_y Anzahl Banden jedes Individuums

Die quadrierte euklidische Distanz D wurde zur Errechnung der Varianzkomponenten mit dem WINAMOVA Programm von EXCOFFIER (1992) verwendet.

3.3.4.3 Clusteranalyse

Mit dem Programm SPSS für Windows 6.1.3 wurden verschiedene hierarchische agglomerative Clusterverfahren gerechnet und miteinander verglichen (BAVERAGE, WAVERAGE). In beiden Fällen erhält man die gleiche Clusteranordnung, so daß die Darstellung aller Clusteranalysen auf den am weitestverbreiteten UPGMA-Algorithmus (BAVERAGE, „unweighted pair-group method using arithmetic averages“) beschränkt werden kann (SNEATH & SOKAL 1973). Mit Hilfe dieses Algorithmus wird während einer Clusteranalyse versucht, relativ homogene Fallgruppen oder Variablen zu identifizieren und diese dann in separate Cluster eingeordnet. Diese Cluster werden dann agglomerativ zu einem hierarchisches Cluster aufgebaut und in einem Dendrogramm grafisch dargestellt. Individuen mit ähnlichem genetischen Datensatz können dann in einem gemeinsamen Cluster angeordnet werden. Die Position bzw. die mehr oder weniger starke Abgrenzung dieser Cluster innerhalb des Dendrogramms beschreibt dann die genetische Struktur bzw. die genetische Diversität von Populationen.

3.3.4.4 Varianzanalyse

Nähere Informationen über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen Populationen wurden über eine AMOVA (Analysis of Molecular Variance) ermittelt. Dazu wurde das Softwareprogramm WINAMOVA Version 1.55 (EXCOFFIER 1992) verwendet. Als Datenbasis diente die quadrierte euklidische Distanz D . Die Varianz s_x^2 ist die Summe der Abweichungsquadrate (SQ = sum of squares) aller Meßwerte einer Verteilung von ihrem Mittelwert, dividiert durch den Freiheitsgrad (n-1):

$$s_x^2 = \frac{SQ}{n-1} = \frac{1}{n-1} \cdot \sum (x_i - \bar{x})^2$$

wobei	n	= Stichprobenumfang
	n-1	= Freiheitsgrad
	x_i	= Meßwert
	\bar{x}	= arithmetisches Mittel der Meßwerte

Die Varianz beschreibt eine Methode zum Prüfen der Nullhypothese mehrerer gleicher Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit (Gesamtstichprobe). Je größer die Streuung zwischen den Gruppenmittelwerten bzw. je kleiner die Streuung innerhalb der Gruppen ist, desto größer ist die Vermutung, daß es einen Unterschied der Gruppenmittelwerte in der Grundgesamtheit gibt. Dabei wird die für die Gruppenmittelwerte geschätzte Stichprobenvarianz mit derjenigen innerhalb der Gruppen verglichen.

3.3.4.5 Hauptkoordinatenanalyse

Ausgangspunkt einer Hauptkoordinatenanalyse (principle coordinates analysis) ist eine Vielzahl von Variablen, von denen nicht a priori bekannt ist, ob und in welcher Weise sie miteinander korreliert sind. Mit Hilfe der Hauptkoordinatenanalyse werden Gruppen von Variablen untersucht, die durch eine „Hintergrundvariable“ (BROSIUS 1989) charakterisiert werden können. Solche „Hintergrundvariablen“ werden auch Faktoren genannt. Ziel der Hauptkoordinatenanalyse ist es, den Grad der Komplexität, der durch eine Vielzahl von Variablen dargestellt wird, durch möglichst wenige Faktoren wiedergeben zu können.

Ausgangsbasis für eine Hauptkoordinatenanalyse ist die Distanzmatrix, die über den Dice-Index (S_{xy}) für alle Individuen berechnet wurde. Der Vorteil der Hauptkoordinatenanalyse liegt in der besseren graphischen Darstellung großer Individuenzahlen, wohingegen individuelle genetische Unterschiede in einer Clusteranalyse deutlicher werden.

Die Interpretation der Faktoren ergibt sich aus der Relation, die sie zu den Beobachtungsvariablen haben, für die sie die Hintergrundvariable darstellen. Diese Daten lassen sich aus der Faktorenmatrix entnehmen. Hierbei zeigen große Faktorladungen eine große, kleine eine kleine Bedeutung eines Faktors für die entsprechende Variable an. Ein Faktor läßt sich dann leicht interpretieren, wenn einige Variablen, die gleiche Parameter aufweisen, (Standort, Niederschlag, Sammeljahr) hoch auf ihn laden und die anderen

gleichzeitig nur gering. Umgekehrt ist ein Faktor schwer zu interpretieren, wenn er zu allen Variablen eine gleich hohe Korrelation zeigt.

3.3.4.6 Diskriminanzanalyse

Ausgehend von der Herkunft der Individuen besteht grundsätzlich die Möglichkeit, jedes Individuum einer geographischen Gruppe zuzuordnen. Diese Gruppierung kann anschließend mit einer Diskriminanzanalyse der genetischen Marker geprüft werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden unterschiedliche Standorte derselben Pflanzenart mit RAPD-Markern untersucht. Da einige dieser Standorte sehr nah, andere hingegen sehr weit voneinander entfernt waren und verschiedenen ökoklimatischen Zonen angehören, wurde geprüft, ob die Individuen eines oder mehrerer Standorte einem gemeinsamen Ökotyp zugeordnet werden können. Als Datenbasis wurde eine 1/0-Matrix der RAPD-Daten erstellt und mit den Softwareprogrammen SPSS 7.5 und NTSYS 2.0 die Diskriminanzfunktionen berechnet. Es wurde keine Schätzung der Diskriminanzfunktion mit Hilfe einer zweiten bzw. einer Teilstichprobe durchgeführt, da aufgrund der geringen Individuenzahlen ein beträchtlicher Informationsverlust entstehen und damit das Ergebnis stark beeinflussen könnte.

4. Ergebnisse

1993-1996 wurden an den ausgewählten Standorten in Niger, Mali und Burkina Faso insgesamt 2000 Individuen der fünf Zielarten (*Brachiaria sp.*, *Zornia glochidiata*, *Alysicarpus ovalifolius*, *Cenchrus biflorus*, *Dactyloctenium aegyptium*) gesammelt, mit Silicagel getrocknet und nach Giessen gebracht. Für einen Teil dieser Pflanzen wurden neben Samen Blattproben entnommen und von I. Salifou im ICRISAT biochemisch (Isozymanalyse) untersucht (KUSSEROW 1997).

Zunächst wurden mit einheimischen Wildkräutern und an einigen Blattproben der Zielarten verschiedene DNA-Extraktionsmethoden (SDS- und CETAB-Extraktionsmethode) getestet. Die SDS-Methode zeigte bei allen fünf Zielarten die besten Resultate. Nach der DNA-Extraktion wurden mit 80 (bei *Brachiaria*) bzw. 20 (bei *Zornia*) Primern erste PCR-Versuche durchgeführt und die Qualität der DNA überprüft. Im Anschluß konnten 309 Pflanzenproben von *Brachiaria sp.* und 80 von *Zornia glochidiata* mit 10 bzw. 6 ausgewählten polymorphen Primern untersucht werden. *Alysicarpus ovalifolius*, *Cenchrus biflorus* und *Dactyloctenium aegyptium* wurden in der vorliegenden Arbeit nicht mit RAPD-Markern untersucht.

Kapitel 4.1 beschreibt erste Ergebnisse der RAPD-Analyse bei *Brachiaria*, in Kapitel 4.2 wird ein Vergleich einer morphologischen Bestimmung verschiedener *Brachiaria*-Arten mit den hier ermittelten molekulargenetischen Daten vorgenommen. Kapitel 4.3 behandelt Einzelergebnisse verschiedener *Brachiaria*-Arten und Kapitel 4.4 erste Ergebnisse von *Zornia glochidiata*.

4.1 RAPD-Untersuchungen bei *Brachiaria*

Ziel dieser RAPD-Untersuchungen war es, anhand von Stichproben aus verschiedenen regionalen Standorten, sowie Standorten mit unterschiedlicher Niederschlagsbilanz, die genetische Variabilität verschiedener *Brachiaria*-Arten zu untersuchen. Insgesamt wurden 309 Individuen aus drei Jahren (1994-1996) von 25 Standorten bearbeitet. Tab. 3 zeigt dazu eine Auflistung der gesammelten Pflanzenproben (siehe auch Abb. 9, Abb. 10 und Tab. 2).

In Vorversuchen wurden die optimalen Reaktionsbedingungen (Puffer, Temperaturprofil, u.a.) für die RAPD-Analyse eingestellt und die Auswahl der Primer vorgenommen. Es wurden verschiedene Primer-Sets (A, B, T, Y, Z) der Firma Operon mit insgesamt 100 Primern getestet und davon 10 für weitere Analysen ausgewählt. Die restlichen Primer zeigten entweder kein oder ein nur schlecht zu interpretierendes Bandenmuster. Oft waren dabei die

Banden verschwommen, sehr schwach oder konnten im zweiten Versuchsansatz nicht reproduziert werden. Abb. 18 zeigt dazu ein RAPD-Profil, das mit dem Primer-Set A erzeugt wurde.

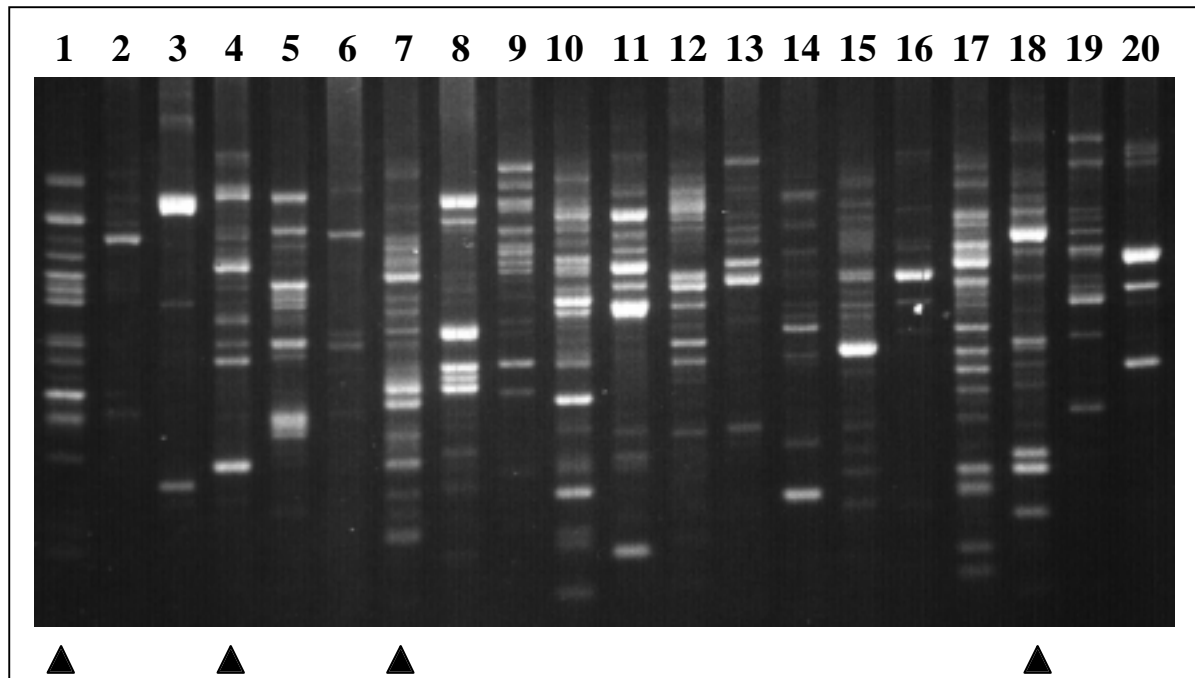


Abb. 18: RAPD-Bandenmuster mit 20 verschiedenen Primern (Testset A). Die mit Pfeilen markierten Primer (Lane 1 = A-01, Lane 4 = A-04, Lane 7 = A-07, Lane 18 = A-18) wurden in der RAPD-Analyse von *Brachiaria sp.* eingesetzt.

Die zehn ausgewählten Primer amplifizierten insgesamt 250 RAPD-Marker, davon waren 248 polymorph und zwei monomorph (Tab. 4). Die Größe der Banden variierte von 288 bp (bp = Basenpaare) bis 2050 bp mit einem Mittelwert von 906 bp. 80 % der RAPD-Fragmente hatten eine Größe zwischen 800 bp und 1300 bp (Abb. 19).

Der mittlere Ähnlichkeitsindex (Dice-Index) lag bei 0.601, wobei die Werte zwischen 0.108 und 1.0 schwankten. Aufgrund des niedrigen Dice-Index und der hohen Anzahl polymorpher RAPD-Marker innerhalb der Gesamtstichprobe wurde eine morphologische Bestimmung vorgenommen und mit den Ergebnissen der RAPD-Analyse verglichen (Prof. Scholz, FU Berlin). Erste Hinweise zu der Annahme, daß neben *B. xantholeuca* noch weitere *Brachiaria*-Arten gesammelt wurden zeigten sich bereits nach der Auswertung der ersten 70 Individuen aus dem Sammeljahr 1994. Hier wurden zuvor von der Projektleiterin ein Individuum der Art *B. ramosa* dieser Stichprobe hinzugefügt, um im „Blindversuch“ zu testen, ob eine Differenzierung beider Arten mit RAPD-Markern möglich ist. Die Auswertung dieser Untersuchung wurde über eine Clusteranalyse vorgenommen. Hierbei zeigte sich eine Auftrennung in drei statt der erwarteten zwei Cluster, die jeweils eine *Brachiaria*-Art charakterisieren sollten.

Tab. 3: 309 *Brachiaria*-Individuen aus 25 Standorten in Niger, Mali und Burkina Faso. Es wurde in drei aufeinanderfolgenden Jahren (1994-1996) gesammelt. Die Standorte werden in Tab. 2 näher beschrieben. Die Codenummern kennzeichnen die geographische Lage der Standortes in Abb. 9 und Abb. 10. Für die Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* wurden Proben aus drei, für *Diffa-I*, *Gourè*, *ICRISAT*, *Toukounous*, *Niono-I* und *Niono-II* und *Zinder-I* aus zwei Sammeljahren ausgewertet.

Standort	Code	Proben-Nr.	Individuen	Sammeljahr
<i>H 1</i>	[5]	B09- B13	5	1994
<i>H 2</i>	[6]	B14- B21	8	1994
<i>H 4</i>	[8]	B22- B41	20	1994
		B121- B130	10	1995
		B298- B307 (4.09.96)	10	1996
		B318- B327 (5.10.96)	10	1996
<i>H 5</i>	[9]	B42- B44	3	1994
		B210- B219	10	1995
		B288- B297	10	1996
<i>H 10</i>	[12]	B45- B49	5	1994
		B233- B242	10	1995
		B520- B529	10	1996
<i>H 11</i>	[13]	B50- B52	3	1994
<i>H 13</i>	[14]	B53- B55	3	1994
<i>Diffa-I</i>	[26]	B151- B160	10	1995
<i>Diffa-II</i>	[27]	B408- B417	10	1996
<i>Gourè</i>	[25]	B161- B170	10	1995
		B398- B407	10	1996
<i>ICRISAT</i>	[11]	B56- B60	5	1994
		B510- B519	10	1996
<i>Maradi</i>	[17]	B61- B62	2	1994
		B181, B183- B190	9	1995
		B353- B357	5	1996
<i>Maradi –Zinder</i>	[18]	B358- B367	10	1996
<i>Toukounous</i>	[32]	B243, B244, B246- B247, B251	5	1995
		B490- B499	10	1996
<i>Gao</i>	[31]	B111- B120	10	1995
<i>Zinder-I</i>	[20]	B71- B80	10	1994
		B388- B392, B394- B397	9	1996
<i>Zinder-II</i>	[21]	B171- B180	10	1996
<i>Sevarè</i>	[33]	B273- B277	5	1995
<i>Ibecetene</i>	[15]	B339- B343, B345- B347	8	1996
<i>Takieta</i>	[22]	B368- B369, B371- B377	9	1996
<i>Palmen</i>	[24]	B434- B438	5	1996
<i>Hamdara</i>	[23]	B378- B387	10	1996
<i>Ouahigouya</i>	[34]	B83- B92	10	1995
<i>Niono-I</i>	[28]	B69	1	1994
		B93- B97	5	1995
<i>Niono-II</i>	[29]	B70	1	1994
		B98- B100	3	1995

Tab. 4: 10 ausgewählte Primer für die RAPD-Analyse bei *Brachiaria*. Es wurden insgesamt 250 RAPD-Marker identifiziert, wobei zwei monomorph (d.h. diese Marker werden in allen untersuchten Pflanzenproben amplifiziert) und 248 polymorph (d.h. diese Marker werden nicht in allen untersuchten Pflanzenproben amplifiziert) waren. Durchschnittlich produzierte jeder Primer 25 RAPD-Marker.

	Primer	Basensequenz	RAPD-Marker	monomorph	polymorph
1	A-01	5`-CAGGCCCTTC-3`	14	1	13
2	A-04	5`-AATCGGGCTG-3`	23		23
3	A-07	5`-GAAACGGGTG-3`	23		23
4	A-18	5`-AGGTGACCGT-3`	35		35
5	B-08	5`-GTCCACACGG-3`	26		26
6	B-18	5`-CCACAGCAGT-3`	22	1	22
7	T-06	5`-CAAGGGCAGA-3`	26		26
8	Y-02	5`-CATCGCCGCA-3`	28		28
9	Y-16	5`-GGGCCAATGT-3`	23		23
10	Y-20	5`-AGCCGTGGAA-3`	30		30
	gesamt		250	2	248

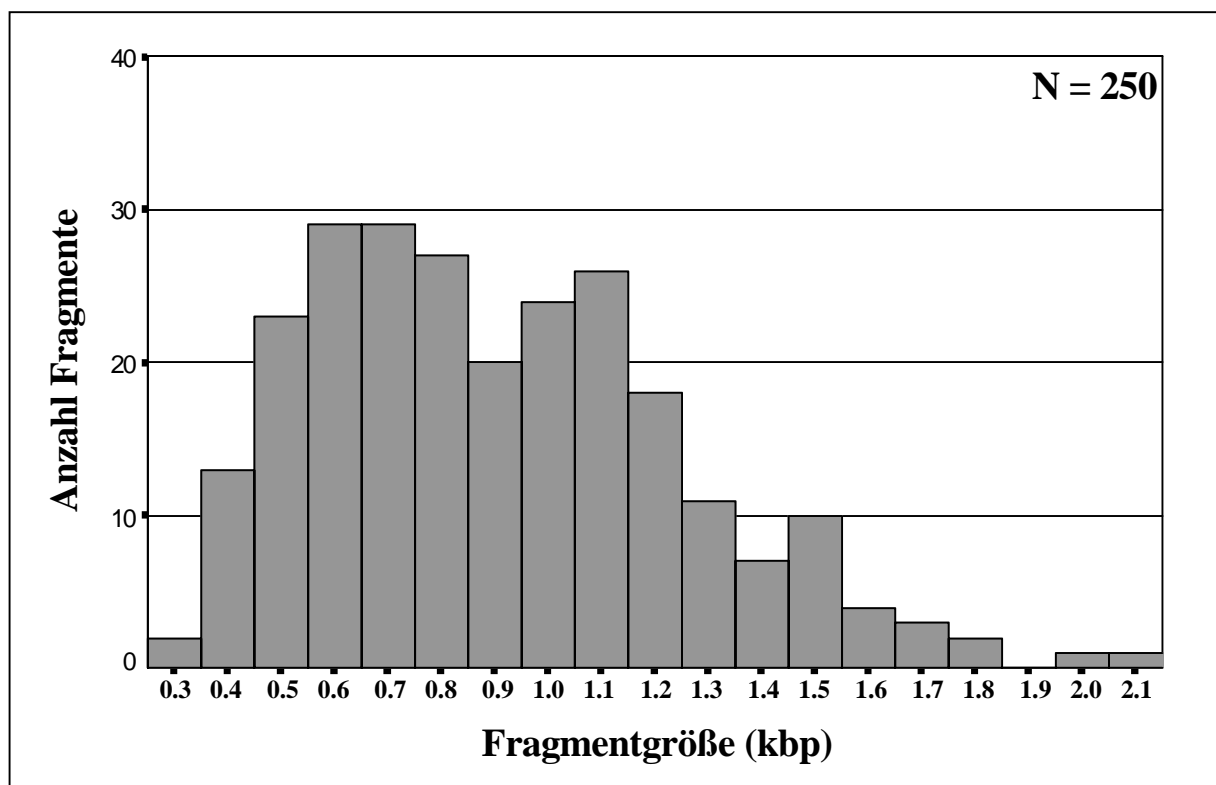


Abb. 19: Histogramm der Fragmentgrößen aus 250 RAPD-Markern. Es wurden 10 Primer bei 309 *Brachiaria*-Individuen eingesetzt. Die Fragmentgrößen variieren zwischen 288 bp und 2050 bp, mit einem Mittelwert von 906 bp (1kbp = 1000 bp).

4.2 Morphologische Bestimmung verschiedener *Brachiaria*-Arten

Eine morphologische Bestimmung der Gattung *Brachiaria* erfordert viel Erfahrung und ist im Gelände nur mit erheblichem Aufwand durchführbar. Die morphologische Zuordnung ist zudem in der Literatur uneinheitlich; siehe ANDREWS 1956; CLAYTON 1972; SCHOLZ 1978; CLAYTON & RENVOIZE 1982; RENVOIZE et al. 1996; PHILLIPS 1995; VELDKAMP 1996; PEYRE DE FABREGUES 1976; LEBRUN et al. 1972; KUSSEROW et al. 1999 (in Vorb).

Um die ursprünglich als *Brachiaria xantholeuca* gesammelten Individuen taxonomisch zu bestimmen, wurden nach der für die Analyse nötigen Blattentnahme alle 1995 und 1996 gesammelten Pflanzen in einem Pflanzenherbar getrocknet und nach Berlin gebracht. Dort wurden sie von Prof. Scholz taxonomisch bestimmt. Von den insgesamt 163 Blattproben wurden 34 in Gießen mit RAPD-Markern untersucht. Hierzu wurden zwei Primer (A-01 und Y-20) ausgewählt, die in Vorversuchen reproduzierbare Bandenmuster lieferten. Die Ergebnisse beider Analysen wurden in Tab. 5 zusammengestellt.

Scholz ordnete die 163 ausgewählten Pflanzen fünf *Brachiaria*-Arten zu:

B. xantholeuca

B. nidulans

B. orthostachys

B. ramosa

B. lata

Die 34 in Giessen untersuchten Pflanzenproben entsprachen mit zwei Ausnahmen seiner Einteilung in fünf Arten. Dies wurde in einer Clusteranalyse (Abb. 20) bestätigt, wobei jeder *Brachiaria*-Art ein Grundbandenmuster zugeordnet werden konnte. Zwei Individuen (B159 und B160 aus *Diffa-I*) wichen von diesen fünf Grundbandenmustern deutlich ab und bildeten ein separates Cluster innerhalb der Art *B. orthostachys*. Nach Angaben von Prof. Scholz waren diese beiden Blattproben in sehr schlechtem Zustand und konnten nicht einwandfrei bestimmt werden. Die Einordnung in die Art *B. nidulans* ist deshalb nicht gesichert.

Das RAPD-Bandenmuster dieser beiden Proben in Abb. 21 zeigt eine größere Ähnlichkeit zu *B. orthostachys* als zu *B. nidulans*. Bei näherer Betrachtung des Dendrogramms fällt allerdings auf, daß die Abtrennung beider Proben innerhalb des *B. orthostachys* Clusters sehr

früh stattfindet, d.h. bei einem Dice-Index von 0.66. Im Vergleich dazu werden *B. xantholeuca* und *B. nidulans* schon bei einem Dice-Index von 0.62 voneinander getrennt. Damit ist eine klare Zuordnung dieser beiden Proben in eine der fünf Arten nicht möglich.

Tab. 5: Vergleich der morphologischen und molekulargenetischen Analyse von 34 *Brachiaria*-Individuen aus 22 Standorten der Sammeljahre 1995 und 1996. Zwei Individuen aus *Diffa-I* (B159 und B160) wurden in der molekulargenetischen Analyse *B. orthostachys*, in der morphologischen Analyse *B. nidulans* zugeordnet (siehe Markierung).

	Probennr.	Jahr	Standort	RAPD-Analyse	morpholog. Analyse
1	B81	1995	<i>Ouagadougou</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
2	B82	1995	<i>Ouagadougou</i>	<i>B. lata</i>	<i>B. lata</i>
3	B93	1996	<i>Niono-I</i>	<i>B. ramosa</i>	<i>B. ramosa</i>
4	B94	1996	<i>Niono-I</i>	<i>B. ramosa</i>	<i>B. ramosa</i>
5	B95	1996	<i>Niono-I</i>	<i>B. ramosa</i>	<i>B. ramosa</i>
6	B96	1996	<i>Niono-I</i>	<i>B. ramosa</i>	<i>B. ramosa</i>
7	B98	1995	<i>Niono-II</i>	<i>B. lata</i>	<i>B. lata</i>
8	B99	1995	<i>Niono-II</i>	<i>B. lata</i>	<i>B. lata</i>
9	B100	1995	<i>Niono-II</i>	<i>B. lata</i>	<i>B. lata</i>
10	B106	1995	<i>Kolo</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
11	B119	1995	<i>Gao</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
12	B151	1995	<i>Diffa-I</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
13	B159	1995	<i>Diffa-I</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. nidulans</i>
14	B160	1995	<i>Diffa-I</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. nidulans</i>
15	B163	1995	<i>Gourè</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. orthostachys</i>
16	B164	1995	<i>Gourè</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. orthostachys</i>
17	B181	1995	<i>Maradi</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
18	B182	1995	<i>Maradi</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
19	B210	1995	<i>H 5</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
20	B253	1995	<i>Burkina</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
21	B277	1995	<i>Sevarè</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
22	B338	1996	<i>Ibecetenè</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
23	B342	1996	<i>Ibecetenè</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. orthostachys</i>
24	B362	1996	<i>Maradi– Zinder</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
25	B373	1996	<i>Takieta</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
26	B378	1996	<i>Hamdara</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
27	B388	1996	<i>Zinder-I</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
28	B398	1996	<i>Gourè</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. orthostachys</i>
29	B410	1996	<i>Diffa-II</i>	<i>B. xantholeuca</i>	<i>B. xantholeuca</i>
30	B419	1996	<i>Belou Hourou</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
31	B429	1996	<i>Tire Place</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
32	B434	1996	<i>Palmen</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>
33	B457	1996	<i>H 8</i>	<i>B. orthostachys</i>	<i>B. orthostachys</i>
34	B499	1996	<i>Toukounous</i>	<i>B. nidulans</i>	<i>B. nidulans</i>

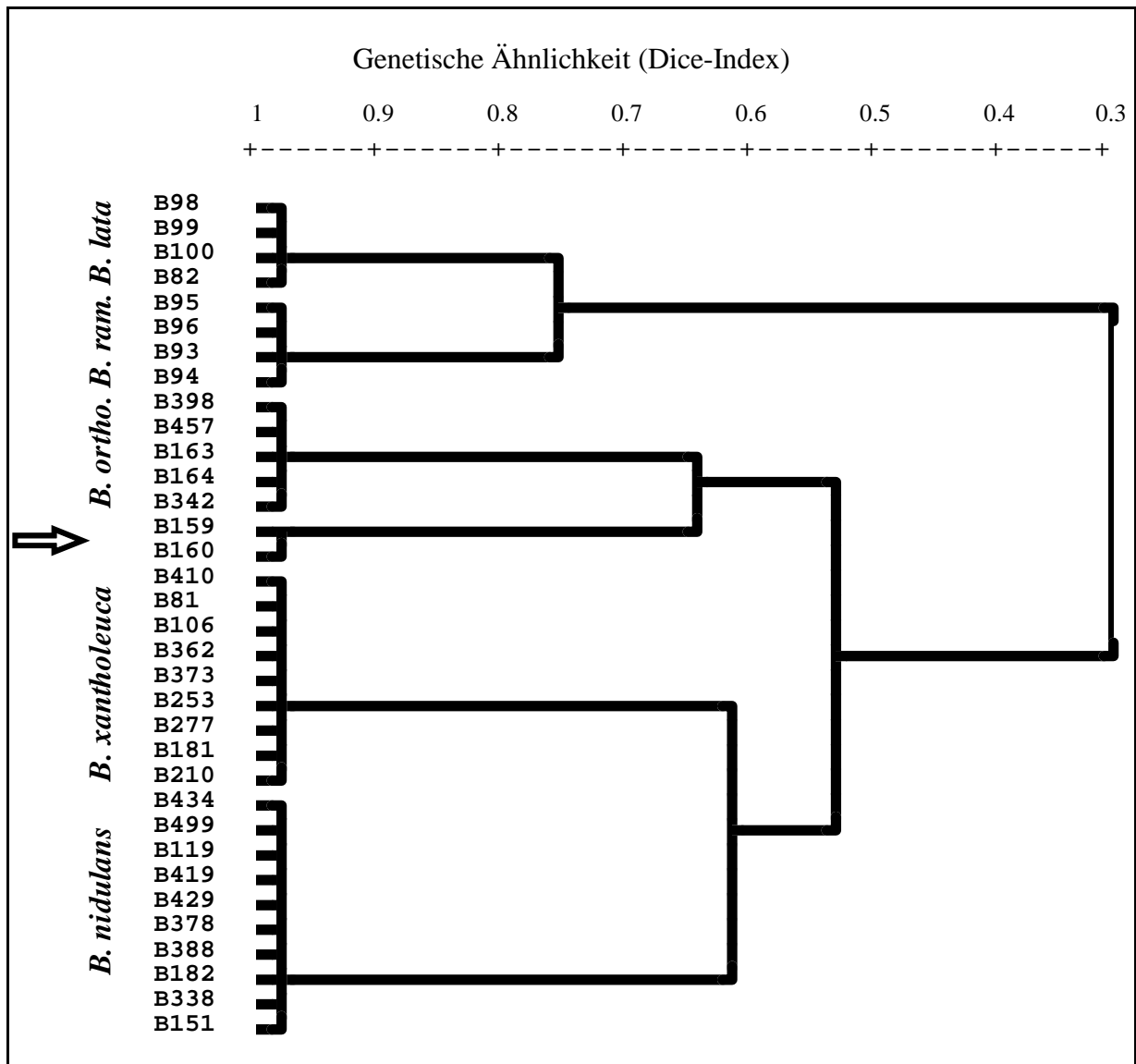


Abb. 20: UPGMA-Dendrogramm mit 34 *Brachiaria*-Individuen (Primer A-01 und Y-20). Die Zuordnung der fünf *Brachiaria*-Arten wurde auf der Basis der morphologischen Bestimmung von Scholz durchgeführt. (*B. orth.* = *B. orthostachys*; *B. ram.* = *B. ramosa*).

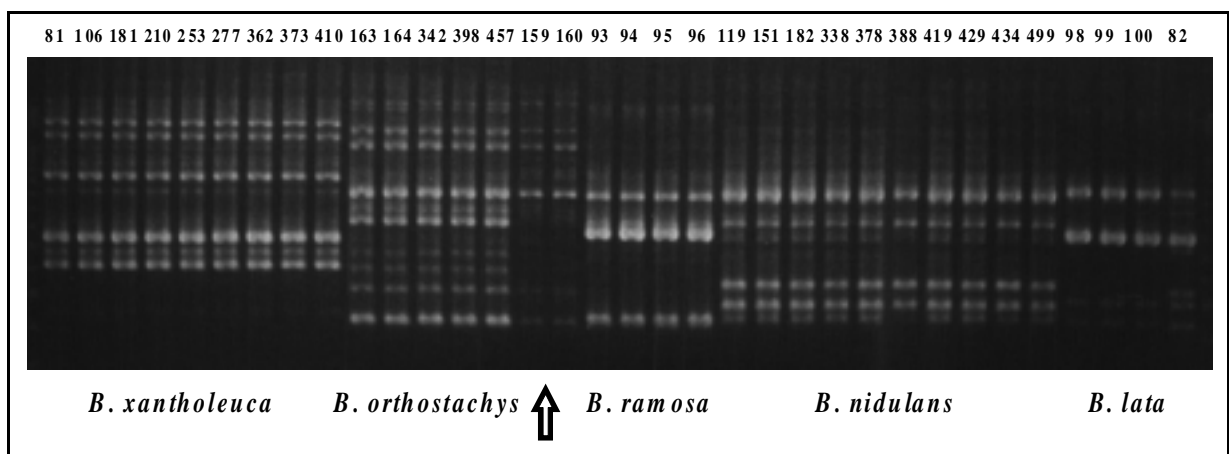


Abb. 21: RAPD-Bandenmuster der 34 getesteten *Brachiaria*-Proben mit Primer A-01. Die fünf Arten zeigen ein charakteristisches Bandenmuster, wobei die Proben B159 und B160 (Pfeil) die größte Ähnlichkeit zu *B. orthostachys* aufweisen.

4.3 RAPD-Untersuchungen bei fünf *Brachiaria*-Arten

Das Ergebnis der morphologischen und molekulargenetischen Untersuchung zeigte, daß mit Ausnahme zweier Individuen, für die fünf hier untersuchten *Brachiaria*-Arten ein Grundbandenmuster vorliegt, daß zur Artbestimmung geeignet ist.

Insgesamt wurden 309 Individuen von *Brachiaria* mit RAPD-Markern untersucht. Die RAPD-Daten wurden in eine 1/0-Matrix überführt und statistisch ausgewertet. Es wurde eine Clusteranalyse durchgeführt und als Distanzmaß der Dice-Index verwendet. Die Berechnung des Dendrogramm in Abb. 22 wurde mit der UPGMA-Methode durchgeführt. Die Darstellung ist vereinfacht dargestellt und zeigt nur die Auftrennung der Proben in fünf Cluster, die den fünf *Brachiaria*-Arten entsprechen. Die beiden Proben B159 und B160 aus *Diffa-I* werden innerhalb des *B. orthostachys* Clusters eingeordnet. Bei *B. xantholeuca* wird der Standort *Sevarè* (Mali) abgetrennt.

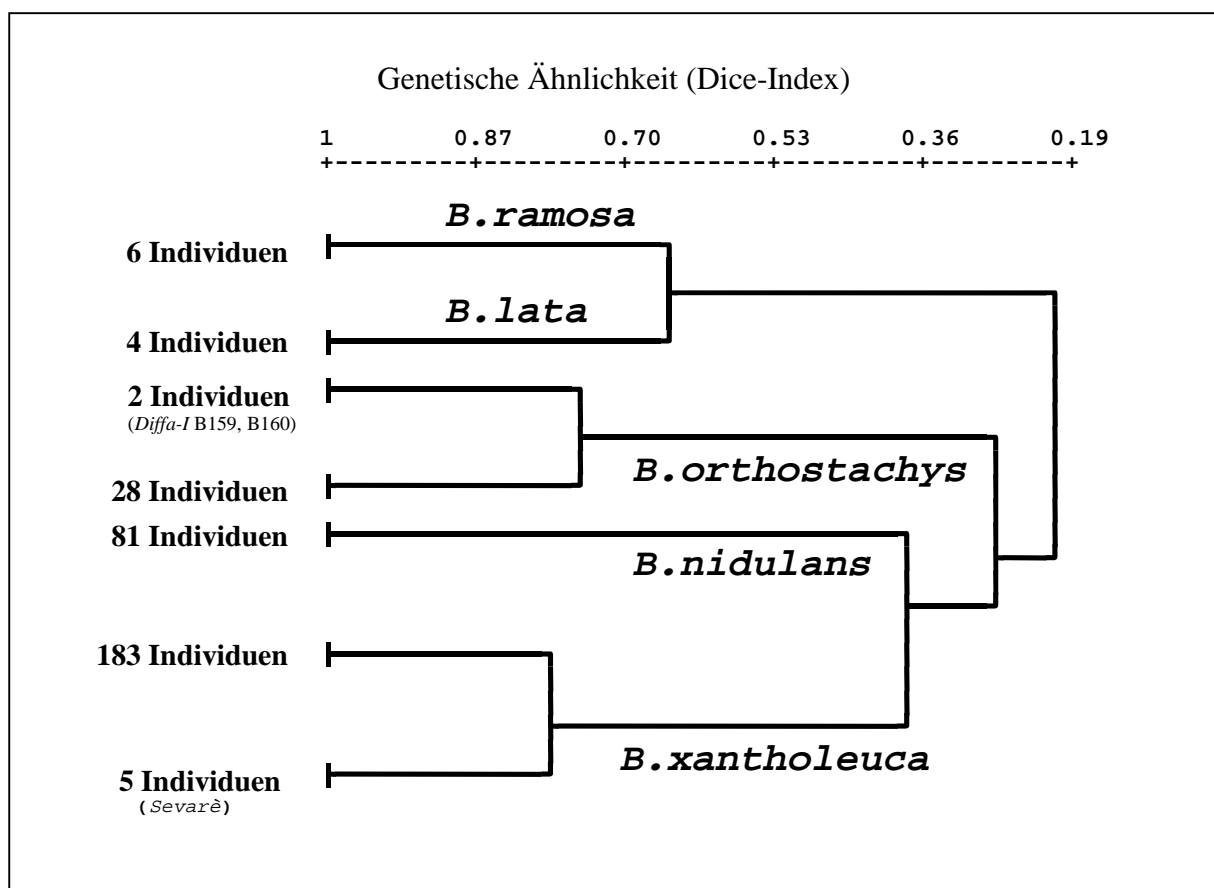


Abb. 22: UPGMA-Dendrogramm mit 309 *Brachiaria*-Individuen (vereinfacht dargestellt), basierend auf dem Dice-Index, der mit 10 Primern ermittelt wurde. Für *B. orthostachys* und *B. xantholeuca* werden jeweils zwei Cluster berechnet.

Tab. 6 zeigt die Aufteilung der 309 Individuen in die fünf *Brachiaria*-Arten auf der Basis der Clusteranalyse. Es wurde für jede Art der Dice-Index berechnet. Für *B. xantholeuca* wurde aufgrund der Bbtrennung von *Sevarè* zwei Indices berechnet.

24 (22 %) der insgesamt 111 RAPD-Marker bei *B. xantholeuca* sind für *Sevarè* standortspezifisch. Der Dice-Index erhöht sich hier von 0.946 (mit *Sevarè*) auf 0.955 (ohne *Sevarè*) und stellt somit den höchsten Wert zwischen den fünf *Brachiaria*-Arten dar. Einen wesentlich stärkeren Einfluß auf den Dice-Index zeigen die beiden Proben B159 und B160 aus *Diffa-I*, die in Abb. 22 in das *B. orthostachys* Clusters eingeordnet werden, allerdings dort wieder sehr früh abgetrennt werden und ein eigenes Cluster bilden. Der Dice-Index erhöht sich von 0.874 (ohne *Diffa-I*) auf 0.896 (mit *Diffa-I*) und stellt damit die beiden niedrigsten Werte dar.

Die beiden Arten *B. ramosa* und *B. lata* sind mit 6 bzw. 4 Individuen vertreten und zeigen innerhalb der Clusteranalyse die größte genetische Ähnlichkeit zueinander.

Tab. 6: Mittlere Dice-Indices der fünf *Brachiaria*-Arten. *B. orthostachys* zeigt mit 0.874 den niedrigsten und *B. xantholeuca* (ohne *Sevarè*) mit 0.955 den höchsten Ähnlichkeitsindex. (* = mittlerer Dice-Index der *Brachiaria*-Art, # = Mittelwert aus den Dice-Indices der fünf *Brachiaria*-Arten)

Arten	Individuen	RAPD-Marker	Dice-Index
<i>B. xantholeuca</i> (mit <i>Sevarè</i>)	188	111	*0.946
<i>B. xantholeuca</i> (ohne <i>Sevarè</i>)	183	87	0.955
<i>B. orthostachys</i>	30	79	*0.874
<i>B. orthostachys</i> (ohne B159 und B160)	28	65	0.896
<i>B. nidulans</i>	81	81	*0.912
<i>B. ramosa</i>	6	70	*0.949
<i>B. lata</i>	4	79	*0.926
<i>Brachiaria sp.</i> (Gesamtstichprobe)	309	250	#0.921

Es wurde eine Hauptkoordinatenanalyse durchgeführt und die drei Eigenvektoren in einen 3D-Blot in Abb. 23 abgetragen. Die berechneten Gruppierungen entsprechen denen der Clusteranalyse in Abb. 22. Es werden vier Gruppen gebildet, wobei eine Gruppe zwei Arten (*B. ramosa* und *B. lata*) enthält. Die beiden Proben aus *Diffa-I* (B159 und B160) werden *B. orthostachys* zugeordnet.

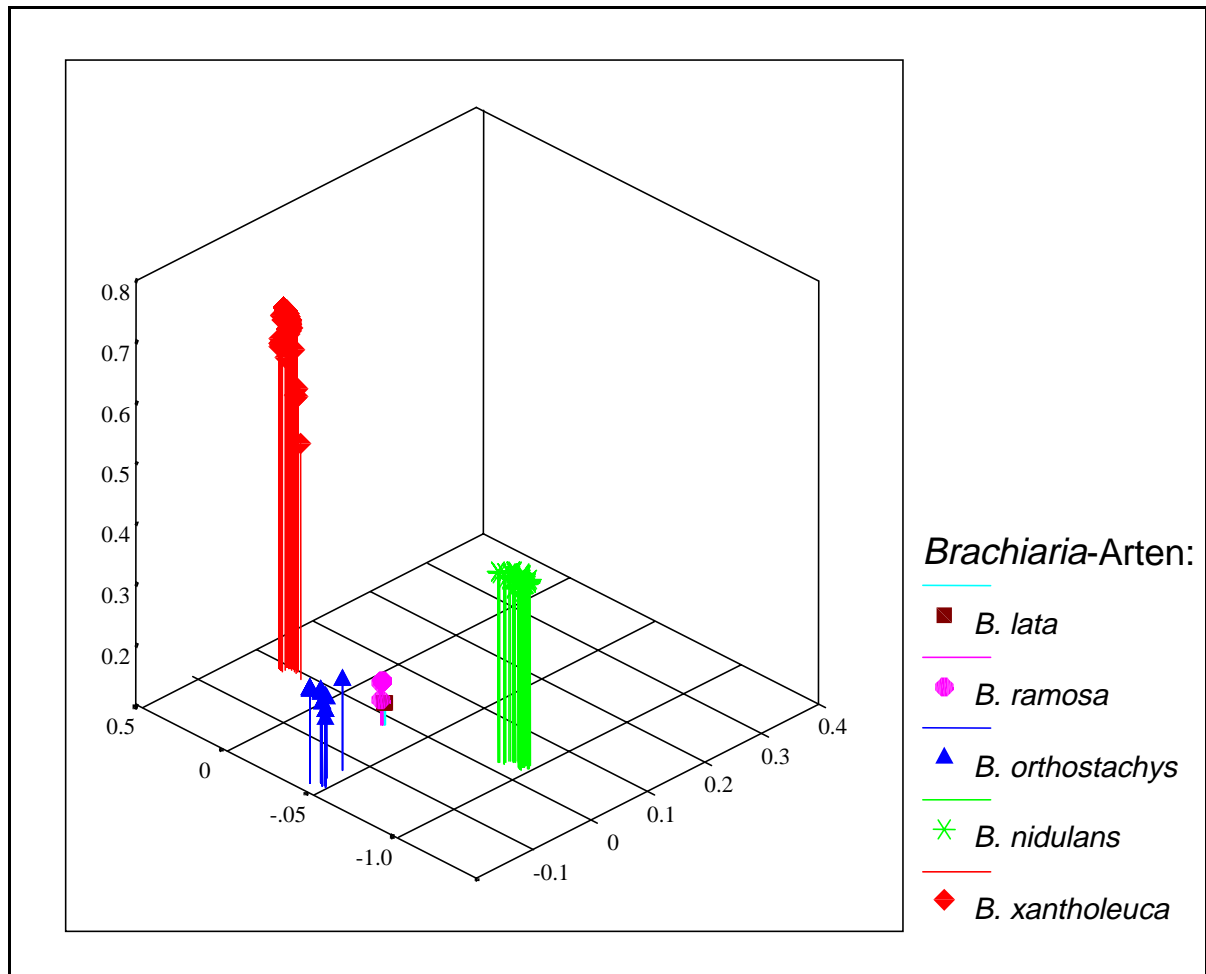


Abb. 23: 3D-Blot der Eigenvektoren aus der Hauptkoordinatenanalyse. Die 309 untersuchten Individuen aus fünf *Brachiaria*-Arten wurden in 4 Gruppen angeordnet, wobei *B. lata* und *B. ramosa* eine gemeinsame Gruppe darstellen. Die beiden *Diffa-I*-Proben B159 und B160 befinden sich in der *B. orthostachys*-Gruppe. In der Grafik werden mehrere Proben übereinander geblottet.

Die Gesamtstichprobe setzt sich zusammen aus: *B. lata* = 4 Proben, *B. ramosa* = 6 Proben, *B. orthostachys* = 30 Proben, *B. nidulans* = 81 Proben, *B. xantholeuca* = 188 Proben

4.3.1 *Brachiaria xantholeuca*

B. xantholeuca ist ein im Sahel und den südlich angrenzenden Regionen häufig verbreitetes Futtergras. SCHOLZ (in KUSSEROW et al. 1999) stellt die Art *Brachiaria xantholeuca* mit Verbreitungsgebiet südlich der Sahelzone in die Gattung *Urochloa* ein und nennt sie *U. xantholeuca*. Im weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit wird für diese Art der Name *Brachiaria xantholeuca* beibehalten. Abb. 24 und Abb. 25 zeigen den Habitus dieser Pflanze. Beide abgebildeten Pflanzen wurden auf dem ICRISAT-Gelände in Sadore, Niamey gesammelt. Diese Testfläche ist eingezäunt und wird kontrolliert beweidet. Man findet hier Exemplare, die bis zu 45 cm Höhe heranwachsen können. Außerhalb dieser Weideflächen sind die Pflanzen aufgrund hohen Weidedrucks stark verbissen und erreichen oft nur eine Höhe von 10 cm. Auf der Basis der Clusteranalyse in Abb. 22 konnten 188 Individuen aus 14 Standorten *B. xantholeuca* zugeordnet werden (Tab. 7). Für die Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* wurden die drei Sammeljahre 1994-1996 ausgewertet. Am Standort *H4* wurde 1996 an zwei Terminen Proben entnommen. *ICRISAT* wurde für die beiden Jahre 1994 und 1996 ausgewertet.

Tab. 7: 188 *B. xantholeuca* Individuen aus 14 Standorten. *Sevarè* befindet sich in Mali, *Ouahigouya* in Burkina Faso, die restlichen Standorte in Niger (vgl. Tab. 2, Abb. 9, Abb. 10).

Proben-Nr.	Standort	Individuen	Jahr	Beschreibung
B09- B13	<i>H1</i>	5	1994	Pistenrand
B14- B21	<i>H2</i>	8	1994	Pistenrand
B22- B41	<i>H4</i>	20	1994	Piste, Nähe Marigot
B121- B130	<i>H4</i>	10	1995	Piste, Nähe Marigot
B298- B307	<i>H4</i> (4.09.1996)	10	1996	Piste, Nähe Marigot
B318- B327	<i>H4</i> (5.10.1996)	10	1996	Piste, Nähe Marigot
B42- B44	<i>H5</i>	3	1994	Pistenrand
B210- B219	<i>H5</i>	10	1995	Pistenrand
B288- B297	<i>H5</i>	10	1996	Pistenrand
B45- B49	<i>H10</i>	5	1994	Brachfläche
B233- B242	<i>H10</i>	10	1995	Brachfläche
B520- B529	<i>H10</i>	10	1996	Brachfläche
B50- B52	<i>H11</i>	3	1994	Degradierte Fläche
B53- B55	<i>H13</i>	3	1994	Pistenrand
B56- B60	<i>ICRISAT</i>	5	1994	eingezäunt
B510- B519	<i>ICRISAT</i>	10	1996	eingezäunt
B61- B62	<i>Maradi</i>	2	1994	Straßenrand
B181, B183- B190	<i>Maradi</i>	9	1995	Straßenrand
B353- B357	<i>Maradi</i>	5	1996	Straßenrand
B358- B367	<i>Maradi- Zinder</i>	10	1996	Straßenrand
B368, B369, B371- B377	<i>Takieta</i>	9	1996	Straßenrand
B83- B92	<i>Ouahigouya</i>	10	1995	Pistenrand
B273- B277	<i>Sevarè</i>	5	1995	Pistenrand
B409, B410, B414- B417	<i>Diffa-II</i>	6	1996	Straßenrand



Abb. 24: *Brachiaria xantholeuca*. Habitus mit reifen Samen

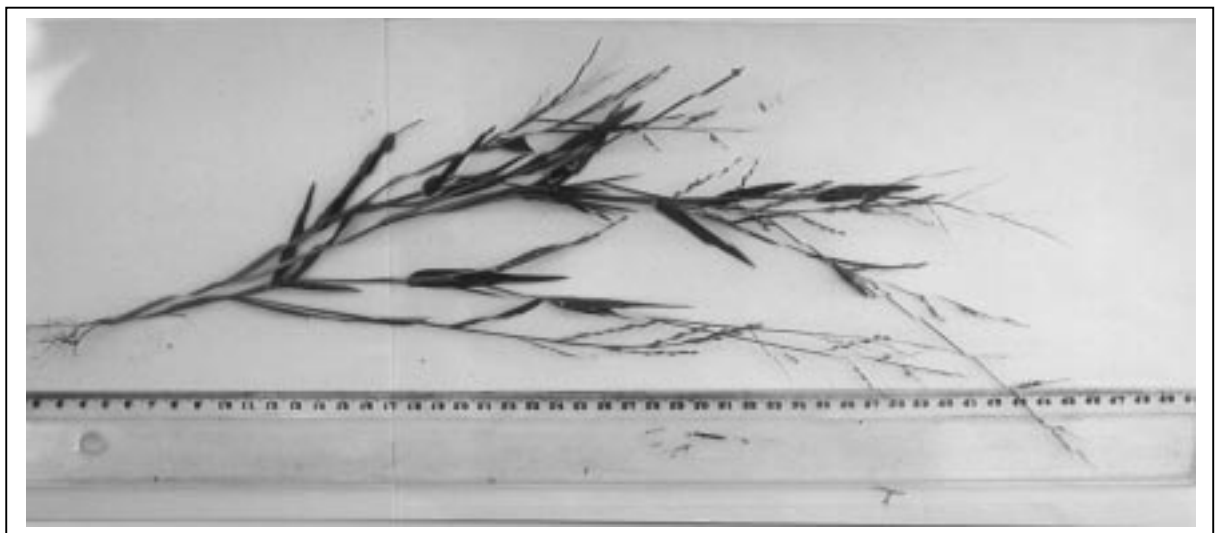


Abb. 25: *Brachiaria xantholeuca*. Habitus vor der Samenreife mit einer Wuchshöhe von ca. 45 cm

Die RAPD-Analyse der 188 Individuen wurde mit 10 verschiedenen Primern durchgeführt, wobei insgesamt 111 Marker identifiziert und ausgewertet wurden. Davon waren 90 polymorph (81 %) und 21 monomorph (19 %). Die Primer amplifizierten zwischen 3 und 14 polymorphe RAPD-Marker (Tab. 8). Besonders informativ waren die Primer A-04, A-07, A-18, B-18, Y-02, Y-16 und Y-20, die insgesamt 14 standortspezifische Marker identifizierten, mit denen vier der 14 Standorte charakterisiert werden konnten (Tab. 9). Abb. 26-29 zeigen RAPD-Bandenmuster mit standortspezifischen Markern der vier Standorte *Diffa-II*, *Ouahigouya*, *Sevarè* und *Maradi*.

Tab. 8: Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei *B. xantholeuca*.

Die Markerausbeute bei 188 Individuen lag zwischen 3 und 14 polymorphen RAPD-Markern.
 polymorph = RAPD-Marker werden nicht in allen untersuchten Individuen amplifiziert
 monomorph = RAPD-Marker werden in allen untersuchten Individuen amplifiziert)

Primer	A-01	A-04	A-07	A-18	B-08	B-18	T-06	Y-02	Y-16	Y-20	Σ
polymorph	3	10	6	14	12	12	6	12	7	8	90
monomorph	3	2	3	3	2	2	0	1	2	3	21
gesamt	6	12	9	17	14	14	6	13	9	11	111

Tab. 9: Standortspezifische RAPD-Marker an vier Standorten von *B. xantholeuca*. Die Primer A-04, A-07, A-18, B-18, Y-02, Y-16 und Y-20 produzierten insgesamt 14 RAPD-Marker, die für den jeweiligen Standort spezifisch waren. Angegeben sind der Name des Primers (z.B. Y-16) und die Molekulargewichtsgröße des Markers in bp.

(1) bedeutet, dieser Marker wird nur am angegebenen Standort amplifiziert

(0) bedeutet, dieser Marker fehlt nur am angegebenen Standort

Standort	RAPD-Marker	RAPD-Marker ist am Standort	
		anwesend (1)	abwesend (0)
<i>Diffa-II</i>	Y-16-1300		0
<i>Diffa-II</i>	Y-16-1331	1	
<i>Ouahigouya</i>	Y-20-800	1	
<i>Sevarè</i>	A-04-610		0
<i>Sevarè</i>	A-04-620	1	
<i>Sevarè</i>	A-18-521	1	
<i>Sevarè</i>	A-18-740	1	
<i>Sevarè</i>	B-18-575	1	
<i>Sevarè</i>	B-18-700	1	
<i>Sevarè</i>	B-18-728	1	
<i>Sevarè</i>	B-18-1683	1	
<i>Sevarè</i>	Y-02-974		0
<i>Maradi</i>	A-07-1226	1	
<i>Maradi</i>	A-18-1800	1	

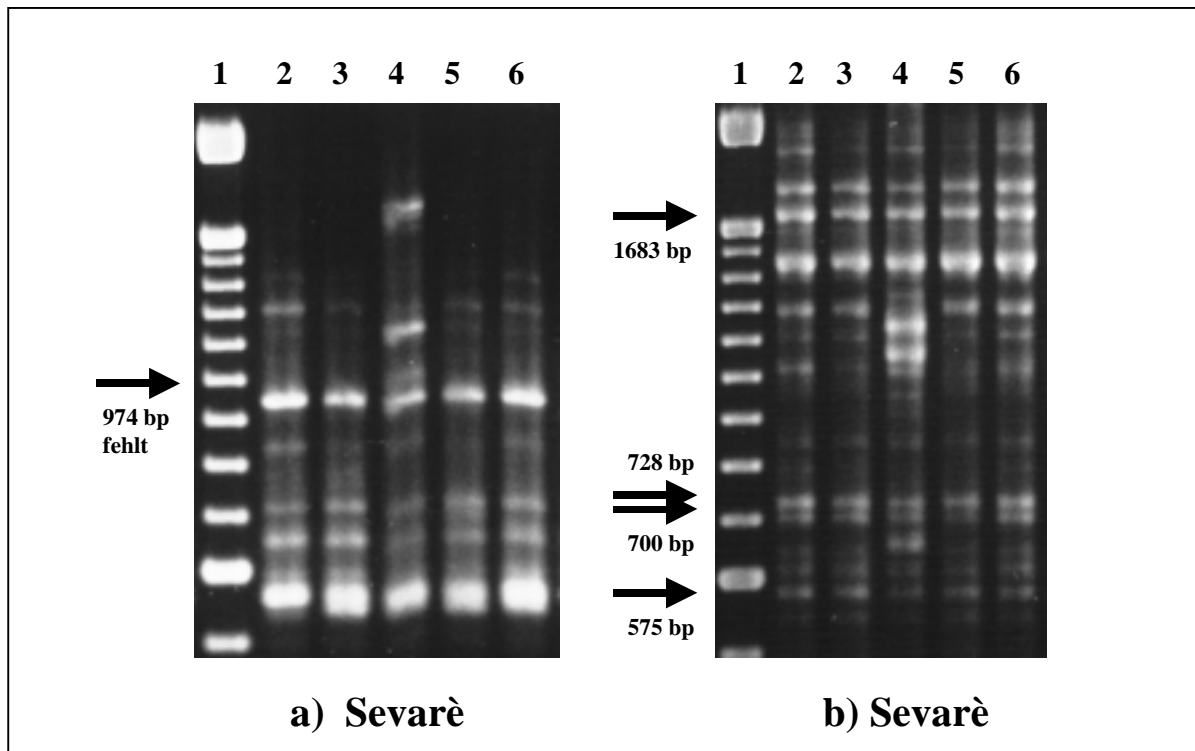


Abb. 26: Standortspezifische RAPD-Marker in *Sevarè*. Die Individuen B273-B277 wurden mit den Primern Y-02 (a) und B-18 (b) amplifiziert.

- a) Lane 1 = Längenstandard (BRL ladder)
 Lane 2-6 = (B273-B277). Der Marker Y02-974 fehlt bei diesen fünf Individuen
- b) Lane 1 = Längenstandard (BRL ladder)
 Lane 1-6 = (B273-B277). Die vier Marker B18-1683, B-18-728, B-18-700, B-18-575 werden nur in *Sevarè* amplifiziert.

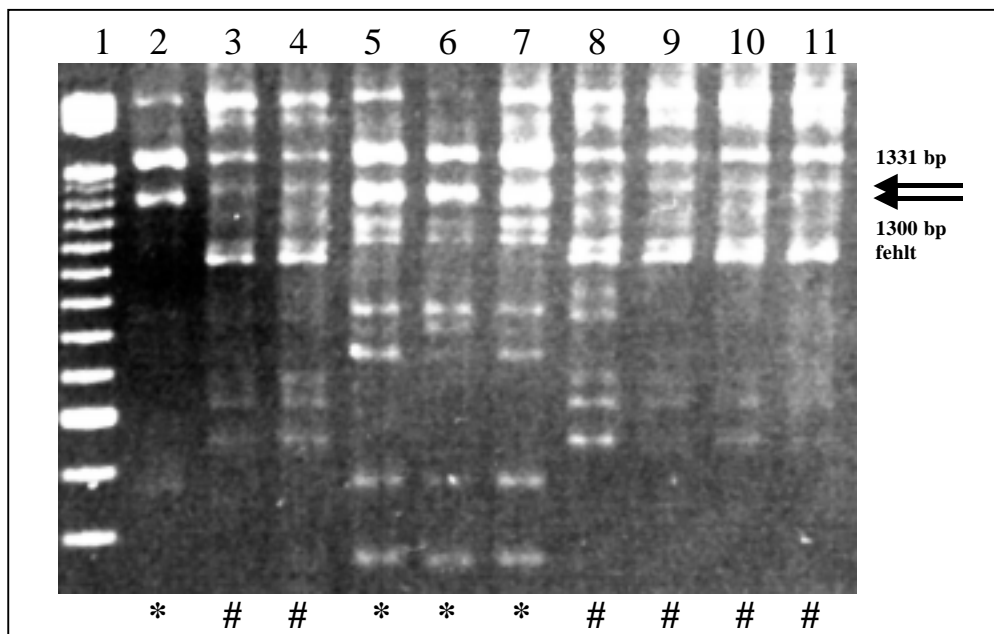


Abb. 27: Standortspezifische RAPD-Marker in *Diffa-II*. Die Individuen B408-B417 wurden mit dem Primer Y-16 amplifiziert (B408, B411-B413 = *B. nidulans*). Der Marker Y-16-1331 wird nur am Standort *Diffa-II* amplifiziert, wohingegen der Marker Y-16-1300 hier fehlt.

- Lane 1 = Längenstandard (BRL ladder)
 Lane 2, 5-7 = B408; B411-B413 (*B. nidulans* *)
 Lane 3, 4, 8-11 = B409, B410, B414-B417 (*B. xantholeuca* #)

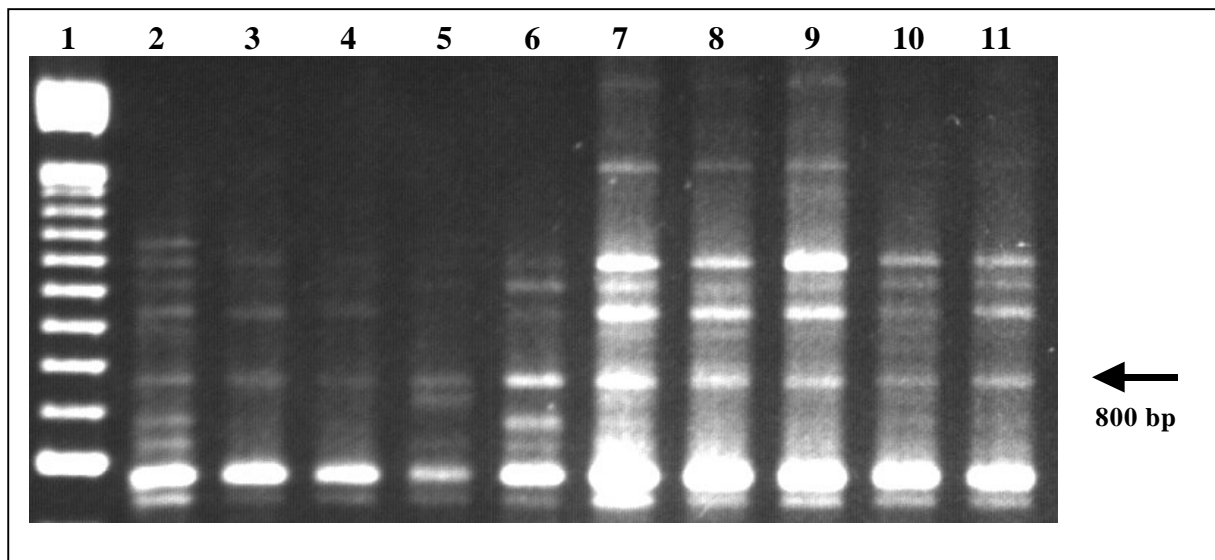


Abb. 28: Standortspezifische RAPD-Marker in *Ouahigouya*. 10 Individuen (B83-B92) wurden mit dem Primer Y-20 amplifiziert. Der Marker Y20-800 ist für diesen Standort charakteristisch.

Lane 1 = Längenstandard (BRL ladder)

Lane 2 = B83 Lane 3 = B84 Lane 4 = B85 Lane 5 = B86 Lane 6 = B87

Lane 7 = B88 Lane 8 = B89 Lane 9 = B90 Lane 10 = B91 Lane 11 = B91

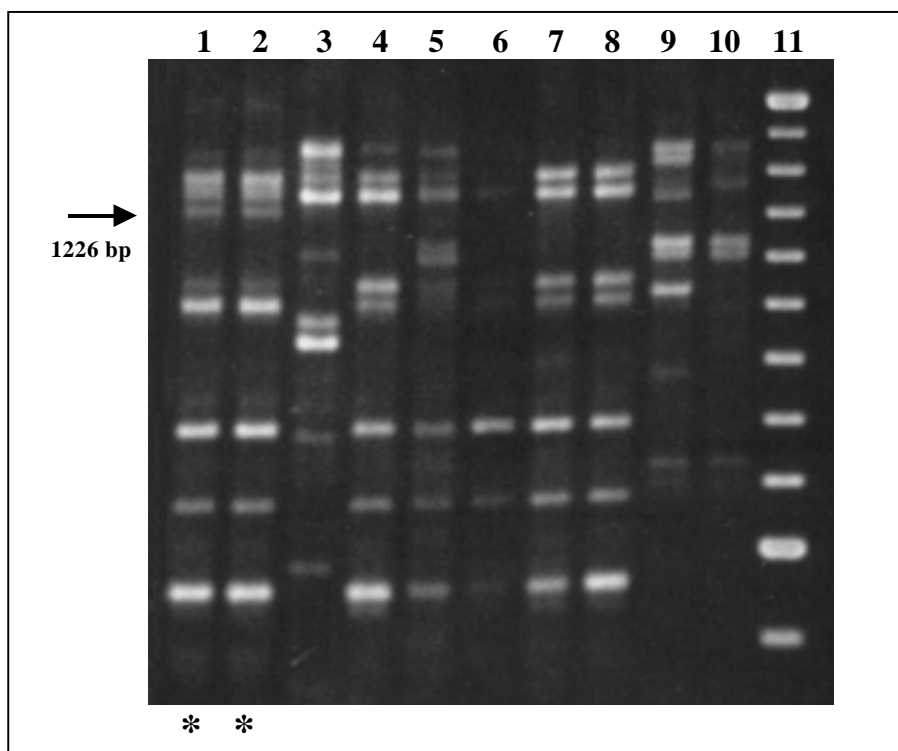


Abb. 29: Standortspezifische RAPD-Marker in *Maradi* 1994. Die Individuen B61-B70 (verschiedene *Brachiaria*-Arten) wurden mit dem Primer A-07 amplifiziert. Der Marker A-07-1226 wird nur am Standort *Maradi* (B61 und B62) amplifiziert.

Lane 1-2 = B61, B62 (*Maradi* 1994, *B. xantholeuca**)

Lane 3-10 = B63 (*B. nidulans*), B64-B68 (*B. xantholeuca*), B69 (*B. ramosa*), B70 (*B. lata*)

Lane 11 = Längenstandard (BRL ladder)

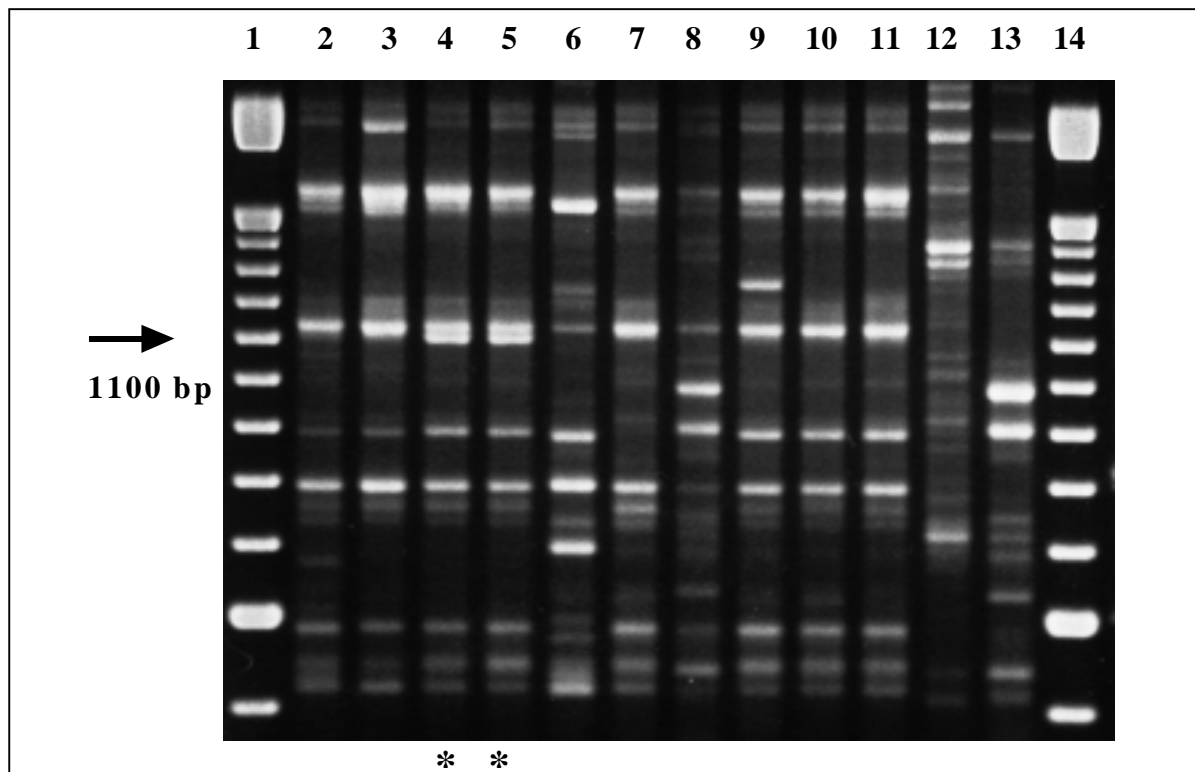


Abb. 30: Standortspezifische RAPD-Marker in *Maradi* 1994. Die Individuen B59-B70 (verschiedene *Brachiaria*-Arten) wurden mit dem Primer A-18 amplifiziert. Der Marker A-18-1100 wird nur am Standort *Maradi* (B61 und B62) amplifiziert.

Lane 1+11 = Längenstandard (BRL ladder)

Lane 2,3,6-10 = B59, B60 (*B. xantholeuca*), B63 (*B. nidulans*), B64-B68 (*B. xantholeuca*), B69 (*B. ramosa*), B70 (*B. lata*)

Lane 4+5* = B61, B62 (*Maradi* 1994, *B. xantholeuca*)

4.3.1.1 Clusteranalyse bei *B. xantholeuca*

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach Dice (1945) durchgeführt. Dieser Dice-Index variierte bei *B. xantholeuca* von 0.769 bis 1.00 und betrug im Mittel 0.946. Mittels der Clusteranalyse unter Verwendung der UPGMA-Methode wurden die paarweise berechneten Ähnlichkeiten (Dice-Indices) graphisch dargestellt. Hierbei wurden mehrere Cluster berechnet, wobei einige davon bestimmten Standorten zugeordnet werden konnten. Tab. 10 faßt die Ergebnisse dieser Clusteranalyse zusammen. Danach wurden 10 Cluster mit insgesamt 70 *B. xantholeuca* Individuen näher beschrieben. Da die restlichen 118 der insgesamt 188 untersuchten Individuen nicht oder nur unvollständig nach Standorten gruppiert wurden und verstreut im Dendrogramm liegen, wurden sie in der folgenden Auswertung zunächst nicht berücksichtigt:

Ouahigouya in Burkina Faso (Cluster I) und *Sevarè* in Mali (Cluster II) werden zuerst abgetrennt. Beide Standorte sind geographisch voneinander und den restlichen Standorten

isoliert. Die Entfernung zwischen *Sevarè* und *Ouahigouya* beträgt 170 km Luftlinie, zum nächsten Standort *H4* sind es etwa 350 km Luftlinie. Die frühe Abtrennung der *Sevarè*-Proben (B273-B277) vom Gesamtcluster ergibt sich daraus, daß 28 % der ermittelten RAPD-Marker (25 der 111 RAPD-Marker) nur am Standort *Sevarè* nachgewiesen werden konnten.

9 dieser 25 RAPD-Marker waren für *Sevarè* standortspezifisch und werden in allen fünf hier untersuchten Individuen amplifiziert (Tab. 9). Für *Ouahigouya* konnte im Unterschied zu *Sevarè* nur ein standortspezifischer RAPD-Marker identifiziert werden, der in Abb. 28 dargestellt ist.

Die Individuen der Sammeljahre 1994 und 1995 aus *Maradi* wurden in die Cluster III und IV eingeordnet, 1996 bildete kein eigenes Cluster. Für *Maradi*-1994 wurden zwei spezifische RAPD-Marker gefunden, die in Abb. 29 und Abb. 30 beschrieben werden.

Cluster V zeigt den Standort *Diffa-II* 1996, für den ein standortspezifischer RAPD-Marker gefunden wurde (Abb. 27). Cluster VI enthält neun von insgesamt zehn Individuen aus *Takieta* 1996, die zehnte Probe unterscheidet sich deutlich vom Standort *Takieta* und wird im Dendrogramm nach den beiden ersten Clustern aus *Sevarè* und *Ouahigouya* abgetrennt. In Cluster VII wurden neun von zehn Individuen aus *Maradi-Zinder* eingeordnet, eine Probe liegt außerhalb dieses Clusters. Cluster VIII beschreibt mit drei Proben den Standort *H11*. Cluster IX enthält die beiden Sammeljahre 1994 und 1996 von *H5*, eine Trennung beider Jahre findet nicht statt. Die Proben aus *H5*-1995 bildet kein eigenes Cluster. Schließlich zeigt Cluster X den Standort *ICRISAT*-1994, das Sammeljahr 1996 hingegen wird mit *H10*-1996 zu einem gemeinsamen Cluster zusammengefaßt. Die restlichen 118 Individuen werden nicht gemäß ihren Standorten in separate Cluster gruppiert, sondern befinden sich verstreut im Dendrogramm. Zu diesen Standorten zählen *H1*, *H2*, *H4*, *H13* und *H5*-1995, *H10*-1994, *Maradi*-1996, ein Probe (B360) aus *Maradi-Zinder* 1996 und eine aus *Takieta*-1996 (B377).

Es wurden für die 14 Standorte von *B. xantholeuca* die mittleren Dice-Ähnlichkeitsindices berechnet und miteinander verglichen. Tab. 11 zeigt, daß die Abweichungen vom Gesamtmittelwert (0.980) aller 188 Individuen nur gering sind. Für *H13* konnte keine genetische Variabilität festgestellt werden, d.h., es gab keine polymorphen Marker und somit war der Dice-Index gleich 1.0. Die niedrigsten Indices wurden in den Standorten *Maradi* (0.954) und *Sevarè* (0.940), die höchsten in *H13* (1.0), *H1* (0.996) und *H2* (0.995) berechnet.

Die drei Standorte *H1*, *H2*, *H4* (insgesamt 63 Individuen) sowie *H10*, *H11*, *H13* (insgesamt 31 Individuen) sind im Unterschied zu den restlichen Standorten weniger als 50 km voneinander entfernt. Deshalb wurden sie jeweils zu einer Gruppe zusammengefaßt und ein gemeinsamer Dice-Index berechnet (Tab. 11). Da die Stichprobenzahl in den jeweiligen drei Standorten

sehr unterschiedlich ist, sind Vergleiche des berechneten Dice-Index mit dem Gesamtindex nur eingeschränkt möglich. In Kap. 4.3.1.8 wurde deshalb für beide Gruppen eine Diskriminanzanalyse durchgeführt.

Tab. 10: Ergebnisse der Clusteranalyse bei *B. xantholeuca*.

Oberer Teil: 70 der 188 Proben wurden in 10 Cluster eingeordnet, die Einzelstandorte beschreiben. Für *Maradi* wurden zwei der drei Sammeljahre ausgewertet (Cluster III und IV), bei *H5* sind die beiden Sammeljahre in ein Cluster zusammengefaßt (Cluster IX). In den beiden Clustern IV und VII fehlen jeweils eine Probe (B377 und B360). Der Code bezieht sich auf die Beschreibung der einzelnen Standorte in Tab. 2. Unterer Teil: *H1*, *H2*, *H4*, *H13*, *H5*-1995 und *H10*-1994 wurden nicht in separaten Clustern aufgetrennt.

Cluster	Proben-Nr.	Anzahl	Standort	Code	Jahr
I	B83- B92	10	<i>Ouahigouya</i>	[34]	1995
II	B273- B277	5	<i>Sevarè</i>	[33]	1995
III	B61, B62	2	<i>Maradi</i>	[17]	1994
IV	B181, B183- B190	9	<i>Maradi</i>	[17]	1995
V	B409, B410, B414- B417	6	<i>Diffa-II</i>	[27]	1996
VI	B368, B369, B371- B376	8	<i>Takieta</i>	[22]	1996
VII	B358, B359, B361- B367	9	<i>Maradi- Zinder</i>	[18]	1996
VIII	B50- B52	3	<i>H11</i>	[13]	1994
IX	B42- B44, B289- B297	3/10	<i>H5</i>	[9]	1994/96
X	B56- B60	5	<i>ICRISAT</i>	[11]	1994
		70			
Cluster	Proben-Nr.	Anzahl	Standort	Code	Jahr
	B09- B13	5	<i>H1</i>	[1]	1994
	B14- B21	8	<i>H2</i>	[6]	1994
	B22- B41, B121- B130, B298- B327	50	<i>H4</i>	[8]	1994-96
	B210- B219	10	<i>H5</i>	[9]	1995
	B45- B49	5	<i>H10</i>	[12]	1994
	B233- B242	10	<i>H10</i>	[12]	1995
	B520- B529	10	<i>H10</i>	[12]	1996
	B53- B55	3	<i>H13</i>	[14]	1994
	B510- B519	10	<i>ICRISAT</i>	[11]	1996
	B353- B357	5	<i>Maradi</i>	[17]	1996
	B360	1	<i>Maradi- Zinder</i>	[18]	1996
	B377	1	<i>Takieta</i>	[22]	1996
		118			

Tab. 11: Mittlere Dice-Indices für 14 Standorte bei *Brachiaria xantholeuca*. *H13* zeigte keine genetische Variabilität, die RAPD-Bandenmuster der drei Proben waren mit allen 10 getesteten Primern identisch. Für *H1*, *H2* und *H4* sowie *H10*, *H11* und *H13* wurde jeweils ein gemeinsamer Dice-Index berechnet. Der Code bezieht sich auf die Standortbeschreibungen in Tab. 2.

Standort	Code	Individuen	Sammeljahr	Dice-Index
<i>H1</i>	[5]	5	1994	0.996
<i>H2</i>	[6]	8	1994	0.995
<i>H4</i>	[8]	50	1994, 1995, 1996	0.985
<i>H1, H2, H4</i>	[5,6,8]	63	1994, 1995, 1996	0.986
<i>H5</i>	[9]	23	1994, 1995, 1996	0.979
<i>H10</i>	[12]	25	1994, 1995, 1996	0.979
<i>H11</i>	[13]	3	1994	0.990
<i>H13</i>	[14]	3	1994	1.000
<i>H10, H11, H13</i>	[12,13,14]	31	1994, 1995, 1996	0.977
<i>Ouahigouya</i>	[34]	10	1995	0.975
<i>Maradi</i>	[17]	16	1994,1995, 1996	0.954
<i>Maradi-Zinder</i>	[18]	10	1996	0.985
<i>Diffa-II</i>	[27]	6	1996	0.989
<i>Takieta</i>	[22]	8	1996	0.987
<i>Sevarè</i>	[33]	5	1995	0.940
<i>ICRISAT</i>	[11]	15	1994, 1996	0.978
Mittelwert aller Dice-Indices				0.980

4.3.1.2 Diskriminanzanalyse bei *B. xantholeuca*

Nachdem die Clusteranalyse klare Hinweise auf eine geographische Substrukturierung der *B. xantholeuca* Stichproben zeigte, wurden die verschiedenen Gruppierungen in einer Diskriminanzanalyse überprüft. Dazu wurden in den entsprechenden Standorten die Sammeljahre zusammengefaßt und insgesamt 14 Gruppen definiert. In Abb. 31 wurden die beiden ersten Diskriminanzfunktionen in einem Koordinatensystem abgetragen. Danach konnten die *H*-Standorte (*H1*, *H2*, *H4*, *H5*, *H10*, *H11*, *H13*) sowie *ICRISAT* nicht voneinander abgetrennt werden, sondern bildeten eine dicht zusammengelagerte Wolke („*H*-Cluster“). Eine Diskriminierung einzelner Standorte war somit nicht möglich. Anders hingegen verhielten sich die Standorte, die westlich von Niamey (*Sevarè* und *Ouahigouya*) und östlich von Tahoua (*Maradi*, *Maradi-Zinder*, *Takieta* und *Diffa-II*) gelegen sind. *Maradi* und *Maradi-Zinder* werden sichtbar vom „*H*-Cluster“ abgetrennt und befinden sich an dessen oberem und unterem Ende. Der 50 km weiter östlich gelegene Standort *Takieta* (von *Maradi-Zinder* aus gesehen) wird wesentlich deutlicher vom "*H*-Cluster" abgetrennt. Letzteres gilt auch für *Diffa-II*, der ca. 500 km von *Maradi* entfernt ist. Die beiden Standorte *Sevarè* in Mali und

Ouahigouya in Burkina Faso konnten ebenfalls sehr gut diskriminiert werden. *Ouahigouya* liegt etwa 500 km, *Sevarè* etwa 700 km (Luftlinie) von Niamey entfernt (vgl. dazu Abb. 10). Damit konnten 6 der 14 Standorte genetisch charakterisiert und differenziert werden. Die Standorte innerhalb des "H-Clusters" (zwei Gruppen *H1*, *H2*, *H4*, *H5*, *ICRISAT* und *H10*, *H11*, *H13*) konnten mit Hilfe der Diskriminanzanalyse nicht differenziert werden.

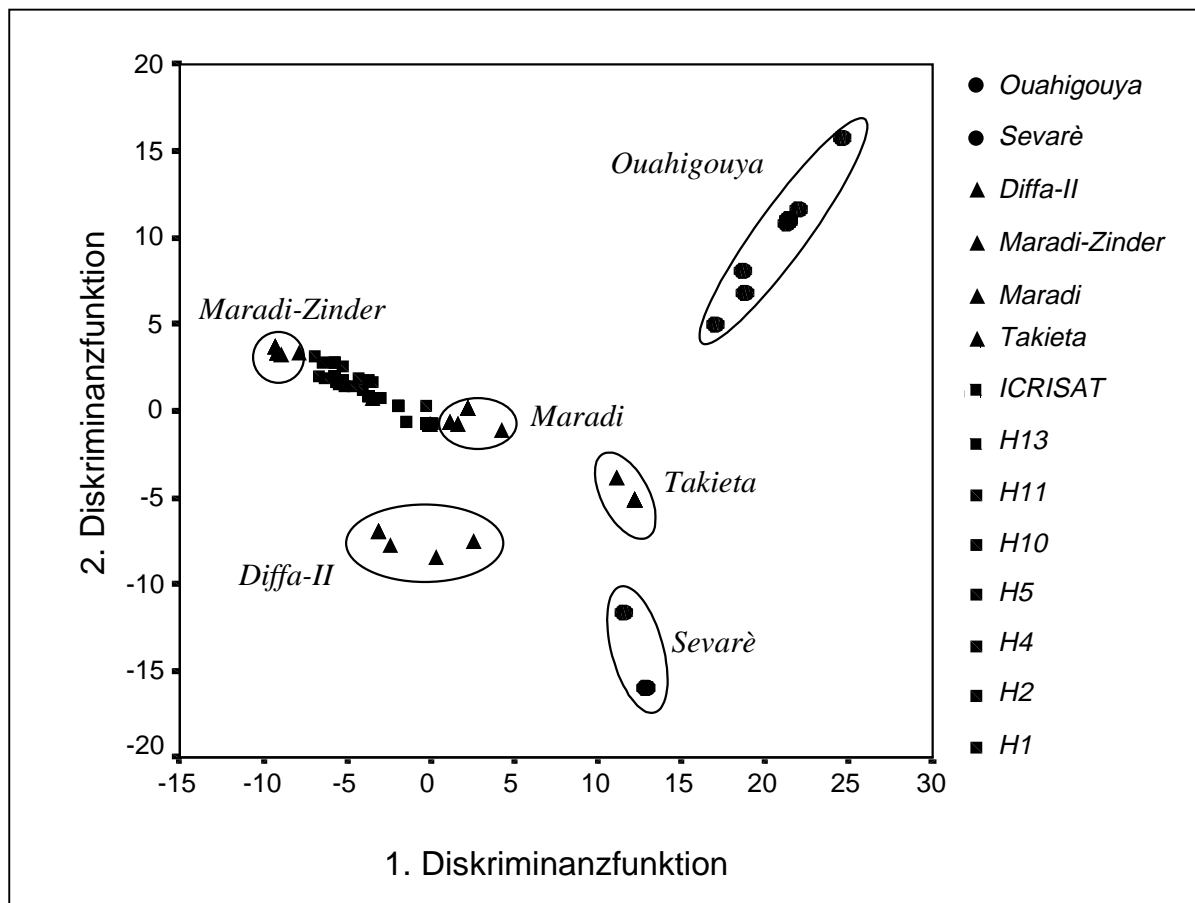


Abb. 31: Ergebnis einer Diskriminanzanalyse der 14 Standorte aus *B. xantholeuca*. *H*-Standorte sowie *ICRISAT* wurden mit Quadraten, Standorte im westlichen Teil (*Ouahigouya* und *Sevarè*) mit Punkten und Standorte im östlichen Teil (*Maradi*, *Maradi-Zinder*, *Takieta* und *Diffa-II*) des Untersuchungsgebietes mit Dreiecken markiert; siehe dazu Abb. 10; In der Grafik werden mehrere Proben übereinander geblottet)

4.3.1.3 Varianzanalyse bei *B. xantholeuca*

Nähere Informationen über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen einzelnen Standortstichproben konnten über eine Varianzanalyse ermittelt werden. Dazu wurde das Softwareprogramm WINAMOVA (EXCOFFIER, 1992) verwendet und auf der Basis der quadrierten euklidischen Distanzen für jeden der 14 Standorte (Gruppen) die Varianzkomponenten berechnet. Tab. 12 faßt die Ergebnisse dieser Varianzanalyse

zusammen. Danach wurden innerhalb der einzelnen Gruppen Varianzen zwischen 0.0 % (*H13*) und 18.8 % (*Maradi*) berechnet, der Mittelwert lag bei 37.54 %. Dies bedeutet, daß 37.54 % der Gesamtvarianz auf genetische Unterschiede auf Individuenlevel und 62.46 % auf dem Standort- oder Populationslevel erklärt werden konnten. *H13* zeigte keine Varianz, da sämtliche RAPD-Marker monomorph waren. Die höchsten Varianzen wurden bei Standorten berechnet, in denen mehrere Sammeljahre zur Auswertung vorlagen. Diese sind die Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* mit jeweils drei Sammeljahren 1994-1996. Die Varianzwerte schwankten hier zwischen 11.65 % (*H5*) und 18.80 % (*Maradi*). *H4* stellte mit insgesamt 50 Individuen die größte Standortstichprobe dar und zeigte mit 18.63 % nach *Maradi* (16 Individuen) den zweithöchsten Varianzwert. Standorte mit nur einem oder zwei Sammeljahren zeigten deutlich niedrigere Varianzen zwischen 0.43 % und 8.18 % schwanken.

Tab. 12: Ergebnisse der Varianzanalyse bei *B. xantholeuca*. Es wurden insgesamt 14 Gruppen (= Standorte) mit 188 Individuen untersucht. Mehrere Sammeljahre eines Standortes wurden zusammengefaßt.

n-1	= Freiheitsgrad (Individuenanzahl – 1)
Sum of Squares (SQ)	= Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
Varianz (SQ/ n-1)	= Varianzkomponente aus Sum of Squares / Freiheitsgrad
Varianz (%)	= Anteil in % an der Gesamtvarianz innerhalb von Populationen

Gruppe (Standort)	n-1	Sum of Squares	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)
<i>H1</i> 1994	4	0.80	0.200	0.43
<i>H2</i> 1994	7	1.75	0.250	0.94
<i>H4</i> 1994-1996	49	34.62	0.706	18.63
<i>H5</i> 1994-1996	22	21.65	0.984	11.65
<i>H10</i> 1994-1996	24	23.68	0.986	12.74
<i>H11</i> 1994	2	3.33	1.665	1.79
<i>H13</i> 1994	2	0.00	0.000	0.00
<i>Maradi</i> 1994-1996	15	34.93	2.328	18.80
<i>Maradi-Zinder</i> 1996	9	6.80	0.755	3.66
<i>ICRISAT</i> 1994/1996	14	15.20	1.085	8.18
<i>Takieta</i> 1996	8	11.33	1.416	6.09
<i>Diffa-II</i> 1994/1996	5	3.00	0.600	1.61
<i>Ouahigouya</i> 1995	9	12.30	1.366	6.62
<i>Sevarè</i> 1995	4	16.40	4.100	8.82
Zwischen Gruppen	13	304.52	23.425	62.46
Innerhalb Gruppen	174	185.80	1.068	37.54

Da die Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* jeweils mit drei Sammeljahren analysiert wurden und im Unterschied zu den restlichen Standorten hohe Varianzen aufzeigten, wurde im folgenden eine mögliche Substrukturierung dieser Standorte untersucht.

4.3.1.4 RAPD-Untersuchungen am Standort *H4*

H4 befindet sich 1.5 km östlich von Kobadi, etwa 44 km von Niamey entfernt (Abb. 10). Der Standort liegt am Straßenrand, in der Nähe befindet sich ein zeitlich wassergefüllter Marigot, umgeben von Hirsefeldern. Die nächste Meßstation liegt in Torodi (13 km südlich) und weist einem mittleren jährlichen Niederschlag von 584.6 mm auf. Es wurden 50 Individuen aus drei Sammeljahren 1994-1996 untersucht. Die Sammlung 1996 wurde zweimal, im Abstand von vier Wochen (I = 4.09.96 und II = 5.10.96), durchgeführt. Der mittlere Dice-Ähnlichkeitsindex betrug für die Gesamtstichprobe 0.985. Insgesamt wurden hierbei 54 RAPD-Marker ausgewertet, wovon 11 (20.3 %) polymorph waren. Es wurde auf der Basis der Dice-Indices eine Clusteranalyse durchgeführt. Abb. 32 zeigt ein Dendrogramm des Standortes *H4*, wobei keine Auftrennung nach Sammeljahren stattfindet. Die beiden Sammlungen 1996 werden nicht voneinander getrennt. Eine Varianzanalyse bestätigt das Ergebnis der Clusteranalyse. 86.67 % der Varianz erklärten sich aus der genetischen Variabilität innerhalb und 13.33 % zwischen den vier Stichproben (1994, 1995, 2 x 1996). Eine Differenzierung unterschiedlicher Sammeljahre anhand von RAPD-Markern konnte am Standort *H4* somit nicht festgestellt werden.

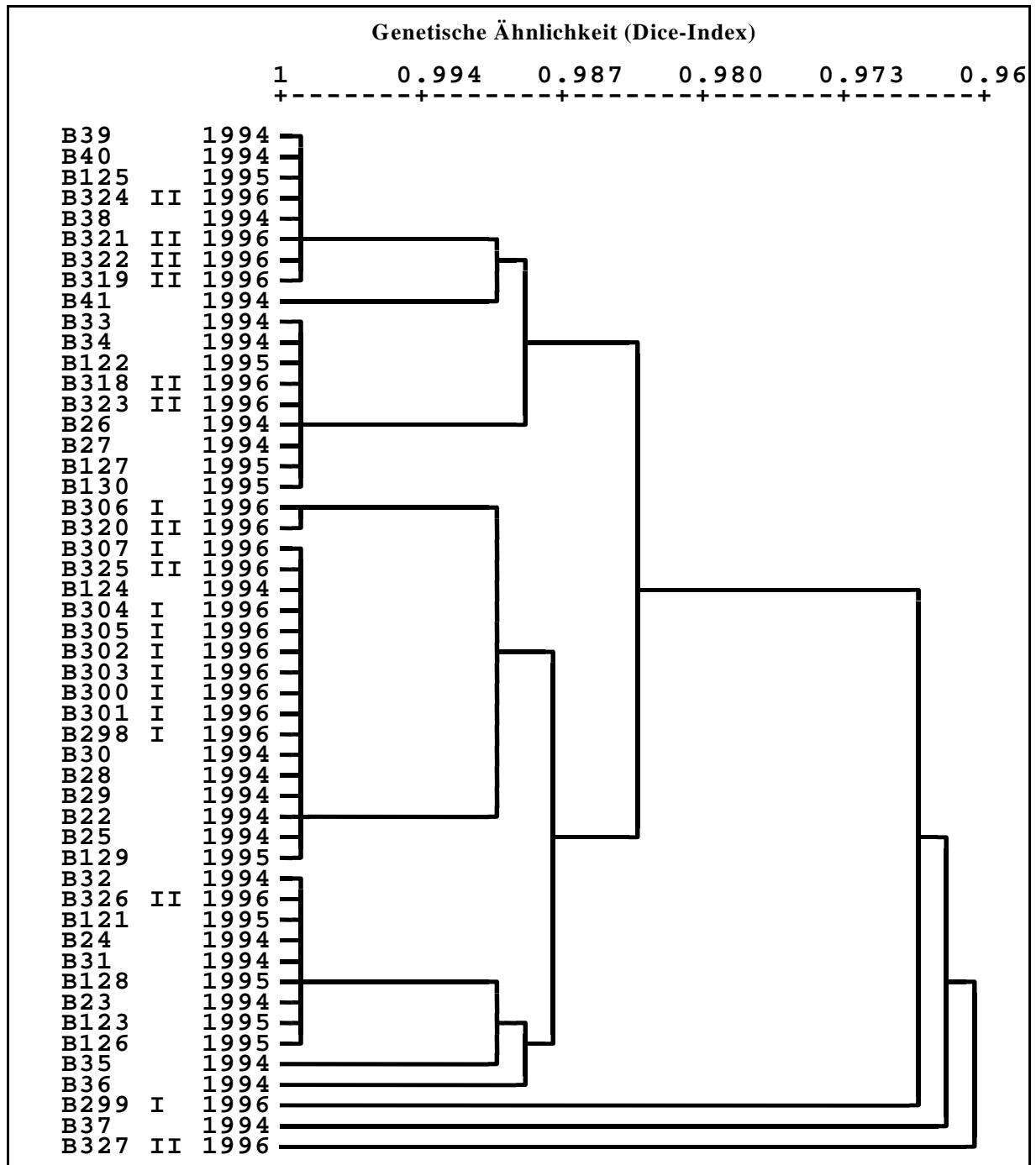


Abb. 32: UPGMA-Dendrogramm von Standort *H4*. Es wurden 50 Individuen aus drei Sammeljahren 1994-1996 untersucht. 1996 wurden im Abstand von 4 Wochen zweimal Proben gesammelt (I = B298-B307, 4.09.96; II = B318-B327, 5.10.96).

4.3.1.5 RAPD-Untersuchungen am Standort *H5*

H5 befindet sich 5.5 km westlich von Say, etwa 60 km südlich von Niamey. Der Standort liegt am Straßenrand und ist umgeben von Hirsefeldern. Die nächste Meßstation befindet sich in Say (8 km östlich) und weist einen mittleren jährlichen Niederschlag von 545.6 mm auf. 23 Individuen aus drei Sammeljahren 1994-1996 wurden mit 52 RAPD-Markern untersucht, davon waren 8 (15.3 %) polymorph. Der mittlere Dice-Ähnlichkeitsindex betrug 0,979.

Abb. 33 zeigt ein UPGMA-Dendrogramm aus der Clusteranalyse. Die Sammeljahre 1995 und 1996 werden mit einer Ausnahme (B211) in zwei getrennten Clustern eingeordnet, die Individuen aus 1994 hingegen auf diese beiden Cluster verteilt. Eine Varianzanalyse des Standortes *H5* zeigte, daß 65 % der Gesamtvarianz durch die genetische Variabilität zwischen den drei Sammeljahren erklärt wird, 35 % werden auf genetische Unterschiede auf dem Individuen-level zurückgeführt. Damit ist am Standort *H5* im Unterschied zu *H4* eine Differenzierung verschiedener Sammeljahre zu beobachten.

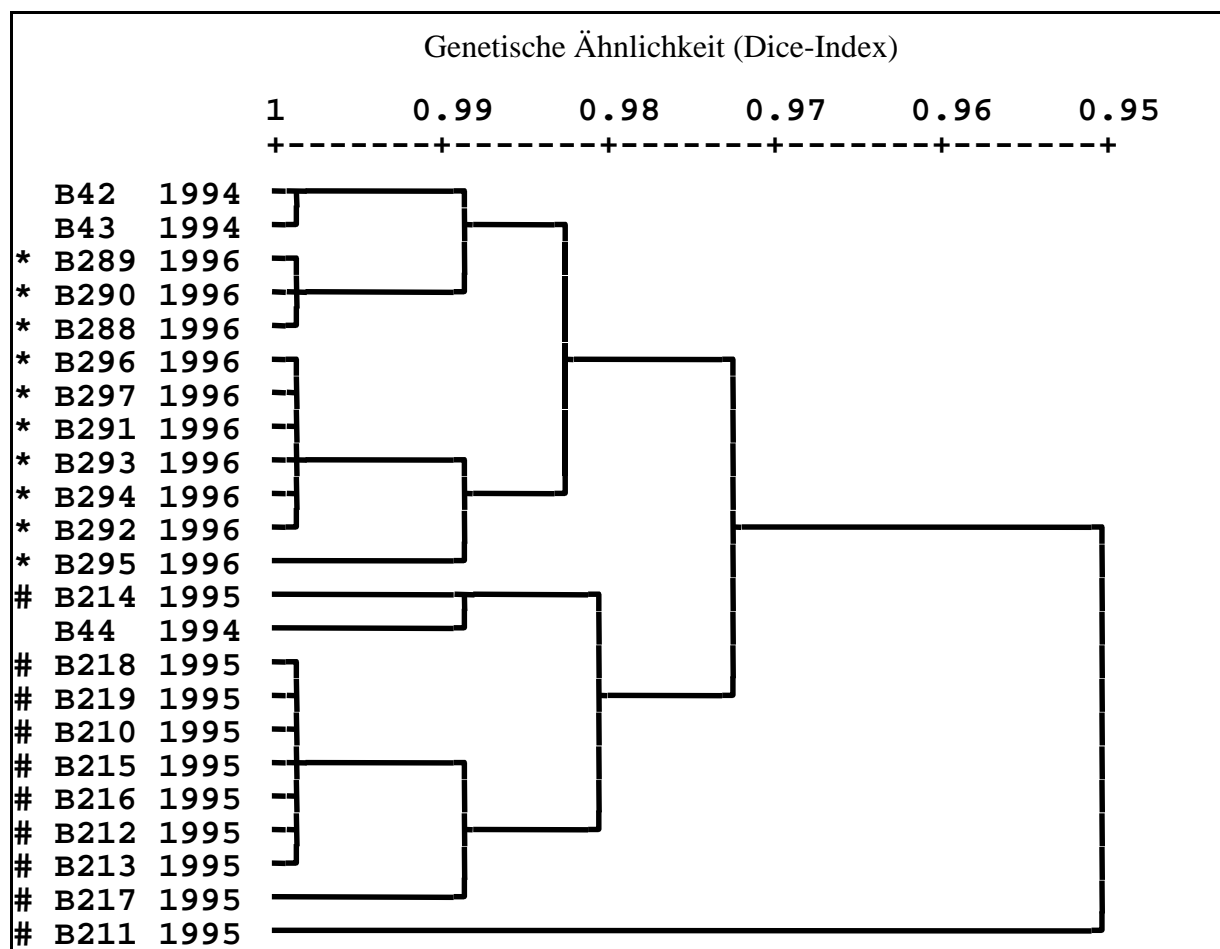


Abb. 33: UPGMA-Dendrogramm von Standort *H5*. Es wurden 23 Individuen aus drei Sammeljahren 1994-1996 untersucht. # = Sammeljahr 1995, * = Sammeljahr 1996.

4.3.1.6 RAPD-Untersuchungen am Standort *H10*

H10 befindet sich auf einem lateritischen Plateau, etwa 25 km nordöstlich von Tahoua, 545 km (Luftlinie) von Niamey entfernt. Die nächste Meßstation liegt in Tahoua und weist einen mittleren jährlichen Niederschlag von 332.5 mm auf. 25 Individuen aus drei Sammeljahren 1994-1996 wurden mit 51 RAPD-Marker ausgewertet, wovon 7 (13.7 %) polymorph waren. Der mittlere Dice-Ähnlichkeitsindex lag mit 0,829 vergleichsweise niedrig ($H4 = 0.985$; $H5 = 0.979$). Abb. 34 zeigt ein Dendrogramm aus der Clusteranalyse. Es werden drei Cluster gebildet. Die beiden Sammeljahre 1995 und 1996 werden in getrennte Cluster eingeordnet, fünf Individuen aus 1994 bilden kein eigenes Cluster, ähnlich wie bei Standort *H5*. Die Varianzanalyse unterstützt das Ergebnis der Clusteranalyse, denn 73 % der Gesamtvarianz werden durch genetische Unterschiede zwischen den Sammeljahren und 27 % durch die genetische Variabilität auf Individuenlevel erklärt. Damit kann, wie schon bei *H5* auch für den Standort *H10* eine Differenzierung verschiedener Sammeljahre beobachtet werden.

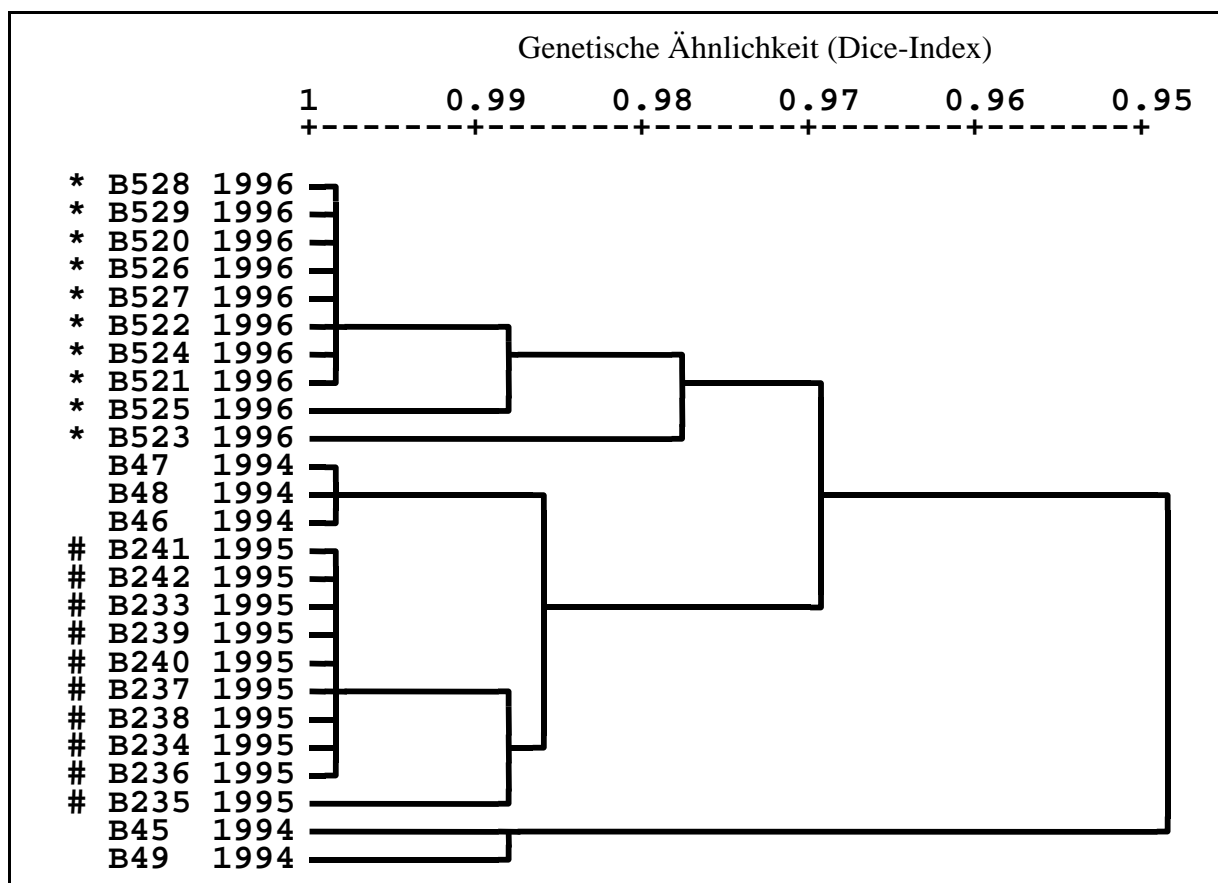


Abb. 34: UPGMA-Dendrogramm von Standort *H10*. Es wurden 25 Individuen aus den Sammeljahren 1994-1996 untersucht. # = Sammeljahr 1995; * = Sammeljahr 1996

4.3.1.7 RAPD-Untersuchungen am Standort *Maradi*

Der Standort *Maradi* befindet sich 55.6 km östlich von Maradi am Straßenrand auf Lateritboden. Die Testfläche ist von Hirsefeldern umgeben. Die nächste Meßstation liegt in *Maradi* und weist einen mittleren jährlichen Niederschlag von 434.5 mm auf. Es wurden 16 Individuen aus drei Sammeljahren untersucht und 54 RAPD-Marker ausgewertet. Davon waren 13 (24 %) Marker polymorph. Der mittlere Dice-Ähnlichkeitsindex lag bei 0.954 und damit innerhalb der 14 Standorte von *B. xantholeuca* am niedrigsten. Abb. 35 zeigt die Ergebnisse einer Clusteranalyse, die auf der Basis der Dice-Indices durchgeführt wurde. Danach werden drei Cluster gebildet und somit drei Sammeljahre voneinander getrennt. *Maradi* zeigt im Vergleich zu den drei *H*-Standorten *H4*, *H5* und *H10* die höchste Anzahl polymorpher Marker. Die deutliche Auftrennung im Dendrogramm kommt durch RAPD-Marker zustande, die für die einzelnen Sammeljahre spezifisch sind. Für die beiden Proben B61 und B62 aus 1994 konnten zwei spezifische RAPD-Marker identifiziert werden (Abb. 29).

Eine Varianzanalyse unterstützt die Ergebnisse der Clusteranalyse. 90 % der Gesamtvarianz geht auf genetische Unterschiede zwischen den drei Sammeljahren zurück, nur 10 % beschreiben die genetische Variabilität innerhalb der Sammeljahre. Damit zeigt der Standort *Maradi*, wie schon *H5* und *H10*, eine deutliche Differenzierung der Sammeljahre.

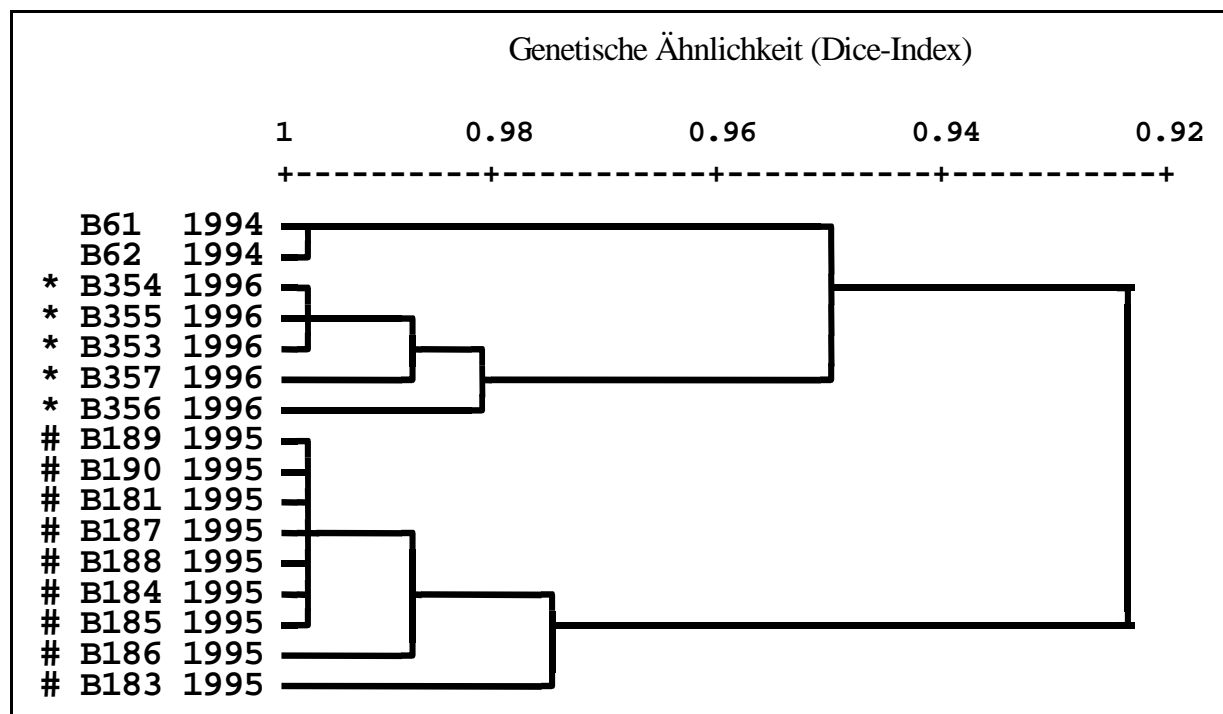


Abb. 35: UPGMA-Dendrogramm von Standort *Maradi*. Es wurden 16 Individuen aus drei Sammeljahren untersucht. # = Sammeljahr 1995; * = Sammeljahr 1996

Tab. 13 faßt die Ergebnisse der Varianzanalysen der vier Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* zusammen. Trotz der vergleichsweise hohen Individuenzahl konnte für *H4* keine Differenzierung der drei Sammeljahre festgestellt werden. Mit 11 polymorphen RAPD-Marker wird zwar der zweithöchste Wert erreicht (höchster Wert: *Maradi* mit 13 Marker), doch 86 % der genetische Variabilität konnten auf individuelle Unterschiede im Bandenmuster zurückgeführt werden. Der Dice-Ähnlichkeitsindex liegt für *H4* mit 0.985 innerhalb der vier untersuchten Standorte am höchsten. Die Anzahl untersuchter Individuen bei *H5*, *H10* und *Maradi* ist deutlich niedriger als bei *H4*, es findet aber eine Differenzierung einzelner Sammeljahre statt. 1995 und 1996 können anhand der RAPD-Marker bei *H5* und *H10* diskriminiert werden, für *Maradi* ist sogar eine Auftrennung dreier Sammeljahre möglich (Abb. 35). In Tab. 13 fällt auf, daß bei Standort *H4* der höchste Niederschlag mit dem höchsten Dice-Index korreliert ist und diese Werte über *H5* und *Maradi* bis zum Standort *H10* in gleicher Weise abnehmen. *H4* und *H5* sind etwa 50 km (Luftlinie) voneinander entfernt und werden in die Sudano-Sahelische Übergangszone eingeordnet. In der Nähe von *H4* befindet sich zusätzlich ein Marigot. Beide Standorte unterscheiden sich nur minimal im Dice-Index sowie um etwa 40 mm Jahresniederschlag, eine Differenzierung unterschiedlicher Sammeljahre findet aber nur bei *H5* statt. *H10* ist aufgrund eines Jahresniederschlags von 200-400 mm in dieser Untersuchung der einzige Standort in der Sahelzone und zeigt mit 0.829 den niedrigsten Dice-Index. Am deutlichsten ist die Auftrennung nach Sammeljahren am Standort *Maradi*, dazu werden auch 13 polymorphen Marker ausgewertet.

Tab. 13: Varianzanalyse der Standorte *H4*, *H5*, *H10* und *Maradi* für *B. xantholeuca*.

(* Der mittlere jährliche Niederschlag wurde nicht am Standort sondern an der nächst gelegenen Meßstation gemessen (vergl. Tab. 2)

	<i>H4</i>	<i>H5</i>	<i>H10</i>	<i>Maradi</i>
Individuenanzahl (1994-1996)	50	23	25	16
Mittlerer jährlicher Niederschlag (mm)*	584.6	545.6	332.5	434.5
Mittlerer Dice-Index	0.985	0.979	0.829	0.954
RAPD-Marker	54	52	51	54
davon polymorph	11	8	7	13
davon monomorph	43	44	44	41
Varianz zwischen den Sammeljahren (%)	13.33	64.93	72.78	90.00
Varianz innerhalb der Sammeljahre (%)	86.67	35.07	27.22	10.00

4.3.1.8 Vergleich der Standorte *H1, H2, H4* und *H10, H11, H13*

Da die Standorte *H1, H2, H4* bzw. *H10, H11, H13* jeweils nur max. 50 km voneinander entfernt sind, wurde geprüft, ob ein jeweils gemeinsamer Ökotyp beschrieben werden konnte. Es wurde für beide Gruppen der mittlere Dice-Ähnlichkeitsindex berechnet, der mit 0.986 für die Gruppe *H1-H4* und 0.979 für die Gruppe *H10-H13* nur gering vom Gesamtindex aller 14 Standorte (0.980) abweicht. Dies verdeutlicht, daß die genetischen Unterschiede innerhalb dieser Gruppen gering sind. Es wurde deshalb eine Diskriminanzanalyse durchgeführt und zusätzlich der Standort *H5* als dritte Gruppe definiert, so daß insgesamt 117 Individuen untersucht wurden. Tab. 14 zeigt die Ergebnisse dieser Analyse. Danach werden die Individuen in der Gruppe 1 zu 100 %, in Gruppe 2 zu 77.4 % und in Gruppe 3 zu 95.7 % diskriminiert. In Abb. 36 wurden die beiden Diskriminanzfunktionen in einen 2D-Blot abgetragen, wonach eine deutliche Trennung der drei Gruppen sichtbar wird. Gruppe 2 zeigt die größte Streuung und weicht mit 7 von 31 Individuen von der vorhergesagten Gruppeneinteilung ab.

Die Standorte *H1-H4* und *H5* werden nach LE HOUËROU (1989) der Sudano-Sahelischen Übergangszone (400-600 mm Jahresniederschlag) zugeordnet und sind etwa 50 km (Luftlinie) voneinander entfernt. Nach Tab. 14 weichen die Niederschläge nur um 40 mm voneinander ab. *H10, H11 und H13* hingegen werden der Sahelzone „sensu stricto“ (200-400 mm mittlerer Jahresniederschlag) zugeordnet. Anhand der genetischen Daten können hier zwei Ökotypen beschrieben werden, die sich in zwei unterschiedlichen ökoklimatischen Zonen befinden.

Tab. 14: Ergebnisse der Diskriminanzanalyse der Standorte *H1-H4, H5* und *H10-H13*. Es wurden 117 Individuen aus insgesamt sieben Standorten zu drei Gruppen zusammengefaßt. Angegeben sind die vorhergesagten Gruppenzugehörigkeiten durch die Anzahl und den Prozentsatz von Individuen je Gruppe.

Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit Individuen / Prozent				
Gruppe	① <i>H1, H2, H4</i>	② <i>H10, H11, H13</i>	③ <i>H5</i>	Gesamt
① <i>H1, H2, H4</i>	63 / 100 %	0 / 0 %	0 / 0 %	63 Individuen
② <i>H10, H11, H13</i>	3 / 9.7 %	24 / 77.4 %	4 / 12.9 %	31 Individuen
③ <i>H5</i>	1 / 4.3 %	0 / 0 %	22 / 95.7 %	23 Individuen

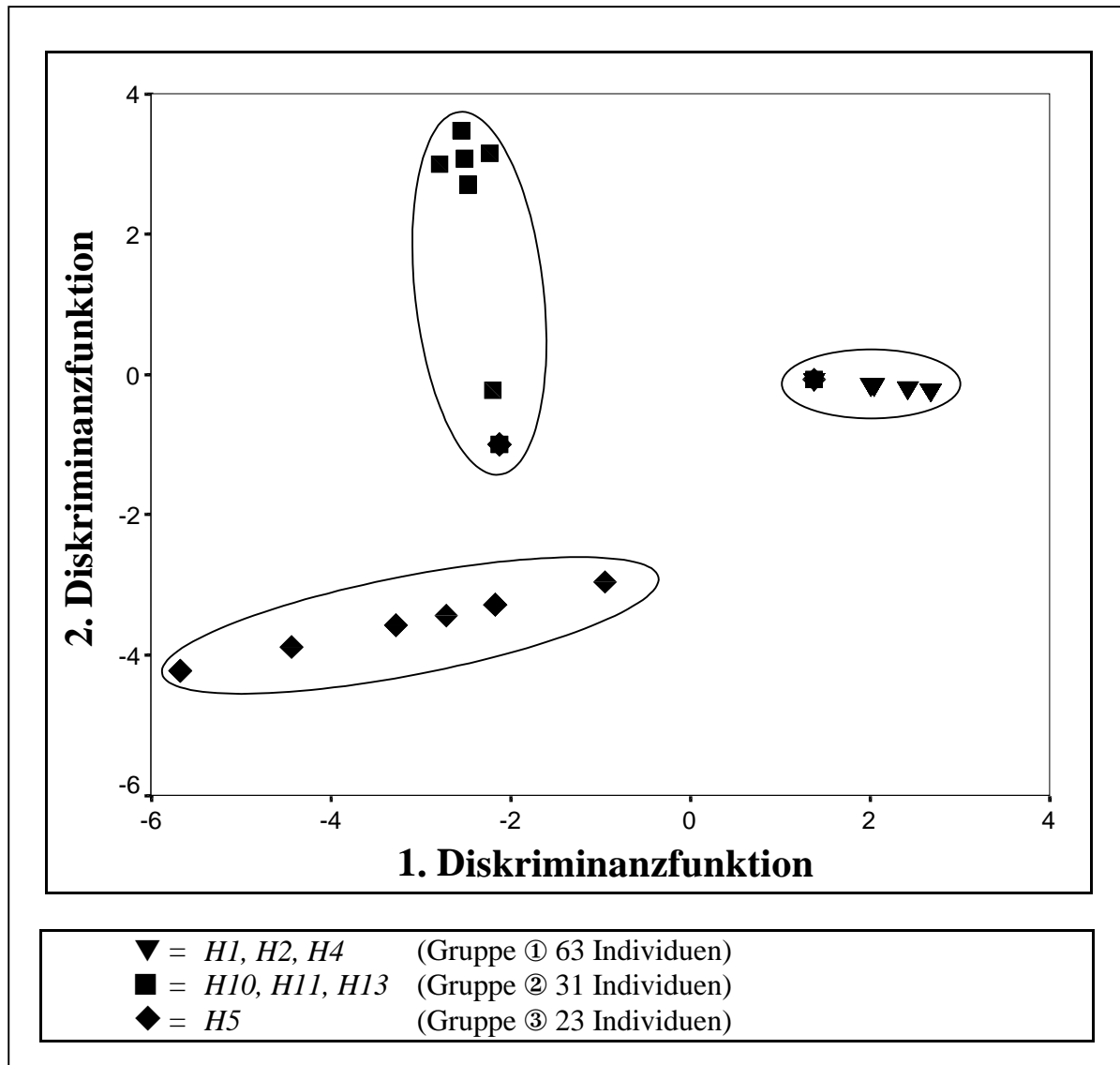


Abb. 36: Ergebnisse der Diskriminanzanalyse der Standorte $H1, H2, H4, H5$ und $H10-H13$. Abgetragen sind die beiden Diskriminanzfunktionen, die 63,6 % und 36,4 % der Gesamtvarianz erklären (siehe Tab. 14). Einige Koordinatenpunkte werden übereinander projiziert.

4.3.2 RAPD-Untersuchungen bei *Brachiaria nidulans*

Taxonomisch wurde diese Art bisher der Gattung *Panicum* zugeordnet und *P. nidulans* genannt. SCHOLZ (in KUSSEROW et al. 1999) ordnet *P. nidulans* in die Gattung *Urochloa* ein und nennt sie nun *U. nidulans*. Im weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit wird für diese Art der Name *Brachiaria nidulans* beibehalten.

Anhand der Clusteranalyse in Abb. 22 konnten 81 Individuen aus 8 Standorten *B. nidulans* zugeordnet werden. Tab. 15 zeigt eine Auflistung der untersuchten Individuen, wobei für *Zinder-I* und *Toukounous* 1995 und 1996 Pflanzenproben gesammelt wurden. Der Standort *Zinder-I* liegt am gegenüberliegenden Straßenrand von *Zinder-II*, etwa 10 m entfernt. Die Probenentnahme am Standort *Zinder-II* erfolgte vier Wochen nach der Sammlung am Standort *Zinder-I*. Zu diesem Zeitpunkt regnete es an diesem Standort. *Diffa-I* liegt 21 km nördlich und *Diffa-II* 16 km südöstlich von der Stadt Diffa entfernt.

Tab. 15: Standorte und Probenauswahl von *B. nidulans*.

81 Individuen aus 8 Standorten. *Zinder-I* und *Toukounous* wurden 1995 und 1996 beprobt. *Zinder-I* und *Zinder-II* liegen 10 m, *Diffa-I* und *Diffa-II* etwa 37 km (Luftlinie) auseinander. Mit Ausnahme von *Gao* (Mali) befinden sich die restlichen Standorte in Niger (vgl. Übersichtskarte Abb. 10).

Proben-Nr.	Standort	Probenzahl	Sammeljahr
B71- B80	<i>Zinder-I</i>	10	1995
B388- B392, B394- B397	<i>Zinder-I</i>	9	1996
B171- B180	<i>Zinder-II</i>	10	1995
B151- B158	<i>Diffa-I</i>	8	1995
B408, B411- B413	<i>Diffa-II</i>	4	1996
B243, B244, B246, B247, B251	<i>Toukounous</i>	5	1995
B490- B499	<i>Toukounous</i>	10	1996
B111- B120	<i>Gao</i>	10	1995
B378- B387	<i>Hamdara</i>	10	1996
B434- B438	<i>Palmen</i>	5	1996

Die RAPD-Analyse wurde mit zehn Primern (Tab. 4) durchgeführt und insgesamt 81 RAPD-Marker identifiziert. 51 dieser 81 Marker (63 %) waren polymorph und 30 (37 %) monomorph. Die Primer amplifizierten jeweils zwischen 6 und 11 RAPD-Markern. Besonders informativ waren die Primer A-07, A-18, B-08, B-18 und Y-16, die zusammen 13 standortspezifische RAPD-Marker identifizieren und 6 der 8 Standorte charakterisieren konnten (Tab. 17). Für *Zinder-I* und *Zinder-II* wurden keine standortspezifischen RAPD-Marker gefunden.

Tab. 16: Anteil polymorpher und monomorpher RAPD-Marker bei *B. nidulans*. Angegeben sind die 10 eingesetzten Primer und die Anzahl amplifizierter Banden.

Primer	A-01	A-04	A-07	A-18	B-08	B-18	T-06	Y-02	Y-16	Y-20	Σ
polymorph	2	1	5	9	8	5	7	4	9	1	51
monomorph	5	6	2	2	1	3	2	4	0	5	30
gesamt	7	7	7	11	9	8	9	8	9	6	81

Tab. 17: Standortspezifische RAPD-Marker bei *B. nidulans*

Die Primer A-07, A-18, B-08, B-18 und Y-16 amplifizierten insgesamt 13 standortspezifische RAPD-Marker. (1) bedeutet, der Marker ist vorhanden, (0) der Marker fehlt, ist aber an allen anderen Standorten vorhanden. Angegeben sind der Name des Primers (z.B. Y-16) und die Molekulargewichtsgröße des Markers in bp (z.B. -1010).

Standort	RAPD-Marker	RAPD-Marker ist am Standort	
		Anwesend (1)	abwesend (0)
<i>Diffa-I</i>	Y-16-1010	1	
<i>Diffa-II</i>	A-07-1400		0
<i>Diffa-II</i>	B-18- 955		0
<i>Gao</i>	A-07-1364	1	
<i>Gao</i>	A-18-1456	1	
<i>Gao</i>	B-08-2000	1	
<i>Gao</i>	Y-16-1200	1	
<i>Hamdara</i>	A-18- 521		0
<i>Hamdara</i>	A-18-1000	1	
<i>Hamdara</i>	B-18- 800	1	
<i>Palmen</i>	A-07-1256		0
<i>Palmen</i>	A-07-1300	1	
<i>Palmen</i>	B-18- 634		0

4.3.2.1 Clusteranalyse bei *Brachiaria nidulans*

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach Dice (1945) durchgeführt. Dieser Dice-Index variierte von 0.86 bis 1.00 und betrug im Mittel 0.912. Er lag somit deutlich unter dem Wert von *B. xantholeuca* (0.946).

Mittels der Clusteranalyse wurden die paarweise berechneten Ähnlichkeiten (Dice-Indices) graphisch dargestellt. Das Dendrogramm in Abb. 37 zeigt eine deutliche Abtrennung nahezu aller 8 Standorte voneinander. Im oberen Abschnitt des Dendrogramms werden zunächst die drei Standorte *Zinder-I*, *Zinder-II* und *Diffa-I* in einem gemeinsamen Cluster angeordnet, das

sich nochmals in weitere Cluster unterteilt, die den einzelnen Standorten entsprechen. Drei Individuen aus *Zinder-I* werden in das *Zinder-II* Cluster eingeordnet.

Das anschließende Cluster besteht aus den beiden Sammeljahren 1995 und 1996 des Standortes *Toukounous*, die deutlich voneinander getrennt wurden. Hierbei zeigte die Stichprobe aus 1996 als einzige keine genetische Variabilität, d.h., es wurden keine polymorphen RAPD-Marker gefunden. Im Anschluß an das *Toukounous* Cluster werden die restlichen Standorte *Gao*, *Diffa-II*, *Palmen* und *Hamdara* in voneinander getrennten Clustern gruppiert.

Damit konnten, mit Ausnahme von drei Individuen aus *Zinder-I*, sämtliche Standorte und Sammeljahre bei *B. nidulans* anhand von RAPD-Markern voneinander diskriminiert werden. Angesichts der relativ großen Anzahl an standortspezifischen RAPD-Markern (13 von 51 = 25.5 %) zeigt *B. nidulans* eine hohe Standortspezifität, die um so deutlicher wird, je weiter zwei Standorte voneinander entfernt sind. *Zinder-I* und *Zinder-II* liegen nur 10 m voneinander entfernt und werden in der Clusteranalyse nicht klar voneinander getrennt. Die beiden *Diffa*-Standorte werden hingegen deutlich diskriminiert, sind aber auch 37 km voneinander entfernt. Somit kann für *B. nidulans* ein räumliches Verteilungsmuster beschrieben werden, das sich anhand molekulargenetischer Daten definieren läßt. Dies bedeutet, daß sich das genetische Muster zweier Standorte bereits in einer Entfernung von 37 km so stark unterscheidet, daß mit Hilfe von RAPD-Markern eine Differenzierung und die Definition von Standorttypen möglich ist.

Neben diesem räumlichen Verteilungsmuster konnten am Standort *Toukounous* deutliche Unterschiede zwischen den beiden Sammeljahren 1995 und 1996 gefunden werden. Der Standort *Zinder-I* trennte ebenfalls die beiden Sammeljahre 1995 und 1996 voneinander, die genetische Variabilität innerhalb beider Stichproben ist aber größer wie bei *Toukounous*, wodurch die Trennung im Dendrogramm nicht so deutlich ausgeprägt ist (Abb. 37).

Für die beiden Standorte *Toukounous* und *Zinder-I* wird hier der Begriff „temporäre Standorttypen“ eingeführt und damit ein Standort beschrieben, der auf der Basis von RAPD-Daten eine Diskriminierung verschiedener Sammeljahre erlaubt.

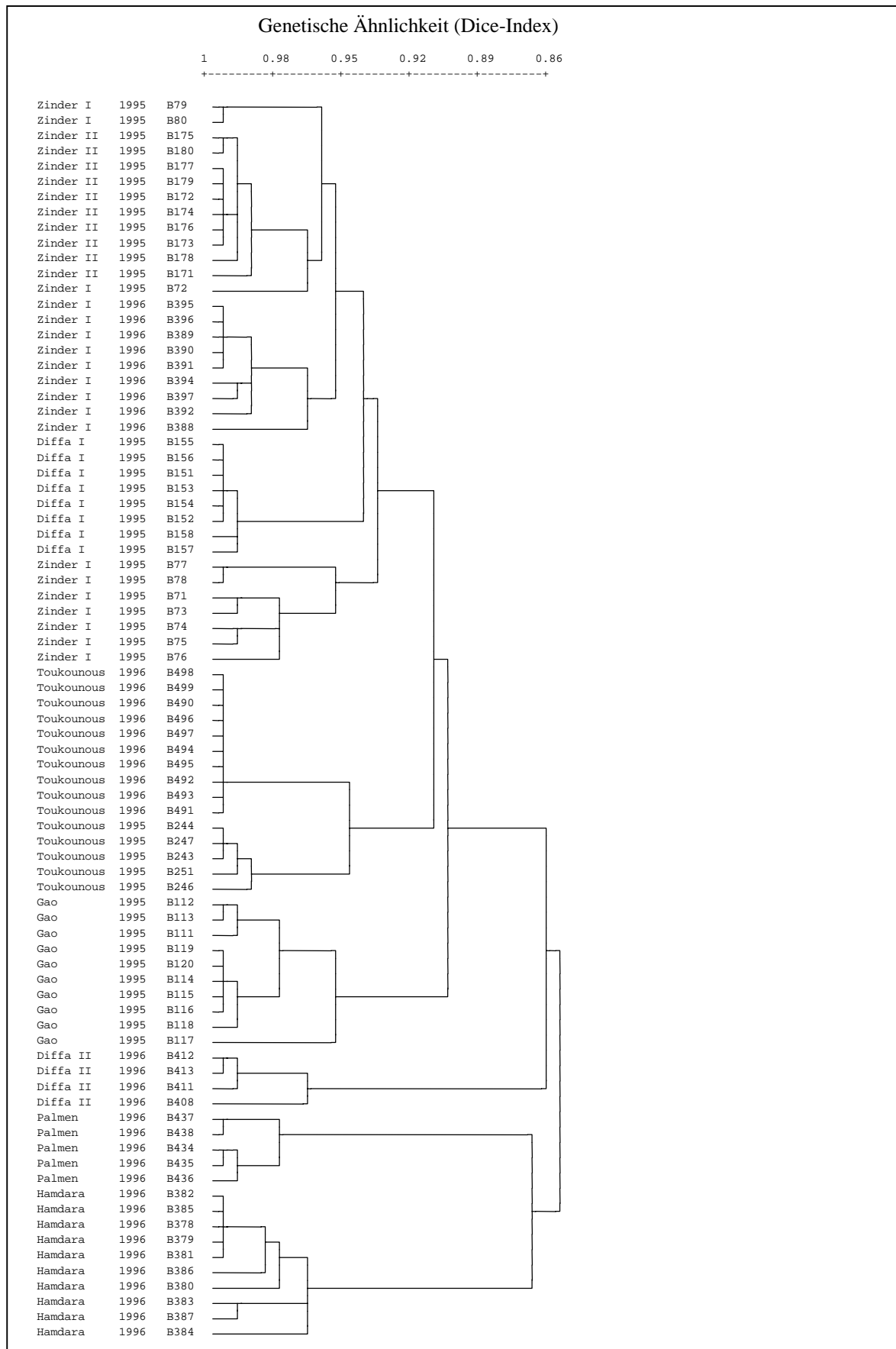


Abb. 37: UPGMA-Dendrogramm von *B. nidulans*.

Es wurden 81 Individuen aus 8 Standorten mit 10 Primern untersucht (vergl. Tab. 15) Angegeben sind der Standort, das Sammeljahr und die Probennummer.

4.3.2.2 Hauptkoordinatenanalyse bei *Brachiaria nidulans*

Die Hauptkoordinatenanalyse bietet eine weitere Möglichkeit, die räumliche Populationsstruktur graphisch darzustellen. Sie ermöglicht im Unterschied zur Clusteranalyse eine bessere Beurteilung der quantitativen Differenzierung innerhalb einer Population. In Abb. 38 sind entlang der x- und y-Achse die 1. und 2. Hauptkoordinate aufgetragen. Die Stichprobe enthält 81 Individuen aus 8 Standorten, wobei für *Zinder-I* und *Toukounous* zwei Sammeljahre (1995, 1996) untersucht wurden. Die Ergebnisse der Hauptkoordinatenanalyse bestätigen die Auftrennung im Dendrogramm der Abb. 37. Mit Ausnahme von *Zinder-I* und *Zinder-II* werden die restlichen 6 Standorte voneinander getrennt dargestellt. Im Unterschied zur Clusteranalyse wird jetzt die Streuung der Individuen innerhalb eines Standortes deutlicher (z.B. bei *Zinder-I* und *Zinder-II*).

Eine Abtrennung beider Sammeljahre wurde am Standort *Toukounous* beobachtet. Im Unterschied zu den beiden *Zinder* Standorten ist hier die Streuung geringer. Für die *Toukounous* Stichprobe aus 1996 konnten keine polymorphen RAPD-Marker amplifiziert und somit keine genetische Variabilität festgestellt werden.

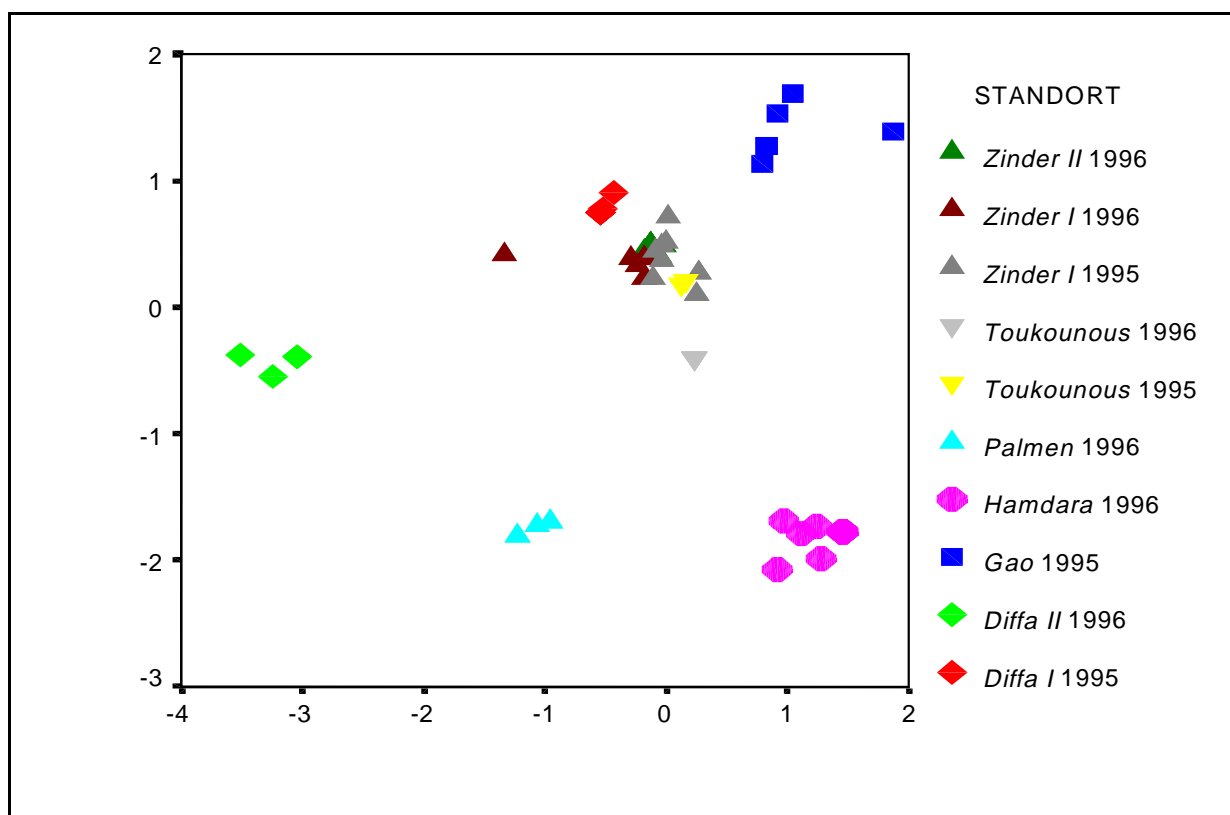


Abb. 38: Hauptkoordinatenanalyse der 81 Individuen von *B. nidulans*. Die zehn Stichproben stammen aus acht Standorten, für *Zinder-I* und *Toukounous* wurden je 2 Sammeljahre aus 1995 und 1996 ausgewertet. Einige Koordinatenpunkte sind übereinander projiziert.

4.3.2.3 Diskriminanzanalyse bei *Brachiaria nidulans*

Nachdem die Clusteranalyse und die Hauptkoordinatenanalyse klare Hinweise auf eine geographische Substrukturierung der *B. nidulans* Stichproben zeigten, wurden nun die verschiedenen Gruppierungen in einer Diskriminanzanalyse geprüft. Dazu wurden 10 Gruppen definiert, die den 10 Stichproben aus 8 Standorten entsprachen. Für *Zinder-I* und *Toukounous* wurden entsprechend den beiden Sammeljahren jeweils zwei Gruppen definiert. Mit Ausnahme des Standortes *Hamdara* wurde in der Diskriminanzanalyse die 10 Gruppierungen zu 100 % bestätigt. Für *Hamdara* wurden je 10 % der Individuen den Standorten *Diffa-II* und *Toukounous 1996* zugeordnet, so daß noch 80 % der Individuen klassifiziert werden konnten. Die Gesamtvarianz betrug 79.4 % und verteilte sich auf die beiden Diskriminanzfunktionen mit 65.4 % und 14 %.

4.3.2.4 Varianzanalyse bei *Brachiaria nidulans*

Nähere Informationen über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen einzelnen Standorttypen / Populationen wurden über eine Varianzanalyse ermittelt. Dazu wurde das Softwareprogramm WINAMOVA (EXCOFFIER, 1992) verwendet.

Tab. 18 zeigt die Ergebnisse einer Varianzanalyse von 81 Individuen aus *B. nidulans*. Es wurden entsprechend den Standorten acht Standorttypen definiert und die Varianzkomponenten sowohl innerhalb, zwischen und für die einzelnen Gruppen berechnet.

Innerhalb der einzelnen Gruppen lagen die Varianzen zwischen 1.68 % (*Diffa-I*) und 49.70 % (*Zinder-I*), der Mittelwert lag bei 25.7 %. Dies bedeutet, daß 25.7 % der Gesamtvarianz auf individuelle genetische Unterschiede zurückzuführen sind. 74.3 % können durch Standort- oder Populationsunterschiede erklärt werden. *Diffa-I* und *Diffa-II* zeigten mit 1.68 % und 2.88 % die niedrigsten Varianzen. Den größten Anteil der Gesamtvarianz tragen die beiden Sammeljahre von *Zinder-I* mit 49.70 %. Die beiden Sammeljahre aus *Toukounous* weisen deutlich niedrigere Abweichungsquadrate als *Zinder-I* auf, wobei die Varianz innerhalb des Standortes bei 17.78 % liegt.

Abschließend kann festgestellt werden, daß *B. nidulans* eine Futterpflanze ist, die in hohem Maße an ihre Umwelt angepaßt ist. Alle Standorte wurden zwar mit nur wenigen Individuen untersucht, zeigten aber deutliche Unterschiede im genetischen Muster und konnten anhand weniger RAPD-Marker voneinander diskriminiert werden. Aufgrund der hohen

Standortspezifität wurden 13 standortspezifische Marker identifiziert, dies sind 25 % der 51 polymorphen RAPD-Marker. Für die beiden Standorte *Zinder-I* und *Toukounous* konnten zwei Sammeljahre differenziert werden.

Tab. 18: Ergebnisse der Varianzanalyse bei *B. nidulans*.

Es wurden acht Standorte mit insgesamt 81 Individuen untersucht. Die beiden Sammeljahre aus *Toukounous* und *Zinder-I* wurden jeweils zu einer Gruppe zusammengefaßt.

Sum of Squares (SQ)	=	Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
Varianz (SQ/ n-1)	=	Varianzkomponente aus Sum of Squares / Freiheitsgrad
Varianz (%)	=	Anteil in % an der Gesamtvarianz innerhalb von Populationen

Gruppen	n-1	Sum of Squares	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)
<i>Gao</i> 1996	9	11.00	1.22	10.55
<i>Diffa-I</i> 1995	7	1.75	0.25	1.68
<i>Diffa-II</i> 1996	3	3.00	1.00	2.88
<i>Zinder-I</i> 1995 / 1996	18	51.78	2.87	49.70
<i>Zinder-II</i> 1996	9	3.40	0.37	3.26
<i>Toukounous</i> 1995 / 1996	14	18.53	1.32	17.78
<i>Hamdara</i> 1996	9	11.10	1.23	10.65
<i>Palmen</i> 1996	4	3.60	0.90	3.45
zwischen den Gruppen	7	293.72	42.00	74.30
innerhalb der Gruppen	73	104.17	1.42	25.70

4.3.3 *Brachiaria orthostachys*

Brachiaria orthostachys (CLAYTON, 1966) ist eine wildwachsende Futterpflanze, deren Verbreitung nach SCHOLZ (1978) auf die Sahelzone beschränkt ist, wohingegen *B. xantholeuca* auch südlich der Sahelzone vorkommt. Beide Arten lassen sich phänotypisch anhand der Ährchen deutlich voneinander unterscheiden.

Ein Vergleich der morphologischen Bestimmungen mit den Daten aus der RAPD-Analyse (Tab. 5) führte bis auf zwei Ausnahmen zu identischen Ergebnissen. Die beiden Individuen B159 und B160 aus *Diffa-I* konnten weder von SCHOLZ noch anhand molekulargenetischer Marker eindeutig einer *Brachiaria* Art zugeordnet werden. Dies lag einerseits am Probenmaterial selbst, das aufgrund der schlechten Qualität eine nur eingeschränkte morphologische Bestimmung zuließ (Scholz ordnet sie unter Vorbehalt *B. nidulans* zu). Zum anderen konnte die RAPD-Analyse diese beiden Proben in keiner der fünf untersuchten Arten zuordnen. In der Clusteranalyse in Abb. 22 wiesen diese Proben die höchste Ähnlichkeit zu *B. orthostachys* auf und wurden deshalb zusammen mit 28 weiteren Proben ausgewertet. Tab. 19 zeigt eine Zusammenstellung der Individuen und Standorte.

Insgesamt konnten mit 10 Primern 79 RAPD-Marker identifiziert werden, von denen 49 (62 %) polymorph und 30 (38 %) monomorph waren (Tab. 20). Die Primer amplifizierten zwischen 4 und 13 RAPD-Marker. Besonders informativ waren hier die Primer A-04, A-18, T-06, Y-02, Y-16 und Y-20, denn sie konnten 23 standortspezifische RAPD-Marker identifizieren. Dies entspricht 49 % aller polymorpher Marker bei *B. orthostachys*. Von diesen 23 Markern waren 18 aus *Diffa-I*, 4 aus *Gourè* und ein Marker aus *Ibecetene* (Tab. 23). *B. xantholeuca* zeigte im Vergleich dazu 17 und *B. nidulans* 13 standortspezifische Marker.

4.3.3.1 Clusteranalyse bei *B. orthostachys*

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach Dice (1945) durchgeführt. Der Dice-Index variierte zwischen den einzelnen Individuen von 0.712 und 1.0 und lag im Mittel bei 0.874. Im Vergleich zu *B. xantholeuca* (0.946) und *B. nidulans* (0.914) ist dies der niedrigste Wert überhaupt.

Die paarweise berechneten Ähnlichkeiten (Dice-Indices) wurden mittels einer Clusteranalyse graphisch aufgetrennt. Abb. 39 zeigt ein Dendrogramm der 30 Individuen aus *B. orthostachys*. Aufgrund der hohen Anzahl von 24 standortspezifischen Markern findet eine deutliche Auftrennung der drei Standorte *Gourè*, *Ibecetene* und *Diffa-I* statt. Die beiden Sammeljahre 1995 und 1996 aus *Gourè* werden voneinander getrennt. Die zwei *Diffa-I* Individuen werden im Dendrogramm früh abgetrennt und zeigen nur wenig Ähnlichkeit zu den restlichen Proben. Dies erklärt sich durch die hohe Anzahl standortspezifischer Marker (Tab. 21).

Tab. 19: Standorte und Probenauswahl von *B. orthostachys*.

Es wurden 30 Individuen aus drei Standorten analysiert. *Gourè* wurde 1995 und 1996 beprobt. In *Diffa-I* wurden 1995 insgesamt 10 Individuen gesammelt, acht davon wurden *B. nidulans* (siehe Tab. 15), zwei *B. orthostachys* (B159 und B160) zugeordnet.

Proben-Nr.	Standort	Individuenzahl	Sammeljahr
B159 - B160	<i>Diffa-I</i>	2	1995
B161 - B170	<i>Gourè</i>	10	1995
B398 - B407	<i>Gourè</i>	10	1996
B339 - B343, B345 - B347	<i>Ibecetene</i>	8	1996

Tab. 20: Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei *B. orthostachys*

In der RAPD-Analyse wurden 10 Primer eingesetzt, die insgesamt 79 Marker identifizierten, davon waren 49 polymorph und 30 monomorph. Der Primer B-18 amplifizierte keine polymorphen Marker.

Primer	A-01	A-04	A-07	A-18	B-08	B-18	T-06	Y-02	Y-16	Y-20	Σ
polymorph	2	1	4	7	6	0	4	11	5	9	49
monomorph	3	5	3	4	2	4	3	2	4	1	30
gesamt	5	6	7	11	8	4	7	13	9	10	79

Tab. 21: Standortspezifische RAPD-Marker bei *Brachiaria orthostachys*.

Für *Diffa-I* wurden 18 Marker (75 %), für *Gourè* 4 und für *Ibecetene* ein Marker identifiziert. (1) bedeutet, der Marker ist vorhanden, (0) der Marker fehlt, ist aber in allen anderen Standorten vorhanden. Angegeben sind der Name des Primers (z.B. A-04) und die Molekulargewichtsgröße des Markers (z.B. 770 in bp). * bezeichnet die standortspezifischen Marker unter Ausschluß des Standortes *Diffa-I*.

Standort	RAPD-Marker	RAPD-Marker ist am Standort	
		anwesend (1)	abwesend (0)
<i>Diffa-I</i>	A-04-770	1	
<i>Diffa-I</i>	A-04-1079		0
<i>Diffa-I</i>	A-18-544	1	
<i>Diffa-I</i>	A-18-779	1	
<i>Diffa-I</i>	T-06-335	1	
<i>Diffa-I</i>	T-06-388	1	
<i>Diffa-I</i>	T-06-635	1	
<i>Diffa-I</i>	T-06-1100		0
<i>Diffa-I</i>	Y-02-777	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-02-1152	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-02-1247	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-02-1300		0
<i>Diffa-I</i>	Y-16-720		0
<i>Diffa-I</i>	Y-16-1010	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-16-1139	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-20-700	1	
<i>Diffa-I</i>	Y-20-720		0
<i>Diffa-I</i>	Y-20-847	1	
<i>Gourè</i>	A-18-521 *		0
<i>Gourè</i>	A-18-532 *	1	
<i>Gourè</i>	A-18-966 *	0	
<i>Gourè</i>	A-18-1200 *	1	
<i>Ibecetene</i>	A-18-1265 *	1	

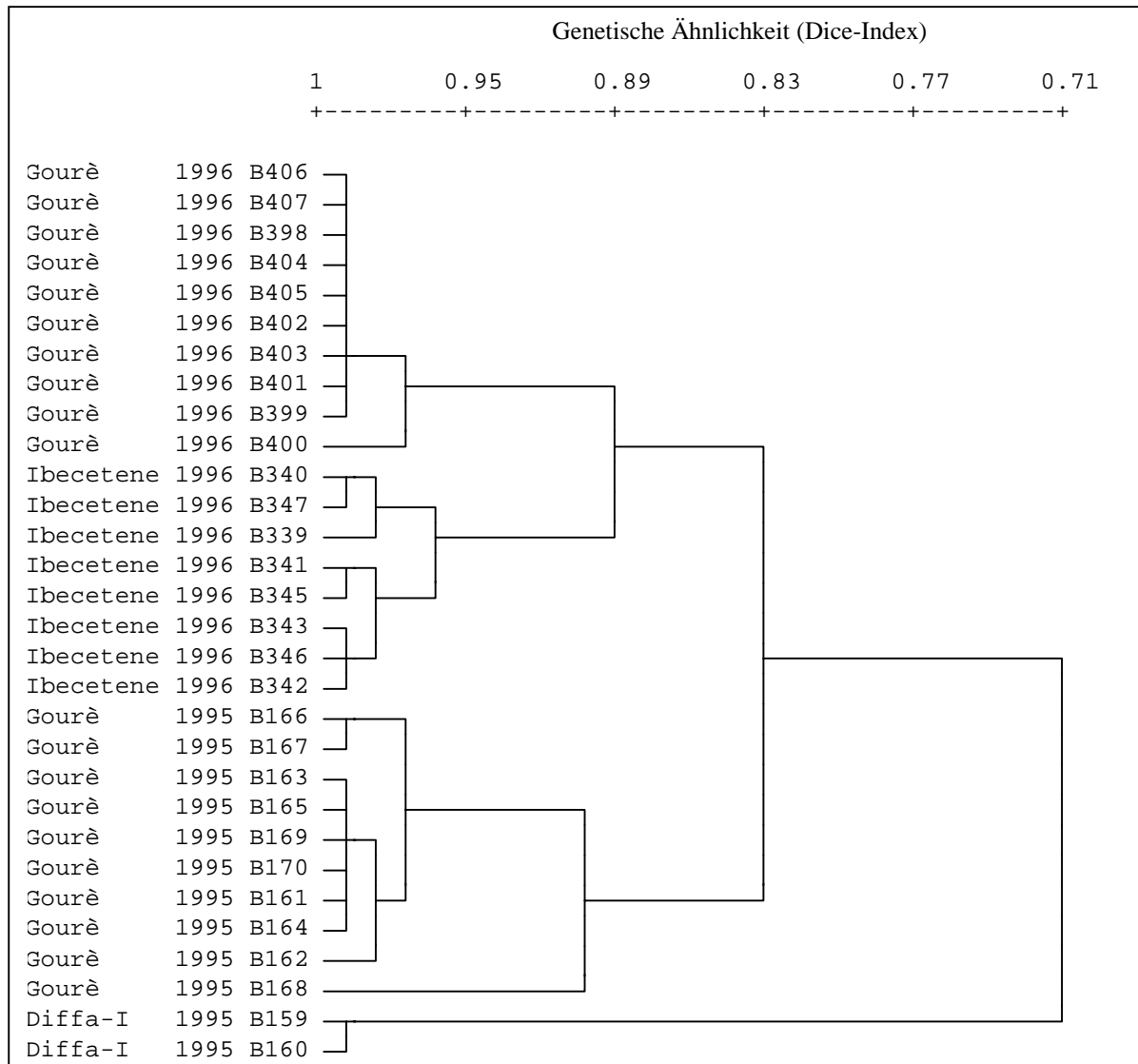


Abb. 39: UPGMA-Dendrogramm mit 30 Individuen von *B. orthostachys*.
Es wurden 79 RAPD-Marker ausgewertet. *Gourè* wurde 1995 und 1996 beprobt.

4.3.3.2 Hauptkoordinatenanalyse bei *B. orthostachys*

Die Hauptkoordinatenanalyse bietet eine weitere Möglichkeit, die räumliche Populationsstruktur graphisch darzustellen. Dies ermöglicht im Unterschied zur Clusteranalyse eine bessere Beurteilung der quantitativen Differenzierung innerhalb einer Population. In Abb. 40 sind entlang der drei Achsen die 1., 2. und 3. Hauptkoordinate aufgetragen. Die Stichprobe besteht aus 8 Individuen aus *Ibecetene*, 10 aus *Gourè-1995*, 10 aus *Gourè-1996* und 2 aus *Diffa-I-1995*. Es konnten alle vier Stichproben deutlich voneinander getrennt werden. Die beiden *Diffa-I* Proben werden in keine der drei Gruppen eingeordnet und befinden sich in der Mitte des Koordinatensystems.

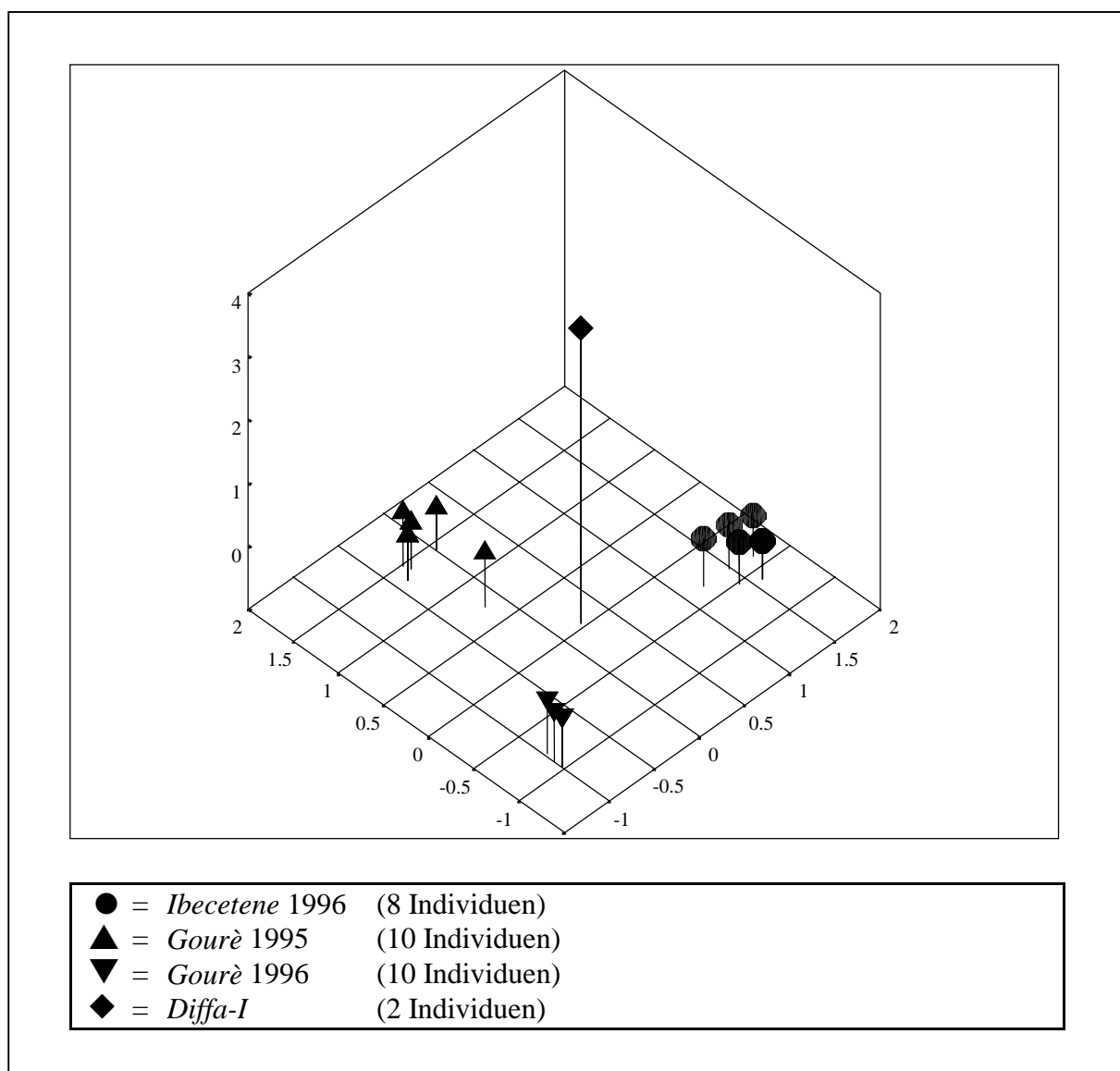


Abb. 40: Hauptkoordinatenanalyse von *Brachiaria orthostachys*.

30 Individuen aus drei Standorten wurden auf der Basis von 49 RAPD-Markern untersucht. Abgetragen sind die ersten drei Hauptkoordinaten, die 80 % der Gesamtvarianz erklären. Einige Koordinatenpunkte werden übereinander projiziert.

4.3.3.3 Diskriminanzanalyse bei *B. orthostachys*

Die Ergebnisse der Clusteranalyse und der Hauptkoordinatenanalyse zeigen, daß die Einordnung der beiden *Diffa*-Proben in die Art *B. orthostachys* nicht eindeutig ist. Die morphologischen Untersuchungen von SCHOLZ (Tab. 5) ergaben eine Zuordnung beider Individuen zu *B. nidulans*. Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse wurde die Zugehörigkeit der *Diffa*-Proben zu *B. nidulans* bzw. *B. orthostachys* überprüft. Die RAPD-Daten beider Arten wurden zusammengefaßt und insgesamt 111 Individuen untersucht. Abb. 41 zeigt in einem Scatter-Blot die ersten beiden Diskriminanzfunktionen, die mit 97 % und 3 % die Gesamtvarianz der 111 Individuen erklären. Die beiden *Diffa*-Proben werden keiner der beiden *Brachiaria*-Arten eindeutig zugeordnet. Damit kann auch mit den hier vorliegenden RAPD-Daten keine nähere Bestimmung durchgeführt werden.

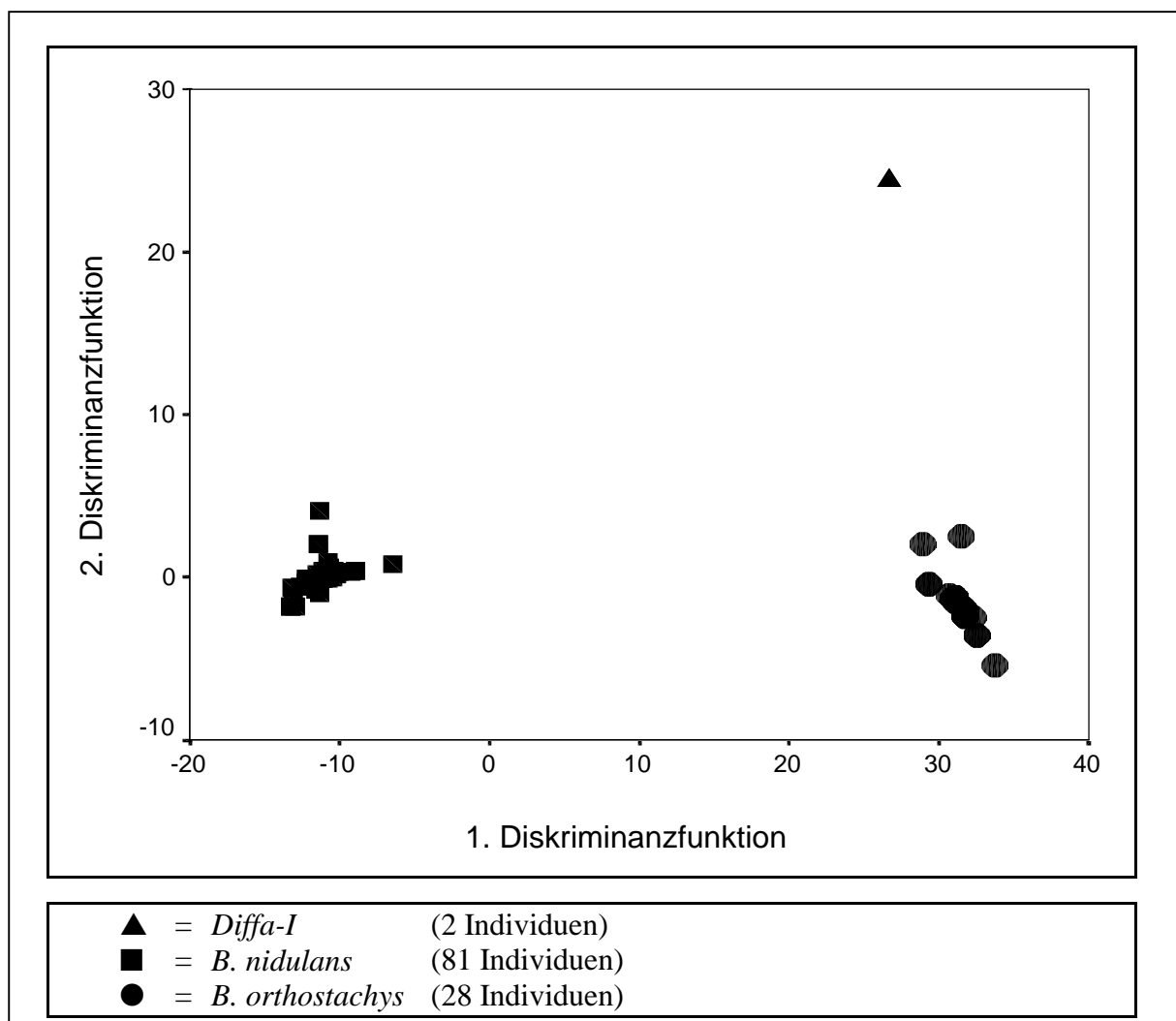


Abb. 41: Diskriminanzanalyse mit 111 Individuen aus *Brachiaria nidulans* (81), *Brachiaria orthostachys* (28) und dem Standort *Diffa-I* (2). Abgetragen sind die beiden Diskriminanzfunktionen, die zusammen 100 % (97 % und 3 %) der Gesamtvarianz erklären.

Auf der Basis dieser Ergebnisse und der morphologischen Untersuchungen von SCHOLZ wird davon ausgegangen, daß die beiden gesammelten Individuen zur Gattung *Brachiaria* gehören, mit hoher Wahrscheinlichkeit aber nicht einer der fünf hier untersuchten Arten angehören.

Nachdem eine Zuordnung der beiden *Diffa*-Individuen in eine der beiden *Brachiaria*-Arten nicht möglich war, wurden die RAPD-Daten der restlichen 28 Individuen neu berechnet. Es konnten insgesamt 65 RAPD-Marker (vorher 79) ausgewertet werden, davon waren 31 polymorph (48 %; vorher 63 %) und 34 monomorph. Der mittlere Dice-Index stieg von vormals 0.874 auf 0.896, lag aber im Vergleich zu den anderen *Brachiaria*-Arten am niedrigsten (vgl. Tab. 6). Die Anzahl der standortspezifischen Marker reduzierte sich von 23 auf 5 (Tab. 20) und lag deutlich unter den Angaben von *B. xantholeuca* (17) und *B. nidulans* (13). Diese fünf standortspezifischen Marker waren ausreichend, um die beiden Sammeljahre 1995 und 1996 aus *Gourè* sowie *Ibecetene* voneinander zu unterscheiden.

4.3.3.4 Varianzanalyse bei *B. orthostachys*

Es wurde für die Standorte *Gourè*, *Ibecetene* und die beiden *Diffa*-Proben eine Varianzanalyse durchgeführt. Ziel dieser AMOVA (Analysis of Molecular Variance) war es, die genetische Variabilität innerhalb und zwischen den Standorten bzw. den beiden Sammeljahren von *Gourè* zu ermitteln. Insgesamt wurden 30 Individuen untersucht. Tab. 22 zeigt die Ergebnisse der Varianzanalyse. Danach konnten 66.1 % der Gesamtvarianz auf die genetische Variabilität zwischen und 33.9 % innerhalb der drei Standorte zurückgeführt werden. Den größten Anteil an der Gesamtvarianz tragen die beiden Sammeljahre aus *Gourè*. Innerhalb dieses Standortes wurden 20 Individuen ausgewertet. Es traten sehr hohe Abweichungsquadrate (sum of squares) auf, die zu einer Varianz von 43.4 % führten. Ein ähnlich hoher Wert trat auch bei *B. nidulans* (49.7 %) auf, betrachtet man die beiden Sammeljahre von *Zinder-I*.

Zusammenfassend werden die RAPD-Ergebnisse bei *B. orthostachys* wie folgt bewertet:

Es wurden zwei Standorte (*Gourè* und *Ibecetene*) ausgewertet, die geographisch etwa 600 km voneinander entfernt sind, aufgrund des Jahresniederschlags klimatisch in die Sahelzone „sensu stricto“ eingeordnet werden. *Ibecetene* liegt etwa 80 km nördlich von Tahoua innerhalb einer großen Tierzuchtfarm (Rinderzucht, Milchwirtschaft Abb. 10), wo lateritische Böden und nur spärliche Vegetation vorherrschen. Der mittlere jährlichen Niederschlag liegt bei 332.5 mm aufweist.

Tab. 22: Ergebnisse der Varianzanalyse bei *B. orthostachys*.

Es wurden die drei Standorte *Gourè*, *Ibecetene* und *Diffa-I* mit insgesamt 30 Individuen untersucht. Die beiden Sammeljahre aus *Gourè* wurden zu einer Gruppe zusammengefaßt.

Sum of Squares (SQ)	= Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
Varianz (SQ/ n-1)	= Varianzkomponente aus Sum of Squares /Freiheitsgrad
Varianz (%)	= Anteil in % an der Gesamtvarianz

Gruppe	n-1	Sum of Squares	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)
<i>Gourè</i> 1995 / 1996	19	79.650	4.19	43.4
<i>Ibecetene</i> 1996	7	8.625	1.23	12.7
<i>Diffa-I</i> 1995	1	0.000	0.00	0.0
Zwischen den Gruppen	2	98.525	49.26	66.1
Innerhalb den Gruppen	27	88.275	3.27	33.9

Gourè befindet sich hingegen in einer offenen Dünenlandschaft mit dichter Grasflur im Südosten Nigers. Der mittlere jährliche Niederschlag liegt hier bei 269.6. mm. Beide Standorte können mit Hilfe von standortspezifischen RAPD-Markern charakterisiert werden. Für *Gourè* ist, wie schon für die beiden Standorte *Zinder-I* und *Toukounous aus B. nidulans*, eine Differenzierung zweier Sammeljahre möglich. Deshalb werden auch hier die beiden Stichproben aus 1995 und 1996 als „temporäre Standorttypen“ bezeichnet.

Der Standort *Diffa-I* zeigt große Abweichungen zu den Bandenmustern von *Gourè* und *Ibecetene* (Abb. 40) und kann deshalb deutlich von diesen diskriminiert werden. Aufgrund der hohen Anzahl standortspezifischer Marker nehmen die beiden *Diffa*-Proben innerhalb der Art *B. orthostachys* eine Sonderstellung ein. Eine eindeutige Zuordnung zu dieser oder einer der anderen vier *Brachiaria*-Arten ist mit Hilfe der vorliegenden RAPD-Daten nicht möglich.

4.3.4 *Brachiaria ramosa* und *Brachiaria lata*

Die beiden Arten *B. ramosa* und *B. lata* wurden in der vorliegenden Arbeit als Testpflanzen eingesetzt und werden deshalb hier kurz vorgestellt (Zielpflanze war *B. xantholeuca*). Zu Beginn der molekulargenetischen Untersuchungen sollte getestet werden, ob mit der RAPD-Methode eine Differenzierungen mehrerer Arten der Futterpflanze *Brachiaria* möglich ist. Dazu wurden nur wenige Pflanzenproben dieser beiden Arten gesammelt. (Eigentlich sollte hier nur *B. ramosa* untersucht werden). Da sich aber die beiden Arten morphologisch sehr ähnlich sind, konnte während der Sammlung keine eindeutige Zuordnung der Pflanzenproben erfolgen. In einem „Blindversuch“ wurden Blattproben von *B. ramosa* zusammen mit 69 *B. xantholeuca* Blattproben mit RAPD-Markern untersucht und konnten in einer Clusteranalyse

differenziert werden. Im weiteren Verlauf der molekulargenetischen Untersuchungen konnten mit Hilfe der morphologischen Bestimmungen von SCHOLZ (Tab. 5) insgesamt fünf *Brachiaria* Arten, darunter auch *B. lata*, eindeutig charakterisiert werden.

Brachiaria ramosa ist eine wildwachsende Futterpflanze, die im Unterschied zu *B. xantholeuca* mehr feuchte, lehmige Böden bevorzugt. Der Standort *Niono-I* weist einen mittleren jährlichen Niederschlag von 522 mm auf und wird deshalb klimatisch der Sudano-Sahelischen Übergangszone zugeordnet. Im Gelände konnte *B. ramosa* gut von *B. xantholeuca*, *B. nidulans* und *B. orthostachys* unterschieden werden. Es wurden insgesamt 6 Individuen aus 1994 und 1995 gesammelt (Tab. 23), mit 10 Primern untersucht und 70 RAPD-Marker ausgewertet. 21 (30 %) Marker waren polymorph und 49 (70 %) monomorph. Die 10 eingesetzten Primer amplifizierten zwischen 4 und 14 RAPD-Markern. 5 dieser Primer produzierten keine polymorphen Marker. Besonders informativ waren die Primer A-07, A-18, T-06 und Y-02, denn sie amplifizierten insgesamt 7 artspezifische Marker (Tab. 24). Damit ist nun eine eindeutige Identifizierung von *B. ramosa* Pflanzen möglich. 11 der insgesamt 21 polymorphen Markern werden nur von Primer Y-20 amplifiziert.

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach DICE (1945) durchgeführt. Dieser variierte zwischen 0.837 und 1.0 und lag im Mittel bei 0.949. Damit liegt er auf gleicher Höhe wie bei *B. xantholeuca* (0.946), in *B. nidulans* lag der Dice-Index bei 0.914 und in *B. orthostachys* bei 0.874. Die paarweise berechneten Ähnlichkeiten wurden mittels einer Clusteranalyse graphisch aufgetrennt. Abb. 42 zeigt ein Dendrogramm der 6 Individuen aus *Niono-I*. Hierbei werden die beiden Sammeljahre in zwei Cluster aufgetrennt. Obwohl für das Sammeljahr 1994 nur eine Pflanzenprobe ausgewertet werden konnte, ist die Abtrennung zum Sammeljahr 1995 sehr deutlich. Aufgrund der geringen Individuenzahl wurden keine weiteren statistischen Auswertungen durchgeführt.

Tab. 23: Standort und Probenauswahl von *B. ramosa*

Proben-Nr.	Standort	Individuenzahl	Sammeljahr
B69	<i>Niono-I</i>	1	1994
B93 – B97	<i>Niono-I</i>	5	1995

Tab. 24: Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei *Brachiaria ramosa*

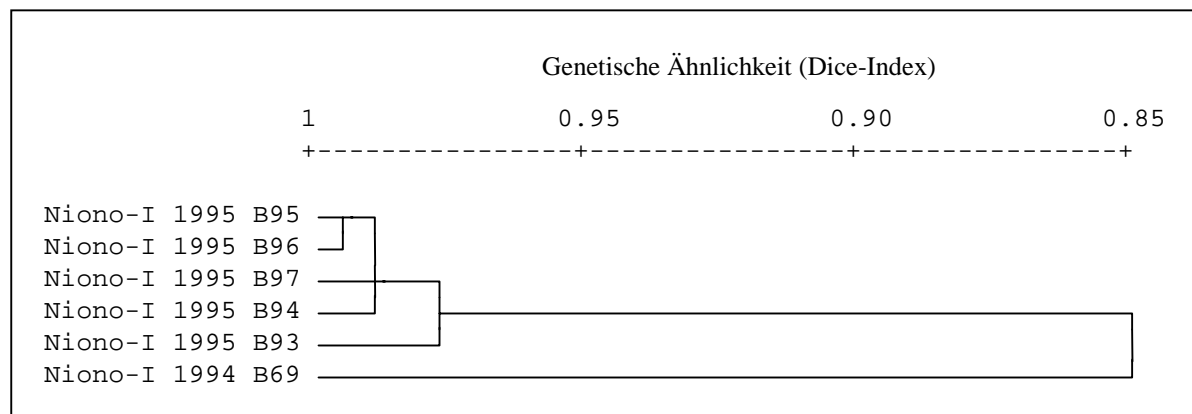
In der RAPD-Analyse wurden mit 10 Primern 6 Individuen untersucht und insgesamt 70 Marker amplifiziert.

Primer	A-01	A-04	A-07	A-18	B-08	B-18	T-06	Y-02	Y-16	Y-20	Σ
polymorph	0	0	0	0	1	3	3	3	0	11	21
monomorph	4	6	9	4	6	6	3	4	4	3	49
gesamt	4	6	9	4	7	9	6	7	4	14	70

Tab. 25: Artspezifische RAPD-Marker bei *B. ramosa*.

Anhand dieser 7 Marker ist eine eindeutige Identifizierung von *B. ramosa* Pflanzen möglich.

Standort	RAPD-Marker
<i>Niono-I</i>	A-07-875
<i>Niono-I</i>	A-18-726
<i>Niono-I</i>	A-18-932
<i>Niono-I</i>	T-06-418
<i>Niono-I</i>	T-06-800
<i>Niono-I</i>	Y-02-662
<i>Niono-I</i>	Y-02-1233

**Abb. 42:** UPGMA-Dendrogramm von *B. ramosa*.

Es wurden 6 Individuen aus den beiden Sammeljahre 1994 und 1995 ausgewertet.

Brachiararia lata wurde mit vier Individuen untersucht. Anhand der Clusteranalyse in Abb. 5 und den morphologischen Untersuchungen von Scholz (Tab. 5) konnten diese vier Pflanzenproben, die im Gelände zunächst fälschlicherweise als *B. ramosa* bestimmt wurden, *B. lata* zugeordnet werden. Die 10 eingesetzten Primer amplifizierten jeweils zwischen 5 und 12 RAPD-Marker. Von den insgesamt 79 RAPD-Marker waren 25 (31 %) polymorph und 54 (69 %) monomorph (Tab. 27). Zwei Primer (T-06, Y-16) amplifizierten keine polymorphen Marker. Besonders informativ waren die Primer A-01, A-18, B-08, T-06, Y-02, Y-16 und Y-20, die insgesamt 13 artspezifische Marker amplifizierten (Tab. 28). Wie schon bei *B. ramosa* beobachtet, konnte auch hier der Primer Y-20 mit 11 die höchste Anzahl polymorphe Marker amplifizieren (Tab. 27). Anhand dieser RAPD-Daten ist nun auch eine eindeutige Identifizierung von *B. lata* Pflanzen möglich.

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach DICE (1945) durchgeführt. Der Dice-Index variierte zwischen den einzelnen Individuen von 0. und 1.0 und lag im Mittel bei 0.926. Damit liegt dieser Wert deutlich unter dem von *B. lata*

(0.949) und *B. xantholeuca*, in *B. nidulans* lag der Dice-Index bei 0.914 und in *B. orthostachys* bei 0.874. Die paarweise berechneten Ähnlichkeiten wurden mittels einer Clusteranalyse graphisch aufgetrennt. Abb. 43 zeigt ein Dendrogramm der 4 Individuen aus *Niono-II*. Hierbei werden die beiden Sammeljahre in zwei Cluster aufgetrennt. Obwohl hier nur vier Individuen ausgewertet werden können, fällt auf, daß, ähnlich wie bei *B. ramosa*, eine Pflanzenprobe deutlich abgetrennt wird. Aufgrund der geringen Individuenzahl wurden keine weiteren statistischen Auswertungen durchgeführt.

Tab. 26: Standort und Probenauswahl von *Brachiaria lata*

Proben-Nr.	Standort	Individuenzahl	Sammeljahr
B70	<i>Niono-II</i>	1	1994
B98 – B100	<i>Niono-II</i>	3	1995

Tab. 27: Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei *B. lata*

Primer	A-01	A-04	A-07	A-18	B-08	B-18	T-06	Y-02	Y-16	Y-20	Σ
polymorph	1	1	1	2	3	4	0	2	0	11	25
monomorp	6	7	6	4	5	8	5	6	6	1	54
gesamt	7	8	7	6	8	12	5	8	6	12	79

Tab. 28: Artspezifische RAPD-Marker bei *Brachiaria lata*.

Anhand dieser 13 Marker ist eine eindeutige Identifizierung von *B. lata* Pflanzen möglich.

Standort	RAPD-Marker
<i>Niono-II</i>	A-01-1158
<i>Niono-II</i>	A-18-456
<i>Niono-II</i>	A-18-909
<i>Niono-II</i>	B-08-783
<i>Niono-II</i>	T-06-500
<i>Niono-II</i>	T-06-728
<i>Niono-II</i>	T-06-835
<i>Niono-II</i>	T-06-957
<i>Niono-II</i>	Y-02-590
<i>Niono-II</i>	Y-02-685
<i>Niono-II</i>	Y-16-547
<i>Niono-II</i>	Y-16-610
<i>Niono-II</i>	Y-20-685

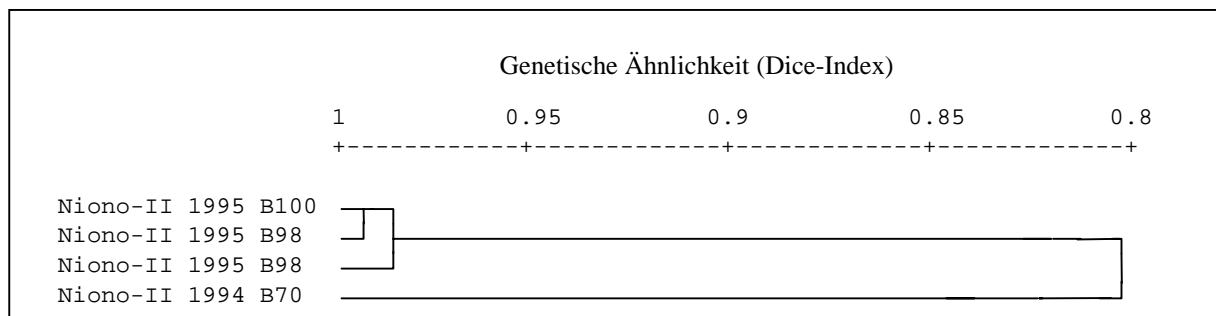


Abb. 43: UPGMA-Dendrogramm von 4 Individuen aus *B. lata*.

Es wurden 4 Individuen aus den beiden Sammeljahre 1994 und 1995 ausgewertet.

4.4 *Zornia glochidiata*

Eine weitere wichtige wildwachsende Futterpflanze im Sahel ist *Zornia glochidiata*. Im Unterschied zu *Brachiaria xantholeuca* wächst diese einjährige Leguminose auch auf stark laterisierten Böden (Man findet hier u. a. *Brachiaria distichophylla* und vereinzelt *B. ramosa*). Die Vegetation dieser Standorte ist bandförmig ausgerichtet und zeigt das typische Muster der Brousse tigree (KUSSEROW & HAENISCH 1999). Abb. 44 und Abb. 45 zeigen den Habitus von *Zornia glochidiata*.

Es wurden 80 Individuen aus 10 Standorten und drei Sammeljahren ausgewählt und mit sechs verschiedenen Primern analysiert (Tab. 29 und Tab. 30). *T1-T4* (*T1* siehe Abb. 11) sind Standorte auf lateritischen Plateaus südwestlich von Niamey (Abb. 9), die restlichen Standorte befinden sich auf Sandböden. Insgesamt konnten 56 RAPD-Marker ausgewertet werden, davon waren 26 (46 %) polymorph und 30 (54 %) monomorph. Die Primer amplifizierten zwischen 6 und 14 RAPD-Marker. Besonders informativ waren hierbei die Primer A-10, B-07 und Z-10, die RAPD-Marker identifizierten, die für einen Standort bzw. ein Sammeljahr spezifisch waren. Tab. 31 zeigt eine Auflistung dieser Marker. Am Standort *T4* konnte für die beiden Sammeljahre 1994 und 1995 je ein spezifischer RAPD-Marker identifiziert werden, für *Burkina* und *Tahoua* wurde jeweils ein standortspezifischer Marker gefunden.

Tab. 29: Auswahl der Standorte und Pflanzenproben von *Zornia glochidiata*.

T1 und *T3* wurden drei Jahre, *T2* und *T4* zwei Jahre beprobt. Informationen über die geographischen Lage und Beschreibung der Standorte im Untersuchungsgebiet siehe Abb. 9, Abb. 10. und Tab. 2.

Standort	Individuen	Sammeljahr	Proben-Nr.
<i>T 1</i>	5	1993	Z111- Z115
<i>T 1</i>	5	1994	Z116- Z120
<i>T 1</i>	5	1995	Z279- Z283
<i>T 2</i>	5	1994	Z134- Z138
<i>T 2</i>	5	1995	Z289- Z293
<i>T 3</i>	5	1994	Z144- Z148
<i>T 3</i>	5	1995	Z149- Z153
<i>T 3</i>	5	1996	Z299- Z303
<i>T 4</i>	5	1994	Z169- Z173
<i>T 4</i>	5	1995	Z309- Z313
<i>H 2</i>	5	1994	Z7- Z11
<i>H 3</i>	5	1994	Z17-Z21
<i>Tahoua</i>	10	1994	Z81- Z85, Z179- Z183
<i>Maradi</i>	3	1994	Z184- Z186
<i>Burkina</i>	1	1994	Z187
<i>Burkina</i>	5	1995	Z249- Z253
<i>Ouagadougou</i>	1	1994	Z188
<i>Gesamt</i>	80		



Abb. 44: *Zornia glochidiata* (Habitus) Diese Pflanze wurde auf dem eingezäunten ICRISAT-Versuchs-Gelände (kontrollierte Beweidung, Sandboden) gesammelt und hat eine Wuchshöhe von ca. 40 cm.

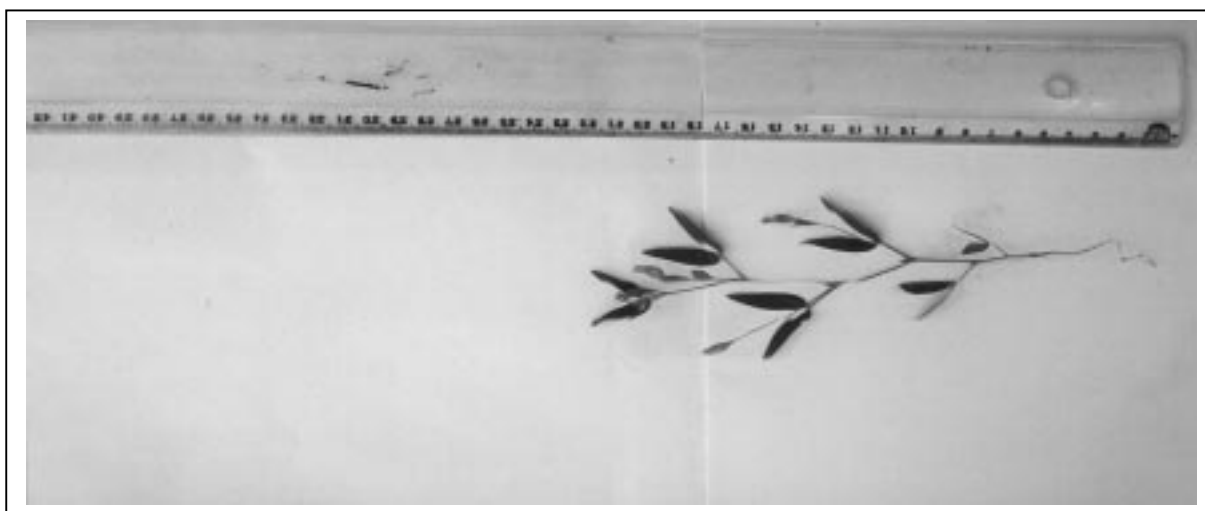


Abb. 45: *Zornia glochidiata* (Habitus) Diese Pflanze wurde am Standort T4 (hoher Beweidungsdruck, Lateritboden) entnommen und hat eine Wuchshöhe von etwa 20 cm.

Tab. 30: Auswahl von sechs polymorphen Primern für die RAPD-Analyse bei *Z. glochidiata*

	Primer	Basensequenz	RAPD-Marker	monomorph	polymorph
1	A-10	5`-GTGATCGCAG-3`	7	2	5
2	B-07	5`-GGTGACGCAG-3`	14	6	8
3	B-17	5`-AGGGAACGAG-3`	10	8	2
4	T-12	5`-GGGTGTGTAG-3`	6	1	5
5	T-13	5`-AGGACTGCCA-3`	9	6	3
6	Z-10	5`-CCGACAAACC-3`	10	7	3
gesamt			56	30	26

Tab. 31: Spezifische RAPD-Marker bei *Zornia glochidiata*

Für *Burkina* und *Tahoua* wurden je ein standortspezifischer Marker, für *T4* ein spezifischer Marker für die beiden Sammeljahre 1994 und 1995 identifiziert. (1) bedeutet, der Marker ist vorhanden; (0) der Marker fehlt, ist aber in allen anderen Standorten vorhanden. Angegeben sind der Name des Primers (z.B. Y-16) und die Molekulargewichtsgröße des Markers (in bp).

Standort	RAPD-Marker	vorhanden (1)	nicht vorhanden (0)
<i>T4</i> 1995	A-10-1410		0
<i>T4</i> 1994	B-07-577	1	
<i>Burkina</i>	B-07-1611	1	
<i>Tahoua</i>	Z-10-546	1	

4.4.1 Clusteranalyse bei *Zornia glochidiata*

Die Berechnung der genetischen Ähnlichkeit wurde mit dem Assoziationskoeffizient nach DICE (1945) durchgeführt. Dieser Dice-Index variierte von 0.871 bis 1.0 und betrug im Mittel 0.947.

Mittels einer Clusteranalyse wurden die Dice-Indices der 80 Individuen aus 10 Standorten nach der UPGMA-Methode statistisch ausgewertet und die Ergebnisse in einem Dendrogramm graphisch dargestellt. Abb. 46 verdeutlicht, daß die genetische Variabilität bei *Z. glochidiata* sehr groß ist und, im Unterschied zu *Brachiaria*, eine Auftrennung einzelner Standorte nicht oder nur unvollständig stattfindet. Obwohl für *T1* und *T3* jeweils drei Sammeljahre (15 Individuen pro Standort) ausgewertet wurden, können die Sammeljahre nicht diskriminiert werden. Gleiches gilt für *T2* und *Burkina*, hier wurden jeweils zwei Sammeljahre ausgewertet. Es werden hingegen mehrere kleine Cluster gebildet, von denen sich aber nur zwei deutlich abgrenzen und nur Individuen aus einem Standort zeigen. Diese sind *T3-1995* und *T4-1994*. Ein weiteres Cluster kann für den Standort *H3-1994* beobachtet werden, allerdings fehlt hier ein Individuum. Die restlichen Standorte und Sammeljahre werden nicht in separate Cluster aufgegliedert und sind im Dendrogramm verstreut angeordnet.

Da für *T1* und *T3* jeweils drei Sammeljahre 1993, 1994 und 1995 gesammelt wurden, werden diese Standorte im folgenden getrennt analysiert.

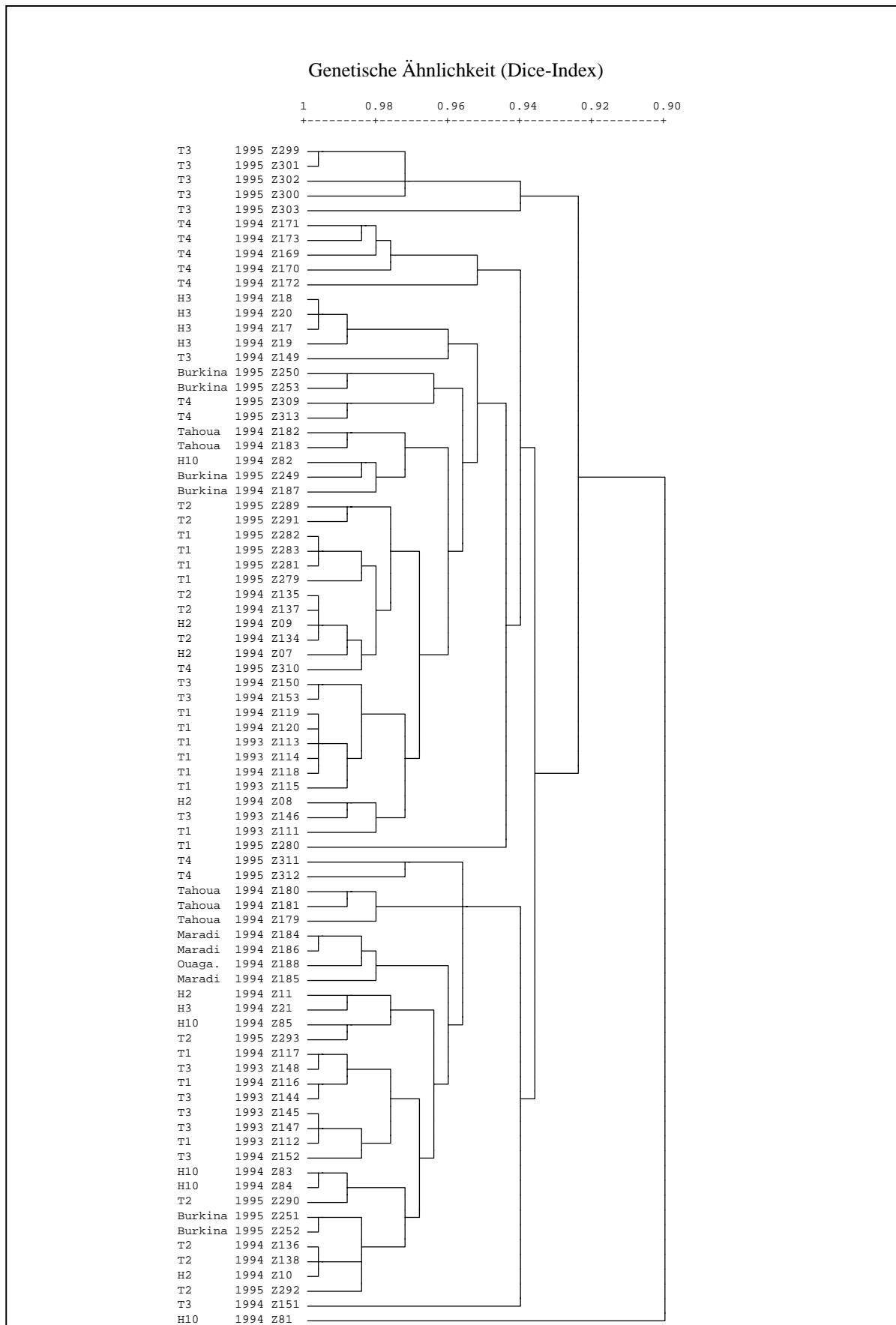


Abb. 46: UPGMA-Dendrogramm von *Zornia glochidiata*
Es wurden 80 Individuen aus 10 Standorten und drei Sammeljahren ausgewertet.

4.4.2 RAPD-Untersuchungen am Standort *T1*

T1 befindet sich auf einem lateritischen Plateau der Brousse tigrè südwestlich von Niamey. Abb. 11 zeigt ein Bild des Standortes *T1*. Es wurden 15 Individuen aus den drei Sammeljahren 1993–1995 ausgewählt und eine Clusteranalyse durchgeführt. Abb. 47 zeigt ein Dendrogramm des Standortes *T1*. Trotz der hohen genetischen Variabilität innerhalb dieses Standortes, ist eine leichte Abtrennung des Sammeljahres 1995 sichtbar, die Individuen aus 1993 und 1994 werden hingegen nicht voneinander diskriminiert.

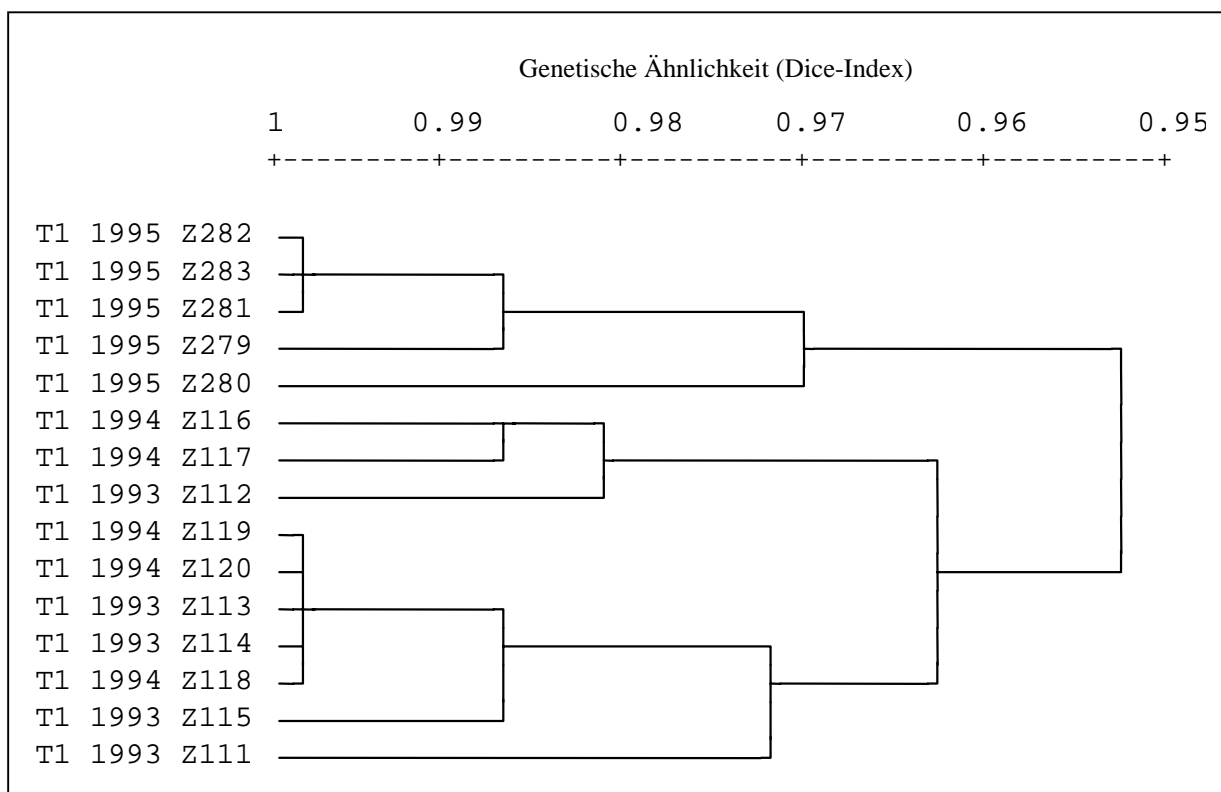


Abb. 47: UPGMA-Dendrogramm des Standortes *T1* bei *Z. glochidiata*
Es wurden jeweils 5 Proben der Sammeljahre 1993, 1994 und 1995 untersucht.

Nähere Informationen über den Grad der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen den drei Stichproben wurden über eine Varianzanalyse (WINAMOVA) ermittelt. Dazu wurden für die Sammeljahre drei Gruppen definiert und die Varianzkomponenten innerhalb und zwischen diesen Gruppen berechnet. In Tab. 32 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse zusammengefaßt. Danach lag der Anteil einzelner Sammeljahre an der Gesamtvarianz zwischen 24 % und 44 %. Dies bedeutet, daß alle drei Sammeljahre einen starken Einfluß auf die Variabilität der Stichprobe am Standort *T1* nehmen. Die Gesamtvarianz läßt sich zu 46.12 % auf genetische Unterschiede zwischen den einzelnen Sammeljahren und zu 53.88 % auf individuelle Unterschiede innerhalb der Sammeljahre zurückführen. Auf der Basis dieser

RAPD-Daten können am Standort *T1* keine Sammeljahre eindeutig diskriminiert werden. Zum einen ist die Anzahl der untersuchten Individuen sehr niedrig, zum anderen erklärt sich die Gesamtvarianz fast zu gleichen Teilen auf genetische Unterschiede zwischen als auch innerhalb der Sammeljahre. Weiterhin konnten keine spezifischen RAPD-Marker gefunden werden, die eine Charakterisierung einzelner Sammeljahre ermöglicht.

Tab. 32: Ergebnisse der Varianzanalyse des Standortes *T1* bei *Z. glochidiata*
Es wurden drei Sammeljahre 1993, 1994 und 1995 mit insgesamt 15 Individuen untersucht.

n-1	= Freiheitsgrad
Sum of Squares (SQ)	= Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
Varianz (SQ/ n-1)	= Varianzkomponente aus Sum of Squares / Freiheitsgrad
Varianz (%)	= Anteil in % an der Gesamtvarianz innerhalb von Populationen

Gruppen	n-1	Sum of Squares	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)
<i>T1</i> 1993	4	4.40	1.10	44.00
<i>T1</i> 1994	4	3.20	0.80	32.00
<i>T1</i> 1995	4	2.40	0.60	24.00
zwischen Gruppen	2	8.80	4.40	46.12
innerhalb Gruppen	12	10.00	0.83	53.88

4.4.3 RAPD-Untersuchungen am Standort *T3*

Der Standort *T3* befindet sich wie auch *T1* auf einem lateritischen Plateau der Brousse tigrè südwestlich von Niamey. Es wurden 15 Proben aus den drei Sammeljahren 1993–1995 ausgewählt und eine Clusteranalyse durchgeführt. Abb. 48 zeigt ein Dendrogramm des Standortes *T1*. Es findet, ähnlich wie bei *T1*, eine Abtrennung des Sammeljahres 1995 statt, die beiden anderen Sammeljahre 1993 und 1994 werden nicht getrennt gruppiert.

Es wurde eine Varianzanalyse durchgeführt, dazu für die Sammeljahre drei Gruppen definiert und die Varianzkomponenten innerhalb und zwischen diesen Gruppen berechnet. In Tab. 33 sind die Ergebnisse dieser Varianzanalyse zusammengefaßt. Danach lag der Anteil einzelner Sammeljahre an der Gesamtvarianz zwischen 28.2 % und 35.9 %. Dies bedeutet, daß die drei Sammeljahre einen gleichgroßen Einfluß auf die Variabilität der Stichprobe am Standort *T3* haben. Die Gesamtvarianz läßt sich mit 50.76 % auf genetische Unterschiede zwischen den Sammeljahren und zu 49.24 % auf individuelle Unterschiede innerhalb der drei Sammeljahre zurückführen. Damit ist, ähnlich wie bei *T1*, anhand der RAPD-Daten keine Diskriminierung der drei Sammeljahre möglich.

Zusammenfassend kann für die Futterpflanze *Zornia glochidiata* festgestellt werden:

Die genetische Variabilität ist sehr groß. Obwohl von den insgesamt 56 identifizierten RAPD-Markern 26 (46 %) polymorph sind, können die Standorte nicht klar diskriminiert werden. Der Anteil standortspezifischer Marker ist gering (2 für *T4* und 2 für *Burkina* und *Tahoua*). Eine Auftrennung zweier bzw. dreier Sammeljahre ist nicht möglich. Dies unterscheidet *Z. glochidiata* deutlich von den *Brachiaria*-Arten. Allerdings wurden für *Zornia* nur 6 Primer und 56 RAPD-Marker, bei *Brachiaria* aber 10 Primer und 111 RAPD-Marker untersucht wurden.

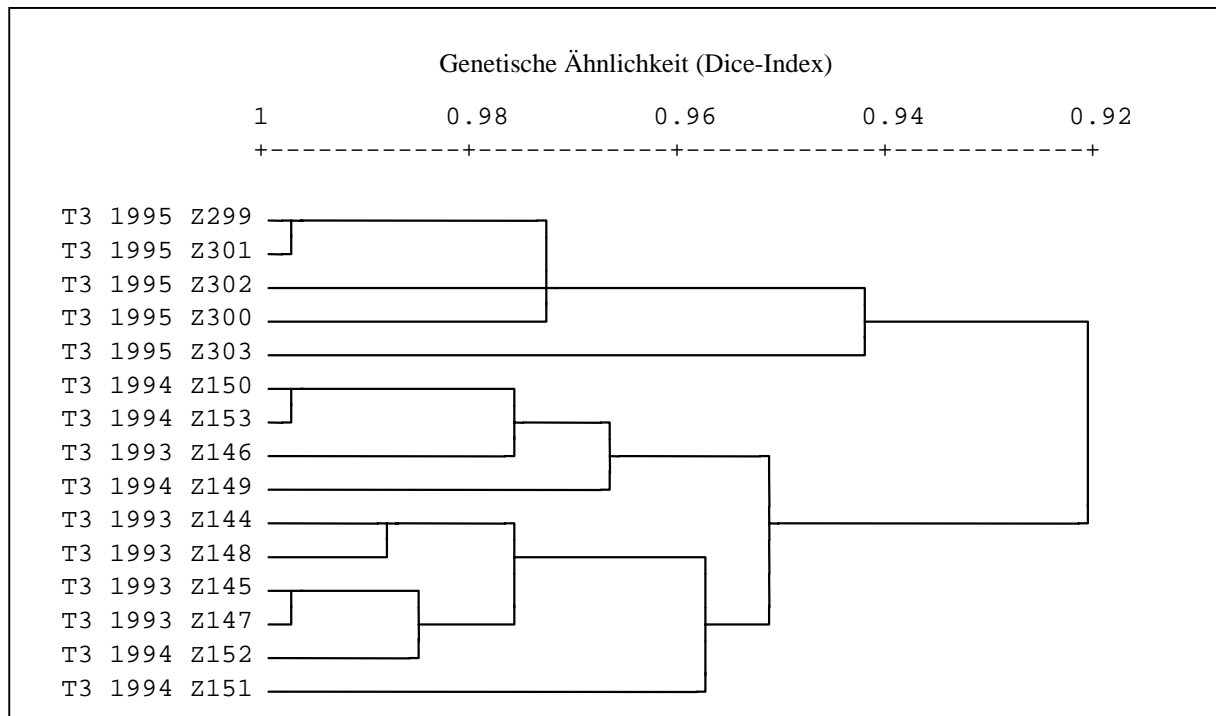


Abb. 48: UPGMA-Dendrogramm des Standortes *T3* bei *Z. glochidiata*
Es wurden jeweils 5 Proben der Sammeljahre 1993, 1994 und 1995 untersucht

Tab. 33: Ergebnisse der Varianzanalyse des Standortes *T3* bei *Z. glochidiata*
Es wurden drei Sammeljahre 1993, 1994 und 1995 mit insgesamt 15 Individuen untersucht.

n-1	= Freiheitsgrad
Sum of Squares (SQ)	= Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert
Varianz (SQ/ n-1)	= Varianzkomponente aus Sum of Squares / Freiheitsgrad
Varianz (%)	= Anteil in % an der Gesamtvarianz innerhalb von Populationen

Gruppen	n-1	Sum of Suares	Varianz (SQ/n-1)	Varianz (%)
<i>T3</i> 1993	4	4.40	1.10	28.20
<i>T3</i> 1994	4	5.60	1.40	35.90
<i>T3</i> 1995	4	5.60	1.40	35.90
zwischen Gruppen	2	16.00	8.00	50.76
innerhalb Gruppen	12	15.60	1.30	49.24

5. Diskussion

Im Rahmen des Forschungsprojektes „*Patterns of genetic diversity in wild forage species and in situ conservation in the Sahel*“ wurden in der vorliegenden Arbeit folgende Untersuchungsschwerpunkte definiert:

- Die Etablierung von Versuchsprotokollen, die eine optimale Untersuchung der ausgewählten Zielarten mit der RAPD-Analyse ermöglichen. Darunter wird neben der Sammlung und Lagerung die Aufbereitung und Analyse von Blattproben verstanden.
- Die Auswertung der genetischen Daten mit Hilfe statistischer Methoden. Folgende Fragestellungen stehen dabei im Vordergrund: Besteht ein Zusammenhang zwischen dem regionalen Verteilungsmuster ausgewählter Zielarten und ihrer genetischen Diversität; Unterscheiden sich Arten in ihrem genetischen Muster in Abhängigkeit edaphischer und klimatischer Prozesse? Verändert sich das genetische Muster über mehrere Sammeljahre hinweg?

Zunächst wird die in den molekulargenetischen Untersuchungen eingesetzte RAPD-PCR diskutiert, wobei besonders auf die Probleme und Grenzen dieser empfindlichen Analysetechnik eingegangen wird (1). Im Anschluß werden Futterpflanzen in der Sahelzone im allgemeinen und die beiden Zielarten *Brachiaria* und *Zornia* im besonderen erörtert (2). Schließlich soll diskutiert werden, ob und inwieweit die hier beschriebenen Ergebnisse im Ressourcenschutz afrikanischer Futtergräser eingesetzt werden können (3).

(1) RAPD-Technik

Die RAPD-PCR-Technik wurde von WILLIAMS et al. (1990) und WELSH & McCLELLAND (1990) zeitgleich entwickelt und gehört heute zu den am häufigsten angewendeten molekulargenetischen Analysemethoden. Durch die einfache und schnelle Versuchsdurchführung kann die RAPD-PCR universell eingesetzt werden und erreicht somit die unterschiedlichsten Arbeitsbereiche der modernen Molekulargenetik (TINGEY et al. 1992; HADRYŚ et al. 1992).

Die hier untersuchten, wildwachsenden Futterpflanzen *Brachiaria* und *Zornia* wurden bisher nicht molekulargenetisch untersucht. Es gibt nur wenige Versuchsprotokolle zur DNA-

Extraktion von getrockneten Pflanzen. In den meisten bisher durchgeführten molekular-genetischen Untersuchungen konnte man auf frisches Pflanzenmaterial zurückgreifen, so daß ausreichende Voruntersuchungen möglich waren. Aus diesem Grund stand hier zunächst die Erarbeitung eines DNA-Extraktionsprotokolls im Vordergrund.

Da zu Beginn der praktischen Arbeiten noch kein getrocknetes Pflanzenmaterial aus der Sahelzone zur Verfügung stand, wurden erste Vorversuche mit einheimischen Gräsern durchgeführt. Im Oktober 1994 konnten dann mit ersten Blattproben der fünf Zielarten *Brachiaria*, *Zornia*, *Alysicarpus*, *Cenchrus* und *Dactyloctenium* DNA-Extraktionen durchgeführt werden. Die besten Ergebnisse wurden bei den Gattungen *Brachiaria* und *Zornia* erzielt, so daß zunächst nur diese beiden Pflanzen mit RAPD-Markern analysiert wurden.

Basierend auf der RAPD-Prozedur von WILLIAMS et al. (1990) wurde für die beiden Pflanzenarten ein Standardprotokoll erstellt, das reproduzierbare und informative Marker erzeugte. Dieses Protokoll wich in einigen Punkten vom Originalprotokoll ab. So wurden im einzelnen die Konzentrationen für Magnesiumchlorid ($MgCl_2$), der pH-Wert des PCR-Puffers, die Konzentration der Pflanzen-DNA, die Anzahl der Reaktionszyklen sowie die Annealingtemperatur des PCR-Profils geringfügig geändert. Neben der besonderen Auswahl der *Taq*-DNA-Polymerase stellen die o. g. Faktoren in vielen RAPD-Studien bei Pflanzen, Bakterien und Pilzen stellen die o.g. Faktoren wichtige Variablen der RAPD-PCR dar (WILLIAMS et al. 1993; MACPHERSON et al. 1993; DEVOS & GALE 1992).

Die Einstellung der optimalen DNA-Konzentration ist stark von der jeweiligen Pflanzenart abhängig. So werden im allgemeinen Konzentrationen zwischen 1-500 ng DNA pro PCR-Reaktion verwendet. MUNTHALI et al. (1992) beispielsweise untersuchten DNA von Reis und Bananen mit RAPD-Markern und stellten fest, daß die optimale DNA-Konzentration bei Reis 170 ng und für Bananen 7 ng pro Reaktion betrug. DEVOS & GALE (1992) fanden bei RAPD-Untersuchungen an Weizen heraus, daß zu niedrige DNA-Konzentrationen (< 5ng) in der Regel zu variablen, nicht reproduzierbaren Bandenmuster führten, da die Wahrscheinlichkeit der Bildung neuer Primer-Template-Komplexe mit der DNA-Menge korreliert ist (WILLIAMS et al. 1993, WEISING et al. 1995). Zu hohe Konzentrationen hingegen führten zu unspezifischen Bandenmuster bzw. höher molekularen Fragmenten, die nach Anfärbung des Agarosegels mit Ethidiumbromid dann als „Schmier“ sichtbar wurden. In der vorliegenden Arbeit konnten mit DNA-Konzentrationen von 10-50 ng reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Damit liegt dieser Wert im Bereich derer anderer RAPD-Untersuchungen bei Gräsern (*Panicum sp.*, M'RIBU & HILU 1994; *Panicum virgatum*, GUNTER et al. 1996; *Stylosanthes*, KAZAN et al. 1993; *Buchloè*, HUFF et al. 1993).

Neben der Konzentration spielt in der RAPD-PCR die Qualität der DNA eine wichtige Rolle. Bei *Brachiaria* und *Zornia* führten stark verunreinigte DNA zu keinem oder sehr variablem Bandenmuster. Erst nach wiederholtem Aufreinigen und Verdünnen der DNA-Proben konnten die Ergebnisse reproduziert werden.

MgCl₂ (Magnesiumchlorid) beeinflusst die Polymeraseaktivität und stabilisiert den Primer-Template-Komplex, führt aber bei unterschiedlichen Konzentrationen oft zu nicht reproduzierbaren Bandenmuster (WILLIAMS et al. 1991, 1993; WOLFF et al. 1993). Die optimale MgCl₂-Konzentration ist abhängig von der Auswahl des Primers und der DNA, wobei Konzentrationen >5mM in der Regel die Polymeraseaktivität hemmen, da es zu Interaktionen mit freien Nukleotiden kommt (ROLFS et al. 1992). Die hier beschriebenen RAPD-Analysen wurden mit 2.5 mM MgCl₂ durchgeführt und entsprachen damit den Protokollen von WILLIAMS et al. (1990) und WEISING et al. (1995).

Der Einsatz von *Taq*-DNA-Polymerasen verschiedener Hersteller führt oft zu unterschiedlichen RAPD-Bandenmuster, wodurch eine Reproduzierbarkeit nicht mehr möglich ist. Untersuchungen von SCHIERWATER & ENDER (1993) und MEUNIER & GRIMAUULT (1993) bestätigen dies, wobei sich die RAPD-Bandenmuster in Intensität, Größe und Anzahl der Fragmente stark voneinander unterscheiden. Die Ursachen dafür liegen wahrscheinlich in der unterschiedlichen Hitzestabilität einzelner Polymerasen. Das RAPD-Profil des Thermocyclers nimmt dabei einen entscheidenden Einfluß auf die Aktivität des Enzyms ein. So beträgt die Halbwertszeit der *Taq*-DNA-Polymerase 40 min bei 95°C und 130 min bei 92.5 °C (INNIS et al. 1990).

Die Annealing-Temperatur betrug für beide Futterpflanzen *Brachiaria* und *Zornia* 40°C und lag damit deutlich über den Werten anderer RAPD-Untersuchungen. So konnten KAZAN et al. (1992) *Stylosanthes*-Gräser aus Australien mit 37°C, M'RIBU & HILU (1994) verschiedene *Panicum*-Arten und HUFF et al. (1993) das Büffelgrass *Buchloè* mit nur 36°C untersuchen. Annealing-Temperaturen unter 38°C führten allerdings bei *Brachiaria* und *Zornia* zu stärkerem Hintergrund bzw. nicht reproduzierbaren Bandenmuster. Dies steht im Einklang mit Untersuchungen an Sojabohnen von WILLIAMS et al. (1990), die bei leichten Temperaturänderungen um +/- 1°C bei einer Annealing-Temperatur von 36 °C Unterschiede in der Anzahl und Intensität der RAPD-Fragmente beobachteten.

Kommen in einer RAPD-Analyse verschiedene oder mehrere Thermocycler des gleichen Typs zum Einsatz, sind ebenfalls Unterschiede im Bandenmuster die Folge (HOELZEL 1990; MACPHERSON et al. 1993). Die Ursache dafür liegt in den unterschiedliche Aufheiz- und Abkühlraten der Thermocycler. In der vorliegenden Arbeit wurden die RAPD-Analysen von *Brachiaria* auf einem luftgekühlten Thermocycler (*Hybaid Omnigene*) durchgeführt, der für

das gleiche RAPD-Profil etwa 60 min länger benötigte als ein mit einem Peltier-Element ausgestatteter Thermocycler (*MJ-Research PTC-200*), der für *Zornia*-Analysen eingesetzt wurde.

Die einfache und schnelle Durchführung der RAPD-Technik ermöglicht die Untersuchung großer Individuenzahlen bei gleichzeitiger hoher Ausbeute an molekulargenetischen Markern. Die viel diskutierte mangelnde Reproduzierbarkeit von RAPD-Markern stellt dabei zunächst einen entscheidenden Nachteil dar (WEEDEN et al. 1992). In vielen Veröffentlichungen (siehe oben) wurde deshalb darauf hingewiesen, nicht auf bereits bestehende RAPD-Protokolle zu vertrauen, sondern für jedes RAPD-Experiment ein optimales Versuchsprotokoll zu erarbeiten, damit die Ausbeute und Reproduzierbarkeit der RAPD-Analyse gewährleistet ist. Durch Wiederholung der RAPD-Analyse unter gleichen Reaktionsbedingungen kann somit die Fehlerrate auf ein Minimum reduziert werden.

Die Auswahl geeigneter Primer war für *Brachiaria* einfacher durchzuführen als für *Zornia*. Die meisten der insgesamt 100 für *Brachiaria* getesteten Primer konnten die fünf untersuchten Arten differenzieren. Für die RAPD-Analysen der fünf *Brachiaria*-Arten wurden letztlich 10 Primer ausgewählt werden, die polymorphe und reproduzierbare Bandenmuster lieferten. Für *Zornia* gestaltete sich die Suche nach informativen Primern insofern schwieriger, da nur eine Art untersucht wurde. Ein Großteil der insgesamt 120 getesteten Primer konnte nicht für weitere Versuche eingesetzt werden, da oft kein Bandenmuster sichtbar war oder keine polymorphen RAPD-Marker produziert wurden. Deshalb wurden hier zunächst nur 6 Primer ausgewertet.

Entscheidend in einer RAPD-Analyse sind aber nicht die Anzahl eingesetzter Primer, sondern die Ausbeute an informativen und polymorphen RAPD-Markern. Jeder Primer besteht aus einer willkürlich gewählten „random“-Basensequenz, die so gewählt wurde, daß sie möglichst nicht zu spezifischen DNA-Abschnitten (z.B. Gene, Restriktionsschnittstellen) komplementär ist. Berechnet man die genetischen Variabilität einer Population, sollten deshalb alle amplifizierten RAPD-Marker zunächst unabhängig voneinander behandelt werden. Primer werden erst dann in die Berechnungen mit einbezogen, wenn eine Charakterisierung bzw. Identifizierung einer Population oder Pflanzenart gefordert ist. RAPD-Untersuchungen anderer natürlicher Pflanzenpopulationen zeigten, daß nicht mehr als 10 Primer notwendig sind, um ausreichend informative RAPD-Marker zu erhalten. So konnten z.B. HILU et al. (1997) mit 8 Primer fünf verschiedene Hirse-Arten der Gattung *Digitaria* differenzieren, wobei insgesamt 112 polymorphe RAPD-Marker erzeugt wurden. MRIBU et al. (1994) setzten 11 Primer bei vier Hirse-Arten der Gattung *Panicum* ein. Hierbei konnten aus 294 Markern für jede Art im Durchschnitt 33 spezifische RAPD-Marker identifiziert werden.

HUFF et al. (1993) differenzierten vier Populationen des Büffelgrass *Buchloè* aus Mexiko und Texas anhand von 7 Primer und 98 polymorphen RAPD-Markern. SHAH et al. (1994) fanden mit 9 Primern 41 polymorphe RAPD-Marker bei der Ölpalme *Elaeis* in verschiedenen Ländern West- und Zentralafrikas. In *Brachiaria* wurden mit 10 Primer insgesamt 250 RAPD-Marker identifiziert, davon waren 248 polymorph und zwei monomorph. Jeder Primer amplifizierte zwischen 14 und 35 RAPD-Marker.

Die Auswertung der fünf *Brachiaria*-Arten ergab zwischen 65 und 111 Markern. Der Anteil polymorpher Marker betrug bei *B. xantholeuca* 81 %, *B. nidulans* 63 %, *B. orthostachys* 62 %, *B. ramosa* 30 % und *B. lata* 31 %. Aufgrund der unterschiedlich großen Stichprobenzahlen sind diese Werte nicht ohne Einschränkung miteinander vergleichbar. *B. xantholeuca* zeigt zwar die höchste genetische Variabilität, stellt aber auch gleichzeitig mit 188 Individuen die größte Stichprobe innerhalb der Gattung *Brachiaria* dar. *B. ramosa* und *B. lata* hingegen sind mit 6 bzw. 4 Individuen die kleinsten Stichproben und weisen die niedrigste genetische Variabilität auf. Damit ist offensichtlich bei *Brachiaria* die Anzahl polymorpher Marker mit der Stichprobenzahl korreliert, wobei die genetischen Unterschiede auf dem Individuenlevel den größten Einfluß auf die genetische Variabilität der Stichprobe nehmen. An dieser Stelle wird auf eine weitere Fehlerquelle der RAPD-PCR hingewiesen, die besonders dann von Bedeutung ist, wenn z.B. wie hier verschiedene Arten einer Gattung verglichen werden. RAPD-Fragmente liefern nur eine begrenzte Sequenzinformation. Im Unterschied zu RFLP-Marker ist bei RAPD-Markern nur die Anfang- und die Endsequenz des Amplicons bekannt. Dies kann z.B. bedeuten, daß zwei RAPD-Marker, die in einem Agarosegel die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit aufweisen, in der Auswertung als genetisch identisch bewertet werden, obwohl sie sich an zwei unterschiedlichen Stellen des Genoms befinden. Weiterhin erhält man keinerlei Information über die Basensequenz zwischen den beiden Primerenden. Um diesen Fehler und damit resultierende Fehlinterpretationen so klein wie möglich zu halten, können solche RAPD-Marker isoliert und als Sonde in einer DNA-DNA-Hybridisierung eingesetzt werden. Damit ist eine Differenzierung unterschiedlicher Loci möglich (WILLIAMS et al. 1993). In einer RAPD-Studie untersuchten THORMANN et al. (1994) die Verwandtschaftsbeziehungen dreier *Brassica*-Arten zueinander und fanden heraus, daß genetisch identische Amplicons nur bei sehr nahe verwandten Arten auftreten, so z.B. bei *Brassica rapa* (A-Genom) und der allotetraploiden Art *Brassica juncea* (AB-Genom). Bei *Brassica oleracea* und *Brassica napus* (C-Genom und AC-Genom) wurden hingegen keine Hybridisierungen gleich großer DNA-Fragmente beobachtet. Die Wahrscheinlichkeit, daß Amplicons gleichen Molekulargewichtes genetisch identisch sind, schätzen WILLIAMS et al. (1993) mit 10 % ein. Um diesen Fehler möglichst gering zu halten, können Agarosegele oder

Polyacrylamidgele mit größerem Auftrennungsvermögen eingesetzt werden. Dadurch ist es möglich, DNA-Fragmente zu differenzieren, bei denen sich das Molekulargewicht um nur wenige Basen unterscheidet (ROLFS et al. 1992). In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe spezieller Software (RFLPscan) die RAPD-Bandenmuster ausgewertet. Hierbei war durch das zusätzliche Auftragen eines DNA-Längenstandards auf jedes Agarosegels eine exakte Bestimmung des Molekulargewichtes einzelner Marker möglich.

(2) Futterpflanzen in der Sahelzone

In der Sahelzone gibt es eine ganze Reihe von Futterpflanzen, die unter den dortigen natürlichen Verhältnissen und ohne Zutun des Menschen gedeihen. Dazu gehören einjährige und ausdauernde Gräser und Kräuter, sowie Sträucher und Bäume, deren Blätter und Früchte für die Ernährung der Tiere von Bedeutung sind. Das Gedeihen der Futterpflanzen hängt im wesentlichen von der Niederschlagsmenge und deren Verteilung innerhalb der Regenmonate ab. BARTHA (1970) unterscheidet hierbei verschiedene Gruppen von Futterpflanzen, die sich in der Regenperiode und der trockenen Jahreszeit in ihrer Anpassung an Hitze und Wasserstreß unterscheiden. So beschreibt er Futterpflanzen, die während der Regenmonate ein starkes Wachstum aufweisen, aber verhältnismäßig rasch verholzen bzw. ihre Blätter am Ende der Regenzeit verlieren (z.B. *Sesbania leptocarpa*); andere Futterpflanzen zerfallen sofort zu Beginn der Trockenzeit und stehen den Tieren als Trockenweide nicht mehr zur Verfügung (*Panicum laetum*, *Dactyloctenium aegyptium*). Da es in der Sahelzone im allgemeinen nicht üblich ist, die Weiden während der Regenzeit zu mähen und viele Nomaden ihr Vieh in den Norden des Sahels getrieben haben, findet die Abweidung des Grünfutters nicht in vollem Umfang statt. Es bleiben somit wertvolle Futterpflanzen ungenutzt stehen und vertrocknen mit Beginn der Trockenzeit. Besser geeignet hierfür sind Futterpflanzen, die am Halm abtrocknen und dann als Trockenweide die gesamte Trockenzeit hindurch die Ernährung der Tiere sichern (*Aristida mutabilis*, *Zornia glochidiata*, *Brachiaria* sp.). Dazu gehören auch solche Pflanzen, die einen großen Teil oder sogar die ganze Trockenzeit über grün bleiben, allerdings werden diese meistens schon zu Beginn der Trockenperiode abgefressen (*Tephrosia purpurea*).

Um den Energiewert einer Pflanze zu berechnen, wurden von BARTHA (1970) Futterpflanzen im Sahel zum Zeitpunkt der vollen Blüte gesammelt, getrocknet und Rohprotein, Rohfaser, Rohfette, Mineralien und andere Inhaltsstoffe untersucht und aus diesen Daten für jede Pflanzenart eine Testzahl berechnet. Unberücksichtigt blieben hierbei wichtige Kriterien wie z.B. der Flächenertrag, Verhalten gegenüber zunehmender Trockenheit oder starker Beweidung, die Akzeptanz und Verträglichkeit während der Futterraufnahme. Nach diesen Berechnungen zeigten Pflanzen aus der Familie der *Poaceae* die höchsten Werte, beginnend

mit *Brachiaria ramosa*, *Panicum laetum* und *Cenchrus biflorus*, gefolgt von *Aristida stipoides* und *Aristida pallida*. Bei der Futteraufnahme standen die drei erstgenannten Arten ebenfalls an der Spitze der Beliebtheit bei den Tieren. BARTHA betont allerdings, daß diese Staffelung nur während der Regenzeit bzw. zum Zeitpunkt der Blüte ihre Gültigkeit hat. In der Trockenperiode nimmt die Qualität der Futterpflanze rapide ab und erreicht nur noch sehr niedrige Testzahlen. Andererseits bildet z.B. die Blüte bei *Cenchrus biflorus* nach der Samenreife Stacheln aus und wird deshalb vom Vieh gemieden. Aufgrund des wesentlich höheren Eiweißanteils liegen die Testzahlen für Leguminosen deutlich höher und verdeutlichen damit ihre besondere Bedeutung als Bestandteile der Weiden. In einem Vergleich mit Angaben der DLG (Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft) stehen der Weißklee (*Trifolium repens*), die weiße Süßlupine (*Lupinus albus*) sowie der Rotklee (*Trifolium pratense*) qualitativ an der Spitze deutscher Weideleguminosen, wobei sich letztgenannter etwa auf der Höhe der afrikanischen Gräser *Brachiaria ramosa* und *Panicum laetum* befindet. Afrikanische Futterleguminosen können aber ohne weiteres mit dieser Futterqualität mithalten, so erreichen sie mit *Sesbania leptocarpa* und *Indigofera aspera* Testzahlen über denen des Weißkleees und mit *Crotalaria podocarpa* Testzahlen in der Höhe der weißen Süßlupine. *Zornia glochidiata* liegt qualitativ etwas und *Alysicarpus ovalifolius* deutlich unter dem Rotklee. Als qualitativ niedrig werden von BARTHA (1970) die im Sahel weit verbreiteteten Futtergräser *Andropogon gayanus*, *Aristida stipoides* und *Schoenefeldia gracilis* eingestuft.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 309 Pflanzenproben verschiedener *Brachiaria*-Arten und 80 Pflanzenproben von *Zornia glochidiata* mit RAPD-Markern untersucht. Da eine Bestimmung der *Brachiaria*-Arten im Gelände zeitaufwändig war und zu diesem Zeitpunkt noch keine molekulargenetischen Daten zur genauen Identifizierung vorlagen, wurden ein Teil der gesammelten Blattproben von Prof. Scholz (FU Berlin) morphologisch und gleichzeitig in Giessen molekulargenetisch untersucht. Mit Ausnahme zweier Pflanzenproben aus *Diffa-I*, stimmten die Gruppierungen aus der Clusteranalyse mit den Ergebnissen von Scholz übereinstimmten. Nun war es möglich, 307 der 309 gesammelten und untersuchten Pflanzenproben in fünf *Brachiaria*-Arten (*B. xantholeuca*, *B. nidulans*, *B. orthostachys*, *B. ramosa* und *B. lata*) einzuordnen. *B. nidulans* wurde von Scholz neukombiniert und mit den vier *Brachiaria*-Arten in die Gattung *Urochloa* eingeordnet (KUSSEROW et al. 1999b). Scholz diskutiert hierbei alle in den Tropen verbreiteten Arten der Gattung *Brachiaria*.

Die hohe Übereinstimmung zwischen der morphologischen und molekulargenetischen Untersuchung zeigte, daß die RAPD-Methode generell dazu geeignet ist, nah verwandte

Pflanzenarten zu diskriminieren. Mit Hilfe polymorpher RAPD-Marker können Pflanzenproben nachträglich taxonomisch eingeordnet werden, die im Gelände durch Verbiß keine morphologischen Unterscheidungsmerkmale mehr aufweisen. An dieser Stelle sei nochmals auf die Problematik der Pflanzensammlungen im Gelände hingewiesen. An den meisten Standorten wurden die erforderlichen 10 Individuen nicht gefunden, nach der molekulargenetischen Analyse stellte sich zudem heraus, daß neben den beiden (gut zu unterscheidenden) Arten *B. xantholeuca* und *B. ramosa* noch weitere drei Arten gesammelt wurden. Dies reduzierte den Stichprobenumfang pro Art zusätzlich.

Zu Beginn der Projektplanung durch das IPGRI-Rom aus der 2. Hälfte der 80er Jahre waren zunächst keine molekulargenetischen Analysen vorgesehen, vielmehr sollten die Futterpflanzen mit biochemischen Markern (Isozymanalyse) untersucht werden.

Da sich zu Beginn der 90er Jahre in der Molekulargenetik die PCR-Technik und mit ihr die RAPD-Methode etablierte, wurde diese Analysetechnik mit den o.g. Fragestellungen in das Gesamtprojekt aufgenommen. Hierbei wurde die Anzahl der zu untersuchenden Standorte beibehalten und die Stichprobengröße mit 10 bzw. 20 Individuen pro Standort festgelegt.

Einige der Standorte konnten in den geplanten vier Jahren 1993-1996 nicht beprobt werden, da sie als Ackeranbauflächen genutzt wurden. Weiterhin wurden insbesondere 1995 im Sahel (Region Tahoua) sowie in der Region um Sokolo/Niono in Mali keine Pflanzenproben mehr entnommen werden, da hier mit einer militärischen Konfrontation bewaffneter Tuareg-Banden zu rechnen war. Daher wurden die meisten Testflächen in den Südsahel gelegt.

Welche Aussagen können nun hinsichtlich der genetischen Diversität der ausgewählten Standorte getroffen werden? Können unterschiedliche edaphische und klimatische Parameter am Standort mit genetischen Markern charakterisiert werden? Kann die Dynamik einer Pflanzenpopulation innerhalb weniger Untersuchungsjahre anhand von RAPD-Markern beschrieben werden?

Die RAPD-Analysen zeigen, daß die beide Futterpflanzen *Brachiaria* und *Zornia* über eine große genetische Variabilität verfügen, die es ihnen ermöglicht, auf die unterschiedlichen klimatischen Einflüsse der Sahelzone schnell und individuell zu reagieren. Die genetische Zusammensetzung einer Pflanzenpopulation im Sahel ist im besonderen Maße abhängig vom jährlichen Niederschlag, dem Bodenprofil und dem Samenvorrat. LE HOURÈOU (1989) unterscheidet nach CISSÈ (1986) trockenresistente Arten nach unterschiedlichen Keim- und Wachstumscharakteristiken. Dazu zählen u.a. die Festigkeit der Samenschale, die Keimge-

schwindigkeit, Länge der vegetativen bzw. reproduktiven Wachstumsphasen, Samenproduktion, Anzahl der nötigen Keimimpulse, Trockenresistenz der Samen. Danach tendieren Arten, die in relativ trockenen Jahren (charakterisiert durch unregelmäßigen und spärlichen Niederschlag, unterbrochen von längeren Trockenperioden) am Standort dominant waren, zur Ausbildung von weichen Samen, die schnell keimen und einen kurzen generativen Zyklus aufweisen. Umgekehrt entwickeln Arten, die sich in Jahren mit ausreichendem Niederschlag am Standort ausbreiten konnten, Samen mit harter Schale aus, die eine langsame Keimphase, einen längeren Reproduktionszyklus und nur eine geringe Trockenresistenz aufweisen. Dieser Prozeß würde u.a. erklären, daß es am Standort aufgrund in der Höhe unterschiedlich stark schwankende Jahresniederschläge zur Ausbildung von „temporären Genotypen“ kommt. Als eine Ursache dafür kann ein zeitlich verzögertes Auskeimen des Samens diskutiert werden, im Falle von *Brachiaria xantholeuca*, auch eine ein- bis mehrjährigen Samenruhe. Ähnliches ist bei *Brachiaria nidulans* am Standort *Zinder* zu beobachten. Die beiden Standorte *I* und *II* sind hier durch die Piste etwa 10 m voneinander getrennt, die Blattproben wurden im Abstand von 4 Wochen gesammelt und konnten mit RAPD-Marker diskriminiert werden. Im Gegensatz dazu findet man am Standort *H4* (*B. xantholeuca*) bei 50 Individuen diese Differenzierung nicht. Beide Standorte unterscheiden sich deutlich in ihrer geographischen Lage und der jährlichen Niederschlagsmenge (*H4* = 584.6 mm; *Zinder* = 365.1 mm).

Erst durch Messungen des tatsächlichen Niederschlages vor Ort, sowie einer genauen Abschätzung des Weidedrucks während der Regenzeit können nähere Angaben zur Veränderung und Dynamik einer Pflanzenpopulation erstellt werden. Nach LE HOURÈOU (1986) nimmt die Niederschlagswahrscheinlichkeit im Sahel ausgehend von der südlichen Sahelischen-Sudanischen Übergangzone (400-600 mm Jahresniederschlag) über die Sahelzone „sensu stricto“ (200-400 mm Jahresniederschlag) zur Saharo-Sahelischen Übergangzone (100-200mm Jahresniederschlag) kontinuierlich ab. Der mittlere Variationskoeffizient (C.V.) fällt entsprechend von 43 % über 34.5 % auf 28.5 % und beschreibt damit die Zunahme des Streßes für die Pflanzen in ariden Gebieten.

Weiterhin müssen für die 34 untersuchten Standorte verschiedene Bodentypen diskutiert werden. Sand- und Lateritböden unterscheiden sich u.a. durch ihr Abflußverhalten, wonach Sandböden aufgrund des größeren Porenvolumens für eine bessere Durchlüftung und damit schnelleren Aufnahme des Oberflächenwassers geeignet sind. Da die wenigen Niederschläge im Sahel oft als kurze, heftige Regenschauer niedergehen, kann ein Sandboden aufgrund der geringen Wasserspeicherkapazität nur einen Teil des Wassers binden. Bei z.T. stark verkrusteten Lateritböden führt verstärkter oberirdischer Abfluß des Regenwassers nicht zu einer wirklichen Durchfeuchtung des Bodens. Aufgrund der Komplexität verschiedener

Bodentypen und der hochdiversen RAPD-Muster konnten keine Korrelationen beobachtet werden.

Nach morphologischen Kriterien geht Scholz sowohl bei *Brachiaria* als auch bei *Zornia* von Fremdbefruchtung (Windbestäubung) aus, damit stellen die geographischen Verteilungsmuster der untersuchten Standorte wichtige Größen bei der Beurteilung der genetischen Diversität dar (das Vieh trägt zu einem kleinen Prozentsatz zur Verbreitung der Samen bei (Darmassage)).

Anhand der vorliegenden Daten kann eine Korrelation zwischen dem Niederschlag und der genetischen Diversität verschiedener Standortpopulationen diskutiert werden. Vergleicht man die Standorte *H1*, *H2* und *H4* der feuchteren Sahelo-Sudanischen Übergangszone mit den Standorten *H10*, *H11* und *H13* der trockeneren Sahelzone „sensu stricto“, so können erstere nicht oder nur sehr schwach, letztere hingegen sehr gut voneinander diskriminiert werden. Am Beispiel dieser beiden Gruppen können Ökotypen diskutiert werden, die im Umkreis von 50 km liegen.

Standorte wie *Sevarè* in Mali und *Ouahigouya* in Burkina Faso, die 700 km bzw. 500 km von Niamey entfernt sind, zeigten deutliche Unterschiede im genetischen Muster und konnten durch den Besitz standortspezifischer Markern klar von den restlichen Standorten diskriminiert werden werden.

Können anhand der molekulargenetischen Daten Testgebiete ausgewählt werden, die für eine *in situ* Konservierung geeignet sind?

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind erste wichtige Ergebnisse im Hinblick einer *in situ* Konservierung pflanzengenetischer Ressourcen. Einschließlich der biochemischen Daten von I. Salifou liegen nun erste Informationen über die Verbreitung und die genetische Diversität von Futterpflanzen aus dem Sahel vor. Sie dienen als Basis für weiterführende Projekte. *B. nidulans* und *B. orthostachys* zeigen eine hohe Standortspezifität, *B. xantholeuca* weist hingegen eine eher regionale Homogenität auf. Dies bedeutet bezüglich einer *in situ* Konservierung die Berücksichtigung vieler Standorte. *Zornia glochidiata* hingegen zeigte generell eine hohe individuelle genetische Heterogenität, damit kann hier ein breites genetisches Spektrum schon mit wenigen Standorten gesichert werden.

Neben den nun vorliegenden Untersuchungen der genetischen Diversität wurden innerhalb des Gesamtprojektes weitere Teilaspekte bezüglich einer *in situ* Konservierung erarbeitet.

Frau A. Perschon (TU Berlin) führte dazu eine bodenökologische Bewertung von 25 verschiedenen Lokalitäten Westafrikas unter Berücksichtigung ihrer Eignung als Pflanzenstandort durch (in KUSSEROW 1997). Danach konnten wichtige Standorteigenschaften wie der pH-Wert, Stickstoff-, Phosphat- und organischer Kohlenstoffgehalt und Mineralstoffgehalt für die Beurteilung der Böden herangezogen werden. Weiterhin wurden die physikalischen Eigenschaften wie Korngrößenverteilung, Steingehalte und Gründigkeit der Böden analysiert. Diese Parameter sind entscheidend für den Wasserhaushalt des Bodens. Sie bestimmen, wie gut der Boden das Wasser speichern und den Pflanzen anschließend wieder zur Verfügung stellen kann. Damit ist auch die Möglichkeit der Nährstoffaufnahme verknüpft, denn ohne Wasser findet kein Transport zu den Pflanzenwurzeln statt. Somit sollte ein Pflanzenstandort mit mäßiger Nährstoffversorgung und einem guten Wasserhaushalt sicher besser beurteilt werden als ein Standort mit guten Nährstoffverhältnissen und sehr geringen Wassergehalten. Der pH-Wert lag zwischen 4.7 und 7.0 und wurde als besonders günstig bewertet, da er u.a. die Aufnahme von Phosphat begünstigt, der ansonsten als Calciumphosphat fixiert und für die Pflanzen dann nicht verfügbar ist (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL 1992). Als problematisch wurden Standorte eingeschätzt, an denen der pH-Wert kleiner 5.5 gemessen wurde, da dies in Verbindung mit hohen Aluminiumwerten zu einer Pflanzentoxizität führen kann. Dies betraf die Standorte *T1*, *T2*, *T3*, *Ouagadougou* (Standorte mit *Z. glochidiata*) sowie *H1* und *Ouahigouya* (Standorte mit *B. xantholeuca*). Stickstoff- und Phosphatgehalte wurden nach landwirtschaftlichen Klassifikationsmaßstäben als sehr gering eingestuft. An den meisten Standorten wurden Werte unter 1g/m^2 Phosphat gemessen. Da in ariden bis semiariden Gebieten mit Niederschlägen von 200-600 mm der Humusgehalt des Bodens sehr gering ist (<1%; BLANCKENBURG & CREMER 1971) bestätigten die Meßwerte für Stickstoff und lagen zwischen 14 und 115g/m^2 . Im Vergleich dazu werden in Mitteleuropa in der Pflanzenproduktion Höchstserträge bei einer Stickstoffversorgung von 120 kg/ha erzielt (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL 1992). Gleiches gilt für die Analyse der organischen Substanz im Boden, die deutlich unterhalb einem Prozent lag.

Weiterhin wurden von Fr. L. Creemers (FU Berlin) im Zeitraum von 3 Monaten in drei ausgewählten Dörfern (Tera, Damari, Tamou) sozioökonomische Analysen durchgeführt (KUSSEROW 1997). Diese Dörfer liegen auf einer Nord-Südlinie, die eine Ausdehnung von ca. 140 km hat. Der Schwerpunkt ihrer Untersuchung umfaßte u.a. Fragen zur Veränderung der Vegetation, zum Thema Tierhaltung und der Sensibilisierung der Bevölkerung in Bezug auf einen Ressourcenschutz. Unter dem Begriff „*In situ* Konservierung“ verstehen FORD-LLOYD & JACKSON (1986; in NDAMBUKI 1991) eine „conservation and protection of genetic resources in their natural habitat“. Das heißt, die betroffene Bevölkerung soll aktiv in

das Ressourcenschutzprogramm eingebunden werden (IWANAGA 1995), zumal ihre Felder und Weiden in dieser Zeit nicht oder nur kontrolliert beweidet werden können.

Fr. Dr. K. Küppers (Uni Frankfurt) führte pflanzensoziologische Untersuchungen an 20 Testflächen durch und konnte 73 Vegetationsaufnahmen in insgesamt vier verschiedene Gesellschaften gruppieren (KUSSEROW 1997). Dazu zählen zunächst die Gehölzstreifen der Brousse tigrè mit 11 Gehölzarten und 47 krautige Arten; die Freiflächen der Brousse tigrè mit 27 Gräsern und Kräuter. Die dritte Einheit wird von alten Brachflächen auf Sand und Dünenvegetation eingenommen. Hier wurden in der Krautschicht insgesamt 50, in der Strauchschicht 2-3 Arten angetroffen. Die Vegetation der Straßenränder ist die vierte Einheit, hier wurden insgesamt 64 Arten gezählt. Als Testfläche wurde das ICRISAT-Gelände herangezogen, wobei innerhalb einer kontrolliert beweideten Testfläche 18-25, außerhalb dieser nur 12-13 Arten gefunden wurden.

Fr. Dr. H. Kusserow (FU Berlin) untersuchte mit Hilfe von Satellitenaufnahmen die Vegetationsveränderungen der letzten 23 Jahre (1973-1996) einer 160 km x 160 km großen Fläche südlich von Niamey (Hier befinden sich die Standorte *T1*, *T2*, *H1-H6* und *ICRISAT*). Sie konnte vier große Einheiten definieren: 1) Plateauflächen, 2) Täler, 3) der Niger und mit den im Überschwemmungsgebiet angelegten Reisanbaugebieten und 4) degradierte Gebiete, die sich durch eine spärliche Vegetation und einige landwirtschaftliche Flächen auszeichnen. Die Auswertungen der Satellitenaufnahmen zeigten eine deutliche Auflichtung der Vegetation in den vergangenen Jahren bedingt durch Abholzungen zur Anlage von Feldern und zum Feuerholzbedarf. Dadurch erfolgte eine erhebliche Verkleinerung des für Futterarten zur Verfügung stehenden Areal. Die hier untersuchten Futterpflanzen wurden deshalb vorwiegend am Rande von Hirsefelder gefunden. Weiterhin konnte eine Zunahme an degradierten Böden beobachtet werden, wo die Sandauflage durch Wind und Wasser wegtransportiert wurde. Die Folgen sind versiegelte und verkrustete Böden, die zu immer größeren vegetationslosen Flächen heranwachsen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden:

Die hier vorgestellten RAPD-Ergebnisse stellen in Verbindung mit den biochemischen Analysen, den Bodendaten, den sozioökonomische und pflanzensoziologische Untersuchungen sowie den Satellitenauswertungen eine solide Grundlage für weiterführende Forschungsprojekte auf dem Gebiet des Ressourcenschutzes im Sahel dar. Die hier untersuchten Futterpflanzen besitzen eine hohe genetische Variabilität, die es ihnen ermöglicht, in relativ kurzer Zeit auf wechselnde Klimaeinflüsse reagieren, um so den Bestand der Population zu sichern. Das Untersuchungsgebiet erstreckte sich über ca. 2000 km Ost-

West-Ausdehnung in der Sahelzone und stellt in der o. g. Kombination ein Pilotprojekt dar. Da der Großteil der untersuchten Standorte mit RAPD-Markern differenziert werden konnte, verteilt sich somit die genetische Variabilität über das gesamte Untersuchungsgebiet hinweg und sollte deshalb im Zuge einer *in situ* Konservierung berücksichtigt werden.

Für die Bevölkerung stellen diese Futterpflanzen eine wichtige Nahrungsressource dar. Der potentielle Wert, den diese Pflanzen besitzen, wird insbesondere bei einigen *Brachiaria*-Arten deutlich, die verstärkt in den 70er Jahren in Lateinamerika eingeführt und heute im großen Stil kultiviert werden. Allein in Brasilien werden heutzutage mehr als 50 Mio. ha Grünland mit *Brachiaria* Pflanzen angebaut (MILES 1996).

6. Zusammenfassung

Brachiaria und *Zornia* gehören zu den wichtigsten wildwachsenden Futterpflanzen in der Sahelzone Westafrikas. Durch den Besitz von Hitze- und Trockenresistenzen sind sie optimal an die extremen Klimate angepaßt, und können große Niederschlagsschwankungen während Regenzeit überstehen. Extensiver Ackerbau und Überweidung zerstören jedoch große Teile der für den Menschen nutzbaren Gebiete im Sahel (Verknappung der Futterpflanzen). Diese Gebiete sind nur bedingt für den Ackerbau geeignet und die angelegten Hirsefelder werden nach einigen Jahren wieder aufgegeben. Die Folgen sind zunehmende Desertifikationsprozesse. Aufgrund der besonderen Bedeutung für die Bevölkerung und der Pflanzenzüchtung wurde in einem internationalen Projekt eine umfassende Standortbeschreibung dieser Futterpflanzen durchgeführt. Damit wurde eine solide Grundlage für weiterführende Projekte geschaffen, so z. B. die Errichtung von Schutzzonen im Zuge einer *in situ* Konservierung.

In der vorliegende Arbeit wurden in einem ca. 2000 km großen Untersuchungsgebiet die genetischen Diversität von *Brachiaria* und *Zornia* untersucht. Dazu wurden 34 Standorte ausgewählt und über mehrere Jahre Pflanzenproben entnommen und mit RAPD-Markern analysiert. Für *Brachiaria* konnten 309 Individuen aus 25 Standorten mit 10 Primern untersucht werden. Ein Teil dieser Pflanzenproben wurde morphologisch bestimmt (Prof. Scholz, FU Berlin) und hierbei fünf *Brachiaria* Arten (*B. xantholeuca*, *B. nidulans*, *B. orthostachys*, *B. ramosa*, *B. lata*) identifiziert. Die RAPD-Ergebnisse der gleichen Blattproben zeigten in der Clusteranalyse eine Auftrennung in 5 Gruppen, die eine 100 %ige Übereinstimmung mit der morphologischen Bestimmung und damit eine Charakterisierung dieser *Brachiaria* Arten anhand von RAPD-Markern möglich machte. Die fünf *Brachiaria* Arten zeigten eine hohe genetische Variabilität, die meisten Standorte konnten mit RAPD-Marker charakterisiert werden. An einigen Standorten war eine Differenzierung von zwei bzw. drei Sammeljahren möglich, der Begriff des „temporären Genotypen“ soll hier genannt werden. Für *B. xantholeuca* konnten Standorte im Umkreis von 50 km aufgrund ihrer hohen genetischen Ähnlichkeit zu Ökotypen zusammengefaßt werden. *B. xantholeuca* weist somit eine hohe regionale Homogenität, *B. nidulans* und *B. orthostachys* hingegen eine hohe Standortspezifität.

Zornia wurde mit 80 Pflanzenproben und 6 Primern untersucht. Die genetische Variabilität war sehr groß und zeigte eine hohe interindividuelle Heterogenität. Dadurch war weder eine Differenzierung der Standorte noch der drei Sammeljahre möglich.

Um ein tieferes Verständnis der beobachteten Regional- und Jahreseffekte zu erhalten, sind weitere umfangreiche molekulargenetische Untersuchungen nötig. Dazu könnten RAPD-Analysen der drei Futterpflanzen *Alysicarpus*, *Dactyloctenium* und *Cenchrus* beitragen.

7. Literaturverzeichnis

- ANNUAIRE METEOROLOGIQUE DU NIGER, 1994, 1995: Jahresbericht der meteorologischen Station am ICRISAT in Sadore, Niger.
- ANDREWS, F. W., 1956: The flowering plants of the Sudan. Abroath.
- AUBREVILLE, A., 1949: Climats, Forêts et Désertification de l'Afrique Tropicales. Pris: Société d'Édition Géographiques, Maritimes et Coloniales.
- BARTHA, R., 1970: Futterpflanzen in der Sahelzone. IFO- Institut für Wirtschaftsforschung München, Afrika- Studien 48. Weltforum Verlag München.
- BLANKENBURG, P. & H.D. CREMER, 1971: Handbuch der Landwirtschaft und Ernährung in den Entwicklungsländern. 44-76; 96-121, Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer.
- BLOGG, D. & B. C. IMRIE, 1982: Starch-gel electrophoresis for soybean cultivar identification. Seed Sci. Technol., 10, 19-24.
- BOTSTEIN, D., R. L. WHITE, M. SKOLNICK & R. W. DAVIS, 1980: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet., 32, 314-331.
- BREMAN, H. & C. T. DE WIT, 1983: Rangeland productivity and exploitation in the Sahel. Science, 221, 1341-1347.
- CARMAN, J. G., 1992: Unifying our efforts to create apomictic crops. Apomixis Newsletter 5, 47-50.
- CHEVALIER, A., 1900: Les zones et les provinces botaniques de l'AOF C R Acad Sci, CXXX, 18, 1205-1208.
- CISSÈ, A. M. 1986: Dynamique de la strate herbacée des pâturage Soudano-Sahélien. Thèse de 3ème Cycle. Ec. Norm. Sup. Bamako.
- CLARK, A. G. & C. M. S. LANIGAN, 1993: Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. Mol. Biol. Evol., 10, 5, 1096-1111.
- CLAYTON, W. D. & S. A. RENVOIZE, 1982: Gramineae (Part 3). In: POLHILL, R. M. (Ed.). Flora of tropical East Africa. Rotterdam.
- CLAYTON, W. D. & S. A. RENVOIZE, 1986: Genera Graminum. Her Majesty's Stationery Office, London, UK.
- DE VRIES, F. W. T. & A. M. DJIETEYE, 1982: La productivité des pâturages sahéliens. PUDOC, Wageningen.
- DEVOS, K. M. & M. D. GALE, 1992: The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. Theor. Appl. Genet., 84, 567-572.

- DICE, L. R., 1945: Measurement of the amount of ecological association between species. *Ecology*, 26, 295-302.
- DO VALLE, C. B. & J. W. MILES, 1994: Melhoramento de gramíneas do gênero *Brachiaria*. In: PEIXOTO, A. M., J. C. DE MOURA & V. P. DE FARIA (eds.) [Proceedings of the] XI simposio sobre manejo da pastagem. FEALQ, Piracicaba, SP, Brazil, 1-23.
- DOYLE, J. J. & J. L. DOYLE, 1990: Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- DREGNE, H.E., 1983: Desertification of Arid Lands. Harwood Academic, Chur, Switzerland.
- EDWARDS, K., C. JOHNSTONE & C. THOMPSON, 1991: A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Res. Oxford*, IRL Press. Volume 19, 6, 1349.
- EXCOFFIER, N. C., P. E. SMOUSE & J. M. QUATTRO, 1992: Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.
- FOY, C. D., R. L. CHANEY & M. C. WHITE, 1978: The Physiology of Metal Toxicity in Plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29, 511-566.
- GJURIC, R. & S. R. SMITH, 1996: Identification of cross-pollinated and self-pollinated progeny in alfalfa through RAPD nulliplex loci analysis. *Crop. Sci.*, 36, 389-393.
- GLATZLE, A., 1990: Weidewirtschaft in den Tropen und Subtropen. Stuttgart, Ulmer Verlag.
- GOODMAN, M. M. & C. W. STUBER, 1980: Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis. *Ann. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf. Proc.*, 35, 10-31.
- GRAINGER, A., 1992: Characterization and assessment of desertification processes. *Desertified Grasslands: Their Biology and Management*. The Linnean Society of London. ISBN 0-12-168570-5.
- GRISEBACH, A., 1853: *Gramineae*. In: LEDEBOUR, C.F. (ED.). *Flora Rossica*, Volume 4.
- GUARINO, L., V. RAMANATHA RAO & R. REID, 1995: *Collecting Plant Genetic Diversity - Technical Guidelines*, CAB International, UK.
- GUNTER, L. E., G. A. TUSKAN & S. D. WULLSCHLEGER, 1996: Diversity among populations of switchgrass based on RAPD markers. *Crop Science*, 36, 1017-1022.
- GUSTINE, D. L., R. T. SHERWOOD & D. R. HUFF, 1997: Apospory-linked molecular markers in buffelgrass. *Crop Science*, 37, 947-951.
- HADRYN, H., M. BALICK & B. SCHIERWATER, 1992: Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1, 55-63.

- HALWARD, T. M., H. T. STALKER, E. A. LARUE & G. KOCHERT, 1991: Genetic variation detectable with molecular markers among unadapted germ-plasm resources of cultivated peanut and related wild species. *Genome*, 34, 1013-1020.
- HE, Q., U. VILYANEN & J. MERTSOLA, 1994: Effects of thermocyclers and primers on the reproducibility of banding patterns in random amplified polymorphic DNA analysis. *Mol. Cell. Probes*, 8, 155-160.
- HILU, K. W., 1994: Evidence from RAPD markers in the evolution of *Echinochloa* millets. *Plant Syst. Evol.*, 189, 247-251.
- HINTUM VAN, T. J. L., 1995: Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants: In: [T. HODGKIN, A. H. D. BROWN, T. J. L. VAN HINTUM & E. A. V. MORALES (Eds.)] Core collections of plant genetic resources. IPGRI, Wiley-Sayce Publication.
- HOELZEL, A. R., 1990: The trouble with „PCR“ machines. *Trends Genet.*, 6, 237-238.
- HU, J. & C. F. QUIROS, 1991: Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant Cell Rep.*, 10, 505-511.
- HUFF, D. R., R. PEAKALL & P. E. SMOUSE, 1993: RAPD variation within and among populations of outcrossing buffalograss [*Buchloë dactyloides* (Nutt.) Engelm.] *Theor. Appl. Genet.*, 86, 927-934.
- IBPGR, 1984: Forage and browse plants for arid and semi-arid Africa. IBPGR, Royal Botanic Gardens, Kew.
- IWANAGA, M., 1995: IPGRI strategy for in situ conservation of agricultural biodiversity. In: ENGELS, J.M.M. (ed.) In situ conservation and sustainable use of plant genetic resources for food and agriculture in developing countries. Report of a DSE / ATSAF / IPGRI workshop in Bonn, 2 - 4.5.1995.
- KAZAN, K. J., M. MANNERS & D. F. CAMERON, 1992: Genetic variation in agronomically important species of *Stylosanthes* determined using random amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 83, 882-888.
- KELLER-GREIN, G., B. L. MAASS & J. HANSON, 1996: Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J. W., B. L. MAASS & C. B. DO VALLE, (eds.), *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. CIAT Publication 259. Cali, Colombia.
- KLEIN-LANKHORST, R. M., A. VERMUNT, R. WEIDE, T. LIHARSKA & P. ZABEL, 1991: Isolation of molecular markers for tomato (*L. esculentum*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor. Appl. Genet.*, 83, 108-114.
- KÖHLER, H. 1997: Molekularbiologische Charakterisierung von interspezifischen Hybriden der Gattung *Helianthus* und Prüfung auf Resistenz gegen die *Sclerotinia*-Welke und Korbfäule der Sonnenblume. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen.
- KÖHLER, W., J. PONS & A. LANGSDORF, 1998: Biometrische Methoden zur Beschreibung der genetischen Diversität. F. Begemann (Hrsg.) Züchterische Nutzung

- pflanzengenetischer Ressourcen – Ergebnisse und Forschungsbedarf, 29.9.–1.10.1997, Gatersleben. Schriften zu Genetischen Ressourcen 8, 93-109.
- KRAWCZAK, M. & J. SCHMIDTKE, 1994: DNA-Fingerprinting. Labor im Fokus. Spektrum Akademischer Verlag GmbH. Heidelberg.
- KRINGS, T. 1982: Sahel: Senegal, Mauretanien, Mali, Niger. DuMont Buchverlag, Köln.
- KUSSEROW, H., 1992: Quantifizierung der Bedeutung von Vegetationsänderungen für die Verdunstung in semiariden Gebieten. DFG- Bericht, Berlin.
- KUSSEROW, H., 1994: Quantitative und qualitative Erfassung von Vegetationsveränderungen. Ein Beispiel aus dem Südsahel Malis. Die Erde, 125, 35-56.
- KUSSEROW, H., 1997: Patterns of genetic diversity in wild forage species and in situ conservation in the Sahel. Final report. Freie Universität, Berlin.
- KUSSEROW, H. & H. HAENISCH, 1998: Monitoring the dynamics of the tiger bush (*Brouse tigrèe*) in the Westafrican Sahel (Niger) by a combination of LANDSAT MSS and TM, Spots, Areal- and Kite photograph. Photogrammetrie Fernerkundung Geoinformation (eingereicht).
- KUSSEROW, H. & A. OESTREICH, 1998: Rainfall development in the West African Sahel in this century – periodic oscillation or decline ? A case study of Niger. Zentralblatt für Geologie und Paläontologie. Teil I: Afrikas Klimageschichte unter geowissenschaftlichen Aspekten.
- KUSSEROW, H., A. LANGSDORF & H. SCHOLZ 1999a (in press): Genetische Ressourcen wildwachsender Futterpflanzen im westafrikanischen Sahel Vergleich taxonomischer und molekulargenetischer Untersuchungen am Beispiel der Gattung *Urochloa*.
- KUSSEROW, H., A. LANGSDORF & H. SCHOLZ 1999b (in press): Problems in *Urochloa* taxonomy – case studies in the Sahelian zone of Westafrica.
- LEBRUN, J.-P., J. AUDRU, A. GASTON & M. MOSNIER, 1972: Catalogue des Plantes vasculaires du Tchad meridional. Inst. Elevage Med. Veterin. Pays Tropic., Etude Bot. 1. Maisons-Alfort-Fort-Lamy.
- LE HOUÈROU, H. N., 1980: Phytoecological surveys for land use planning and agricultural development. In: LUND, H. G. & M. C. DELOYA & R. S. DRISCOLL & W. G. BONNER R. E. HAMRE (eds). Arid land resource inventories, La Paz, 154-158.
- LE HOUÈROU, H. N., 1986: La variabilité de la pluviosité annuelle dans quelques régions arides du monde; ses conséquences écologiques. CR Coll Sahel/Nordeste Brèsilien, Inst. Htes Et. Amèr. Latine, v Univ Paris III, Paris.
- LE HOUÈROU, H. N., 1989: The Grazing Land Ecosystems of the African Sahel. Ecological Studies 75. Springer, Berlin.
- LEISINGER, K. M. 1992: Überleben im Sahel. Birkhäuser Verlag, Berlin.

- LINZ, U. 1990: Thermocycler temperature variation invalidates PCR results. *BioTechniques*, 9, 286-294.
- LUBBERS, E.L., L. ARTHUR & W. W. HANNA, 1994: Molecular markers shared by diverse apomictic *Pennisetum* species. *Theor. Appl. Genet.*, 89, 636-642.
- LYNCH, M. & B. G. MILLIGAN, 1994: Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3, 91-99.
- M'RIBUH, K. H. & HILU K. W., 1994: Detection of interspecific and intraspecific variation in *Panicum* millets through random amplified polymorphic DNA. *Theor. Appl. Genet.*, 88, 412-416.
- MABBUTT, J. A., 1984: A new global assessment of the status and trends of desertification. *Environmental Conservation*, 11, 100-113.
- MACPHERSON, J. M., P. E. ECKSTEIN, G. J. SCOLES & A. A. GAJADHAR, 1993: Variability of the random amplified polymorphic DNA assay among thermal cyclers, and effects of primer and DNA concentration. *Mol. Cell. Probes*, 7, 293-299.
- MC CUSKER, A. & J. TOLL, 1991: Ecogeographical survey of African species. In: ATTERE, F., H. ZEDAN, N. G. NQ & P. PERRINO. *Crop Genetic Resources of Africa*, Volume 1, 121-132.
- MENSCHING, H. G., 1974: Die Sahelzone Afrikas: Ursachen und Konsequenzen der Dürrekatastrophe. *Afrika-Spektrum* 9, Hamburg, 241-259.
- MENSCHING, H. G., 1990: Desertifikation. Ein weltweites Problem der ökologischen Verwüstung in den Trockengebieten der Erde. *Wissenschaftliche Buchhandlung*, Darmstadt.
- MEUNIER, J. R. & P. A. D. GRIMONT, 1993: Factors effecting reproducibility of random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Res. Microbiol.*, 144, 373-379.
- MILES, J. W., B. L. MAASS & C. B. DO VALLE, 1996: *Brachiaria*: Biology, Agronomy, and Improvement. CIAT Publication 259. Cali, Colombia.
- MORRONE, O. & F.O. ZULOAGA, 1992: Revisión de las especies sudamericanas nativas e introducidas de los géneros *Brachiaria* y *Urochloa* (*Poaceae: Panicoideae: Paniceae*). *Darwiniana* 31, (1-4), 43-109.
- MÖSGES, G. & W. FRIEDT, 1994: Genetic "fingerprinting" of sunflower lines and F₁ hybrids using isozymes, simple and repetitive sequences as hybridization probes, and random primers for PCR. *Plant Breeding*, 113, 114-124.
- MULLIS, K., F. FALOONA, S. SCHARF, R. SAIKI, G. HORN & H. ERLICH, 1986: Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology*, Volume 51, Cold Spring Harbour Laboratory.
- NDAMBUKI, B.M. 1991: In situ conservation and monitoring of rangeland genetic resources. In: ATTERE, F. et al. (eds.): *Crop genetic resources of Africa*: 177-184. Rome: IBPGR; Nairobi: UNEP; Ibadan: ITTA; Rome: CNR.

- NEI, M. & W. H. LI, 1979: Mathematical model für studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 5269-5273.
- OROZCO-CASTILLO, C., K. J. CHALMERS, R. WAUGH & W. POWELL, 1994: Detection of genetic diversity and selective gene intogression in coffee using RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 87, 934-940.
- ORDON, F., A. SCHIEMANN, K. SCHEURER, B. PELLIO, V. DAUCK, E. BAUER, J. WEYEN, W. FRIEDT & A. GRANER, 1998. Einsatz molekularer Marker in der Virusresistenzzüchtung bei der Gerste. Vortr. Pflanzenzüchtung. 43, 49-62.
- PEAKALL, R., P. E. SMOUSE & D. R. HUFF, 1995: Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of dioecious buffalograss *Buchloë dactyloides*. Molecular Ecology, 4, 135-147.
- PENNER, G. A., A. BUSH, R. WISE, W. KIM, L. DOMIER, K. KASHA, A. LAROCHA, G. SCOLES, S. J. MOLNAR & G. FEDAK, 1993: Reproducibility of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. PCR Meth. Appl., 2, 341-345.
- PEYRE DE FABREGUES, B. & J.-P. LEBRUN, 1976: Catalogue des Plantes vasculaires du Niger. Inst. Elevage Med. Veterin. Pays Tropic., Etude Bot. 3. Maisons-Alfort-Fort-Lamy.
- PESSINO, S. C., J. P. A. ORTIZ, O. LEBLANC, C. B. VALLE & C. EVANS & M. D. HAYWARD, 1997: Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria*. Theor. Appl. Genet., 94, 439-444.
- PHILLIPS, S., 1995: *Poaceae (Gramineae)*. In: HEDBERG, I. & S. EDWARDS (EDS.). Flora of Ethiopia and Eritrea 7. Addis Ababa – Uppsala.
- PILGER, R., 1940: *Panicoideae*: In: ENGLER, A. (ed.) Die natürlichen Pflanzenfamilien, Volume 14 e.
- PONS, J., H. BALTZER, A. LANGSDORF & W. KÖHLER, 1998: Population Genetics: Genetic Analysis and Modelling of Natural Populations. In: BEHNKE, H.-D., ESSER, K., KADEREIT J.W., LÜTTGE U. & RUNGE M. (eds.): Progress in Botany 59, Springer, Berlin, 194-226.
- RATNAPARKHE, M. B., V. S. GUPTA, M. R. VEN MURTHY & P. K. RANJEKAR, 1995: Genetic fingerprinting of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] and its wild relatives using RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 91, 893-898.
- RENVOIZE, S. A., W. D. CLAYTON & C. H. S. KABUYE, 1996: Morphology, taxonomy, and natural distribution of *Brachiaria* (Trinius) Griseberg. In: MILES, J. W., B. L. MAASS & C. B. DO VALLE, (eds.), *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. CIAT Publication 259. Cali, Colombia.
- ROLFS, A., I. SCHULLER, U. FINCKH & I. WEBER-ROLFS, 1992: PCR: Clinical Diagnostics and Research, Springer Verlag, Berlin.

- SAIKI, R. K., D. H. GELFAND, S. STOFFEL, S. J. SCHARF, R. HIGUCHI, G. T. HORN, K. B. MULLIS & H. A. ERLICH, 1988: Primer directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.
- SCANALYTICS, 1994: RFLPscan. 40 Linnell Circle, Billerica, MA 01821, USA.
- SCHEFFER, F. & P. SCHACHTSCHABEL, 1992: Lehrbuch der Bodenkunde. Enke-Verlag, Stuttgart.
- SCHIEMANN, A., B. PELLIO, V. DAUCK, A. GRANER, W. FRIEDT & F. ORDON, 1998. PCR-basierte Markersysteme und deren Anwendung in der Züchtung auf Gelbmosaikvirusresistenz bei der Gerste. *Vortr. Pflanzenzüchtung*. 42, 52-54.
- SHAH, F. H., O. RASHID, A. J. SIMONS & A. DUNSDON, 1994: The utility of RAPD markers for the detection of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Theor. Appl. Genet.*, 89, 713-718.
- SHARMA, S. K., I. K. DAWSON & R. WAUGH, 1995: Relationships among cultivated and wild lentils revealed by RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.*, 91, 647-654.
- SHELTON, H. M., L. R. HUMPHREYS & C. BATELLO, 1987: Pastures in the plantations of Asia and the Pacific: performance and prospects. *Trop. Grassl.*, 21, 159-168.
- SNEATH, P. H. A. & R. R. SOKAL, 1973: Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco.
- SNOWDON R.J. & A. LANGSDORF, 1998: An introduction to DNA fingerprinting using RFLP and RAPD techniques. – In: TIETZ, D. (ed.) *Nucleic Acid Electrophoresis*, Springer, New York, 99-128.
- SPERLICH, D., 1988: Populationsgenetik, 2. Auflage, Fischer, Stuttgart.
- STAPF, O., 1919: *Gramineae, Maydeae- Paniceae*. In: PRAIN, D. (ed.). *Flora of tropical Africa*, Vol. 9, Reeve and Co., Ashford, Kent, UK.
- SWATSCHEK, I., 1992: *Bioforum*, 5, 147-152.
- TAO, Y., J. M. MANNERS, M. M. LUDLOW & R. G. HENZEL, 1993: DNA polymorphisms in grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)], *Theor. Appl. Genet.*, 86, 679-688.
- TAUPIN, J. D., 1997: Caractérisation de la variabilité spatiale des pluies aux échelles inférieures au kilomètre en région semi-aride (région de Niamey, Niger). *Académie des sciences*. Elsevier, Paris. 251-256.
- TINGEY, S. V., J. A. RAFALSKI & J. G. K. WILLIAMS, 1992: Genetic analysis with RAPD markers. In: *Application of RAPD technology to plant breeding*. Proceedings Joint Plant Breeding Symposia Series, Nov. 1992, Crop Science Society of America, 3-8.
- TOHME, J., N. PALACIOS, S. LENIS & W. ROCA, 1996: Applications of biotechnology to *Brachiaria*. In: MILES, J. W., B. L. MAASS & C. B. DO VALLE, 1996 (eds.), *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. CIAT Publication 259. Cali, Colombia.

- TOSTAIN, S., M. RIANDEY & F. MARCHAIS, 1987: Enzyme diversity in pearl millet (*Pennisetum glaucum*) 1. West Africa. *Theor. Appl. Genet.*, 74,188-193.
- TRINIUS, C. B., 1834: *Panicearum genera*. *Mem. Acad. Sci. Petersburg Serie 6*, 3,194.
- VALERIO, J. R., S. L. LAPOINTE, S. D. FERNANDES & F. J. MORALES, 1996: Pests and Diseases of *Brachiaria* Species. In: MILES, J. W., B. L. MAASS & C. B. DO VALLE, (eds.), *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. CIAT Publication 259. Cali, Colombia.
- VELDKAMP, J. F., 1996: *Brachiaria, Urochloa (Gramineae-Paniceae)* in Malesia. *Blumea* 41, 431-437.
- WEBSTER, R. D., 1987: *The Australian Paniceae (Poaceae)*. J. Cramer, Berlin and Stuttgart, Germany, 228-255.
- WELSH, J. & M. MC CLELLAND, 1990: Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.*, 18, 7213-7218.
- WELSH, J., R. J. HONEYCUTT, M. MCCLELLAND & B. W. S. SOBRAL, 1991: Parentage determination in maize hybrids using the arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR). *Theor. Appl. Genet.*, 82, 473-476.
- WHITE, F., 1993: *The Vegetation of Africa*. *Nat. Res. XX*, UNESCO, Paris.
- WILLIAMS, J. G. K., M. K. KUBELIK, K. J. LIVAK, J. A. RAFALSKI & S. V. TINGEY, 1990: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535.
- WILLIAMS, J. G. K., M. K. HANAFEY, J. A. RAFALSKI & S. V. TINGEY, 1993: Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods Enzymol.*, 218, 704-740.
- WINK, M. & H. WEHRLE, 1994: *PCR im medizinischen und biologischen Labor*. GIT Verlag, Darmstadt.
- WYNNE, L.R., H. D. LOXDALE & C. P. BROOKED, 1991: Use of a cellulose acetate system for allozyme electrophoresis. In: BERRY, R. J. & T. J. CRAWFORD & G. M. HEWITT (EDS.) *Genes in Ecology (the 33rd Symposium of the British ecological society, university of east Anglia*, 494-499.
- YANG, X. & C. QUIROS, 1993: Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 86, 205-212.
- YU, K. & K. P. PAULS, 1993: Rapid estimation of genetic relatedness among heterogenous populations of alfalfa by random amplification of bulked genomic DNA samples. *Theor. Appl. Genet.*, 86, 788-794.
- ZHANG, X. Y. & K. L. TAO, 1989: Silica gel drying for germplasm conservation – practical guidelines. *FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter*, 75/76,1-5.

Abbildungsverzeichnis

<u>Abb. 1:</u> Die Sahelzone in Afrika.....	9
<u>Abb. 2:</u> Die klimatische Entwicklung der Sahara und Sahelzone seit 18000 Jahren.....	10
<u>Abb. 3:</u> Abweichung der Niederschläge vom langjährigen Mittel für den Sahel seit 1900.....	11
<u>Abb. 4:</u> Ökoklimatische Zonen der Sahelzone.....	13
<u>Abb. 5:</u> Niederschlagsdaten aus Niamey-City der letzten 90 Jahre (1905-1995)	14
<u>Abb. 6:</u> Vergleich der Isohyeten der Periode 1950-1990 und 1981-1995.....	15
<u>Abb. 7:</u> Folgen der Bodenerosion in der Region Tahoua (September 1994).....	20
<u>Abb. 8:</u> Bodenerosion in der Nähe von Tillabéri (September 1994)	20
<u>Abb. 9:</u> Lage der Standorte <i>T1-T4</i> , <i>H1-H6</i> und <i>ICRISAT</i> südlich von Niamey.....	22
<u>Abb. 10:</u> Geographische Lage der 34 Teststandorte in Niger, Burkina Faso und Mali	23
<u>Abb. 11:</u> Standort <i>T1</i> , in der Brousse tigrèe, 45 km südlich von Niamey	32
<u>Abb. 12:</u> Standort <i>H2</i> , Testfläche am Pistenrand, 50 km südwestlich von Niamey	32
<u>Abb. 13:</u> Standort <i>Zinder</i> , Testfläche am Straßenrand.....	33
<u>Abb. 14:</u> Standort <i>Gourè</i> , Testfläche am Straßenrand	33
<u>Abb. 15:</u> Einfluß unterschiedlicher Reaktionsparameter auf das RAPD-Bandenmuster.....	41
<u>Abb. 16:</u> RAPD-Bandenmuster bei <i>Zornia</i> , DNA-Polymerasen verschiedener Hersteller.	41
<u>Abb. 17:</u> RFLPscan Software zur Auswertung der RAPD-Daten.	44
<u>Abb. 18:</u> RAPD-Bandenmuster mit 20 verschiedenen Primern (Testset A).....	51
<u>Abb. 19:</u> Histogramm der Fragmentgrößen aus 250 RAPD-Markern.	53
<u>Abb. 20:</u> UPGMA-Dendrogramm mit 34 <i>Brachiaria</i> -Individuen (Primer A-01 und Y-20). ...	56
<u>Abb. 21:</u> RAPD-Bandenmuster der 34 getesteten <i>Brachiaria</i> -Proben mit Primer A-01.....	56
<u>Abb. 22:</u> UPGMA-Dendrogramm mit 309 <i>Brachiaria</i> -Individuen (vereinfacht dargestellt)...	57
<u>Abb. 23:</u> 3D-Blot der Eigenvektoren aus der Hauptkoordinatenanalyse.	59
<u>Abb. 24:</u> <i>Brachiaria xantholeuca</i> . Habitus mit reifen Samen	61

<u>Abb. 25:</u> <i>Brachiaria xantholeuca</i> . Habitus vor der Samenreife	61
<u>Abb. 26:</u> Standortspezifische RAPD-Marker in <i>Sevarè</i>	63
<u>Abb. 27:</u> Standortspezifische RAPD-Marker in <i>Diffa-II</i>	63
<u>Abb. 28:</u> Standortspezifische RAPD-Marker in <i>Ouahigouya</i>	64
<u>Abb. 29:</u> Standortspezifische RAPD-Marker in <i>Maradi</i> 1994	64
<u>Abb. 30:</u> Standortspezifische RAPD-Marker in <i>Maradi</i> 1994	65
<u>Abb. 31:</u> Ergebnis einer Diskriminanzanalyse der 14 Standorte aus <i>B. xantholeuca</i>	69
<u>Abb. 32:</u> UPGMA-Dendrogramm von Standort <i>H4</i>	72
<u>Abb. 33:</u> UPGMA-Dendrogramm von Standort <i>H5</i>	73
<u>Abb. 34:</u> UPGMA-Dendrogramm von Standort <i>H10</i>	74
<u>Abb. 35:</u> UPGMA-Dendrogramm von Standort <i>Maradi</i>	75
<u>Abb. 36:</u> Ergebnisse der Diskriminanzanalyse der Standorte <i>H1,H2,H4, H5</i> und <i>H10-H13</i> . ..	78
<u>Abb. 37:</u> UPGMA-Dendrogramm von <i>B. nidulans</i>	82
<u>Abb. 38:</u> Hauptkoordinatenanalyse der 81 Individuen von <i>B. nidulans</i>	83
<u>Abb. 39:</u> UPGMA-Dendrogramm mit 30 Individuen von <i>B. orthostachys</i>	88
<u>Abb. 40:</u> Hauptkoordinatenanalyse von <i>Brachiaria orthostachys</i>	89
<u>Abb. 41:</u> Diskriminanzanalyse bei <i>B. nidulans</i> , <i>B. orthostachys</i> und Standort <i>Diffa-I</i>	90
<u>Abb. 42:</u> UPGMA-Dendrogramm von <i>B. ramosa</i>	94
<u>Abb. 43:</u> UPGMA-Dendrogramm von 4 Individuen aus <i>B. lata</i>	96
<u>Abb. 44:</u> <i>Zornia glochidiata</i> (Habitus, ICRISAT-Gelände)	98
<u>Abb. 45:</u> <i>Zornia glochidiata</i> (Habitus, Standort <i>T4</i>)	98
<u>Abb. 46:</u> UPGMA-Dendrogramm von <i>Zornia glochidiata</i>	100
<u>Abb. 47:</u> UPGMA-Dendrogramm des Standortes <i>T1</i> bei <i>Z. glochidiata</i>	101
<u>Abb. 48:</u> UPGMA-Dendrogramm des Standortes <i>T3</i> bei <i>Z. glochidiata</i>	103

Tabellenverzeichnis

<u>Tab. 1:</u> Niederschlagsvariabilität in Niamey in den Jahren 1993–1995.	14
<u>Tab. 2:</u> Beschreibung der 34 Teststandorte in Niger, Mali und Burkina Faso.....	24
<u>Tab. 3:</u> 309 <i>Brachiaria</i> -Individuen aus 25 Standorten in Niger, Mali und Burkina Faso.	52
<u>Tab. 4:</u> 10 ausgewählte Primer für die RAPD-Analyse bei <i>Brachiaria</i>	53
<u>Tab. 5:</u> Vergleich der morphologischen und molekulargenetischen Analyse.....	55
<u>Tab. 6:</u> Mittlere Dice-Indices der fünf <i>Brachiaria</i> -Arten	58
<u>Tab. 7:</u> 188 <i>B. xantholeuca</i> Individuen aus 14 Standorten	60
<u>Tab. 8:</u> Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei <i>B. xantholeuca</i>	62
<u>Tab. 9:</u> Standortspezifische RAPD-Marker an drei Standorten von <i>B. xantholeuca</i>	62
<u>Tab. 10:</u> Ergebnisse der Clusteranalyse bei <i>B. xantholeuca</i>	67
<u>Tab. 11:</u> Mittlere Dice-Indices für 14 Standorte bei <i>Brachiaria xantholeuca</i>	68
<u>Tab. 12:</u> Ergebnisse der Varianzanalyse bei <i>B. xantholeuca</i>	70
<u>Tab. 13:</u> Varianzanalyse der Standorte <i>H4, H5, H10</i> und <i>Maradi</i> für <i>B. xantholeuca</i>	76
<u>Tab. 14:</u> Ergebnisse der Diskriminanzanalyse der Standorte <i>H1-H4, H5</i> und <i>H10-H13</i>	77
<u>Tab. 15:</u> Standorte und Probenauswahl von <i>B. nidulans</i>	79
<u>Tab. 16:</u> Anteil polymorpher und monomorpher RAPD-Marker bei <i>B. nidulans</i>	80
<u>Tab. 17:</u> Standortspezifische RAPD-Marker bei <i>B. nidulans</i>	80
<u>Tab. 18:</u> Ergebnisse der Varianzanalyse bei <i>B. nidulans</i>	85
<u>Tab. 19:</u> Standorte und Probenauswahl von <i>B. orthostachys</i>	86
<u>Tab. 20:</u> Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei <i>B. orthostachys</i>	87
<u>Tab. 21:</u> Standortspezifische RAPD-Marker bei <i>Brachiaria orthostachys</i>	87
<u>Tab. 22:</u> Ergebnisse der Varianzanalyse bei <i>B. orthostachys</i>	92
<u>Tab. 23:</u> Standort und Probenauswahl von <i>B. ramosa</i>	93
<u>Tab. 24:</u> Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei <i>B. ramosa</i>	93

<u>Tab. 25:</u> Artspezifische RAPD-Marker bei <i>B. ramosa</i>	94
<u>Tab. 26:</u> Standort und Probenauswahl von <i>Brachiaria lata</i>	95
<u>Tab. 27:</u> Polymorphe und monomorphe RAPD-Marker bei <i>B. lata</i>	95
<u>Tab. 28:</u> Artspezifische RAPD-Marker bei <i>Brachiaria lata</i>	95
<u>Tab. 29:</u> Auswahl der Standorte und Pflanzenproben von <i>Zornia glochidiata</i>	97
<u>Tab. 30:</u> Auswahl sechs polymorpher Primer für die RAPD-Analyse bei <i>Z. glochidiata</i>	99
<u>Tab. 31:</u> Spezifische RAPD-Marker bei <i>Zornia glochidiata</i>	99
<u>Tab. 32:</u> Ergebnisse der Varianzanalyse des Standortes <i>T1</i> bei <i>Z. glochidiata</i>	102
<u>Tab. 33:</u> Ergebnisse der Varianzanalyse des Standortes <i>T3</i> bei <i>Z. glochidiata</i>	103

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
AMOVA	analysis of molecular variance
bp	Basenpaar(e)
C	Cytosin
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
CTAB	Cethyltrimethylammoniumbromid
DNA	Desoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP`s	äquimolare Mischung der 2'-Desoxyribonucleosidtriphosphate dATP, dGTP, dCTP, dTTP
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations
g	Gramm
G	Guanin
GTZ	Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit
h	Stunde
HCl	Salzsäure
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources, jetzt IPGRI
ICRISAT	International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
kb	Kilobasenpaar(e)
M	molar
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
min	Minute
ml	Milliliter
mM	millimolar
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase Kettenreaktion)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriktion-Fragment-Längen-Polymorphismus)
RNAase A	Ribonuklease A
SDS	Sodiumdodecylsulfat
T	Thymin
Taq	<i>Thermophilus aquaticus</i>
TE	Tris-EDTA
Tris	Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
U	Unit (Einheit)
UPGMA	Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic averages
UV	ultraviolettes Licht
Vol.	Volumen
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

Chemikalienverzeichnis

CTAB-Extraktionspuffer (DOYLE & DOYLE, 1990)

2	%	CTAB
1.4	M	NaCl
20	mM	EDTA
100	mM	Tris HCl pH 8.0
0.2	%	2-Mercaptoethanol

Ansatz:

4	g	CTAB
16.36	g	NaCl,
1.49	g	EDTA
20	ml	Tris / HCl
0.4	ml	2-Mercaptoethanol

mit Bidest auf 200 ml auffüllen

SDS-Extraktionspuffer (EDWARDS, 1991)

0.2	M	Tris / HCl pH 7.4
0.25	M	NaCl
25	mM	EDTA pH 8.0
0.5	%	SDS

Ansatz:

10	ml	1M Tris / HCl pH 7.4
2.5	ml	5M NaCl
2.5	ml	SDS 10 %
2.5	ml	0.5 M EDTA pH 8.0
32.5	ml	Bidest

λ -Marker (DNA-Konzentration)

375 ng / μ l stock solution

Ansatz:

10	μ l	λ - Marker
75	μ l	Dye
290	μ l	Bidest

Einsatz: 1 μ l = 10 ng DNA

DNA-Längenstandard

50	μ l	DNA Ladder (BRL)
50	μ l	Dye
150	μ l	Bidest

Einsatz: 1 μ l pro Lane

dNTP-Mix

10	mM	dATP
10	mM	dCTP
10	mM	dGTP
10	mM	dTTP

Ansatz:

10	μ l	dATP
10	μ l	dCTP
10	μ l	dGTP
10	μ l	dTTP
460	μ l	Bidest

Dye DNA-Farbstoff (6 x)

0.25	%	Xylencyanol
0.25	%	Bromphenolblau
30	%	Glycerol

Ansatz:

0.25	g	Xylencyanol
0.25	g	Bromphenolblau
30	ml	Glycerol
70	ml	Bidest

TAE-Puffer (50 x)

2	M	Trisacetat
0.05	M	EDTA

Ansatz:

242	g	Tris
1	ml	Essigsäure
18.6	g	EDTA
mit Bidest auf 1 Liter auffüllen		

PCR-Puffer

10 mM Tris / HCl pH 9.0
 50 mM KCl
 2.5 mM MgCl₂
 0.1 % Triton X-100

Ansatz:

100 µl Tris / HCl 100 mM
 100 µl KCl 500 mM
 50 µl MgCl₂ 50 mM
 1 µl Triton X-100
 749 µl Bidest

TE-Puffer

10 mM Tris / HCl pH 8.0
 1 mM EDTA pH 8.0

Ansatz:

0.242 g Tris
 0.074 g EDTA
 mit Bidest auf 200 ml auffüllen, mit HCl
 einen pH 8.0 einstellen

Primer

Einsatz: 1µl (5 pmol) pro Ansatz

Proteinase K

10 mg / ml Bidest
 Konzentration: 10 µg/ml bei 37-56°C.

RNase (Ribonuclease A)

10 mg / ml in 10 mM Tris / HCl
 pH 7.5 und 15 mM NaCl

Ansatz:

10 mg RNase A
 10 µl Tris 1M
 15 µl NaCl 1M
 965 µl Bidest
 15 min bei 100 °C im Wasserbad erhitzen
 und dann langsam abkühlen

TBE-Puffer (10x)

0.9 M Trisborat
 0.02 M EDTA

Ansatz:

108 g Tris
 55 g Borsäure
 7.44 g EDTA
 mit Bidest auf 1 Liter auffüllen