

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.

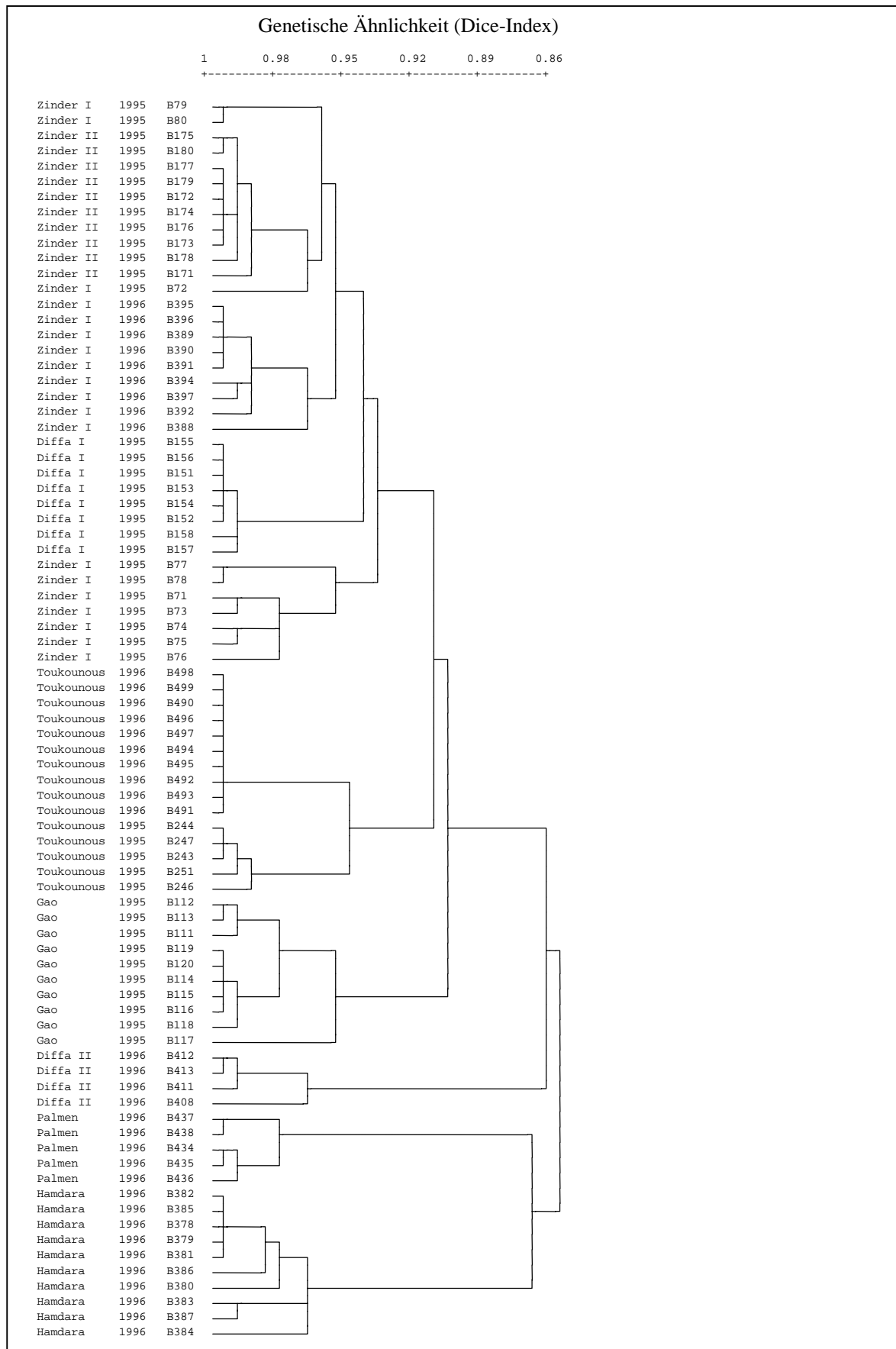


Abb. 37: UPGMA-Dendrogramm von *B. nidulans*.

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.

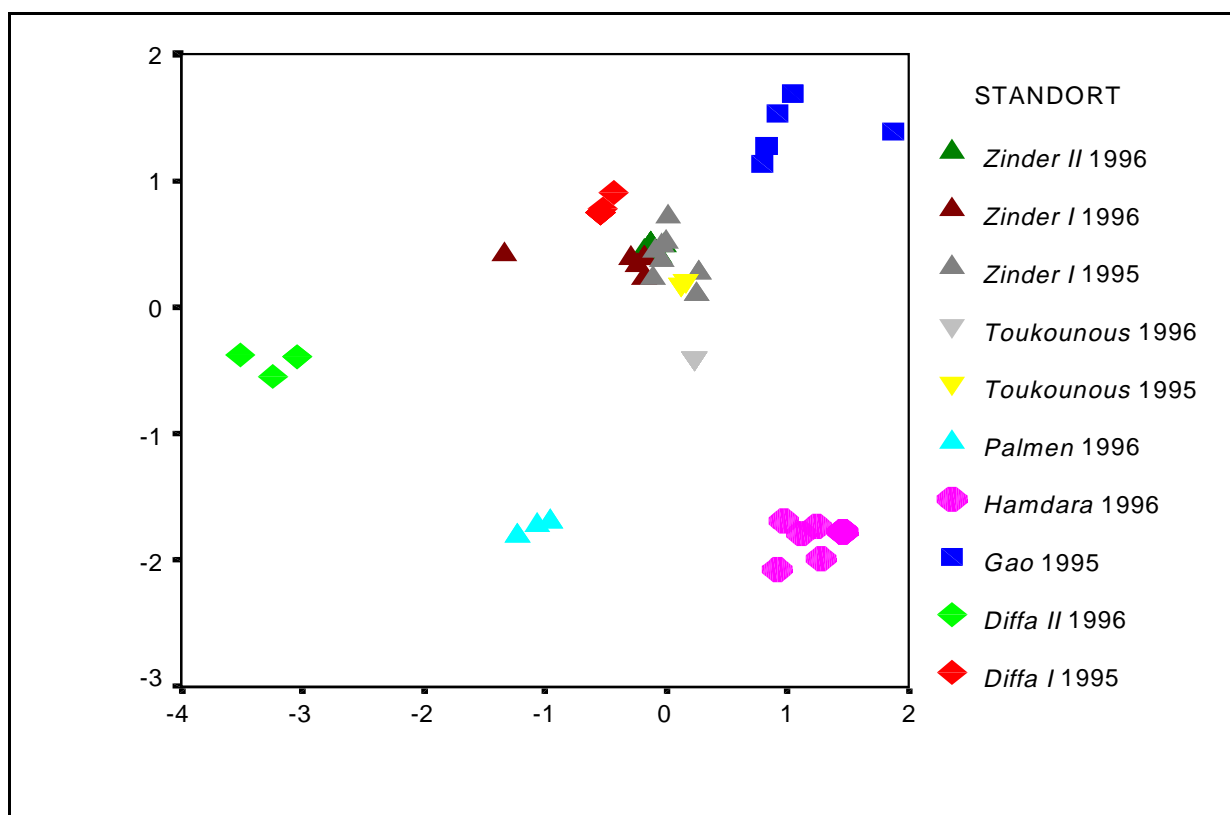


Abb. 38: Hauptkoordinatenanalyse der 81 Individuen von *B. nidulans*. Die zehn Stichproben stammen aus acht Standorten, für *Zinder-I* und *Toukounous* wurden je 2 Sammeljahre aus 1995 und 1996 ausgewertet. Einige Koordinatenpunkte sind übereinander projiziert.

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	

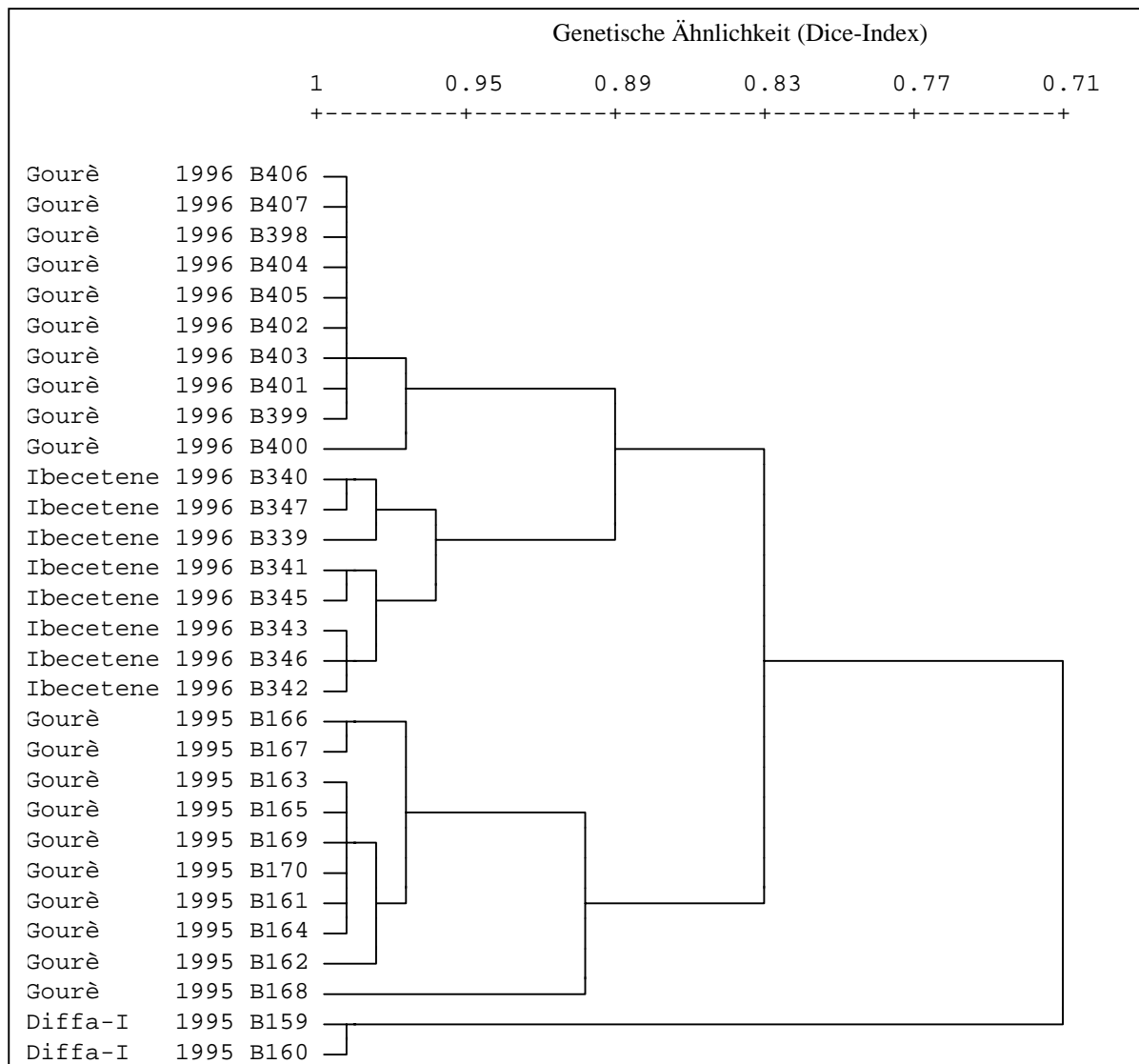


Abb. 39: UPGMA-Dendrogramm mit 30 Individuen von *B. orthostachys*.
Es wurden 79 RAPD-Marker ausgewertet. *Gourè* wurde 1995 und 1996 beprobt.

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.

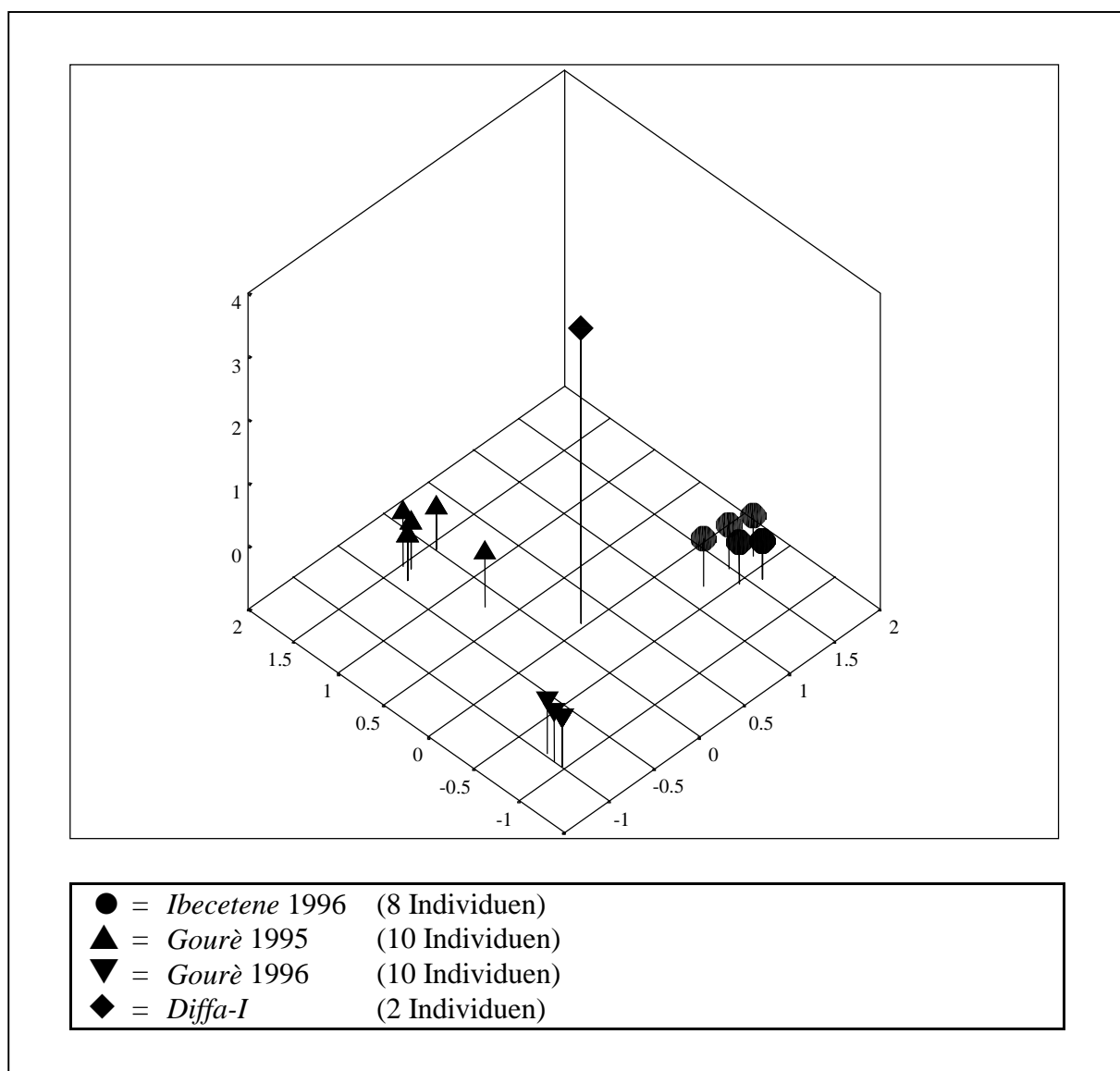


Abb. 40: Hauptkoordinatenanalyse von *Brachiaria orthostachys*.

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.

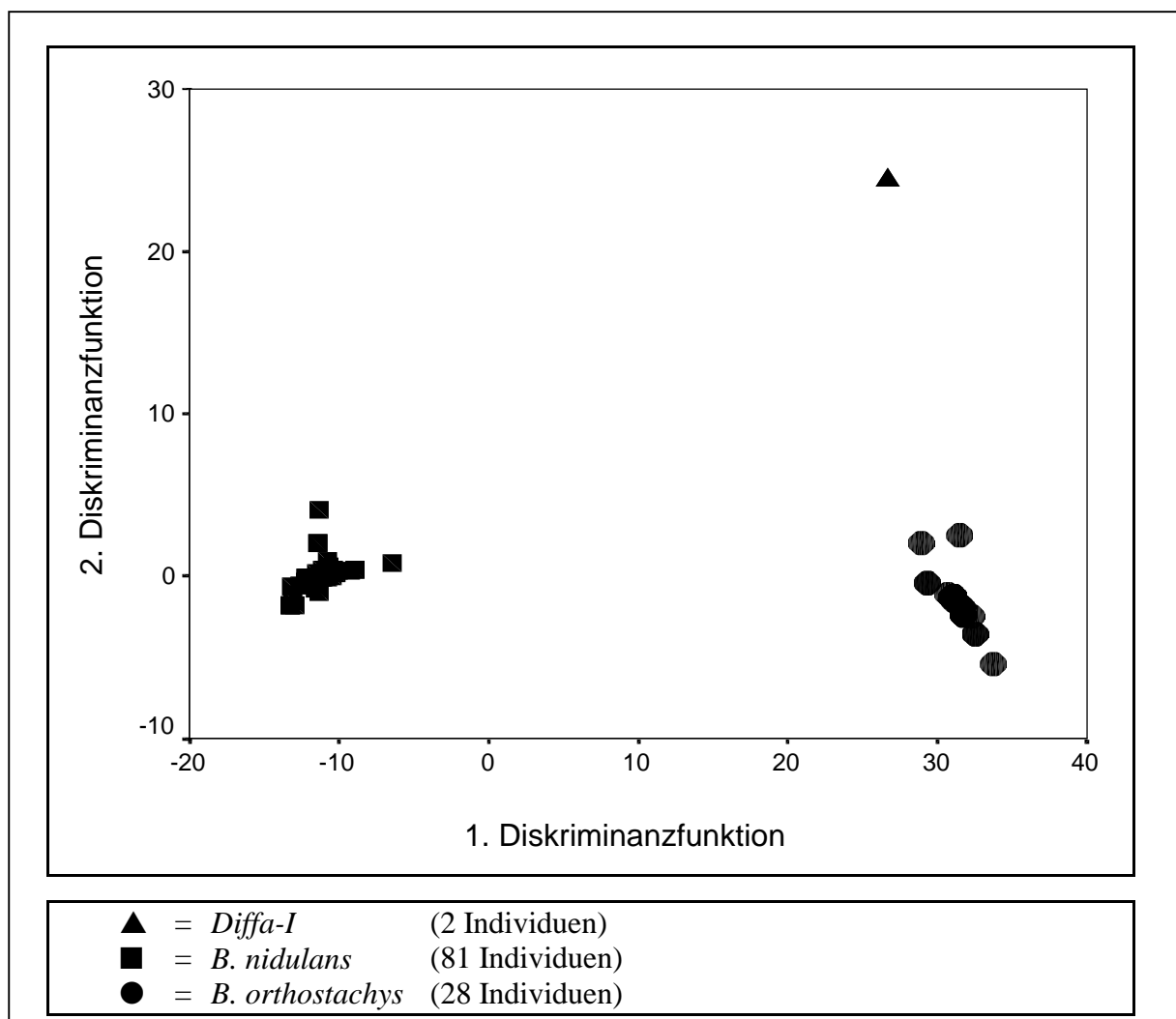


Abb. 41: Diskriminanzanalyse mit 111 Individuen aus *Brachiaria nidulans* (81), *Brachiaria orthostachys* (28) und dem Standort *Diffa-I* (2). Abgetragen sind die beiden Diskriminanzfunktionen, die zusammen 100 % (97 % und 3 %) der Gesamtvarianz erklären.

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*

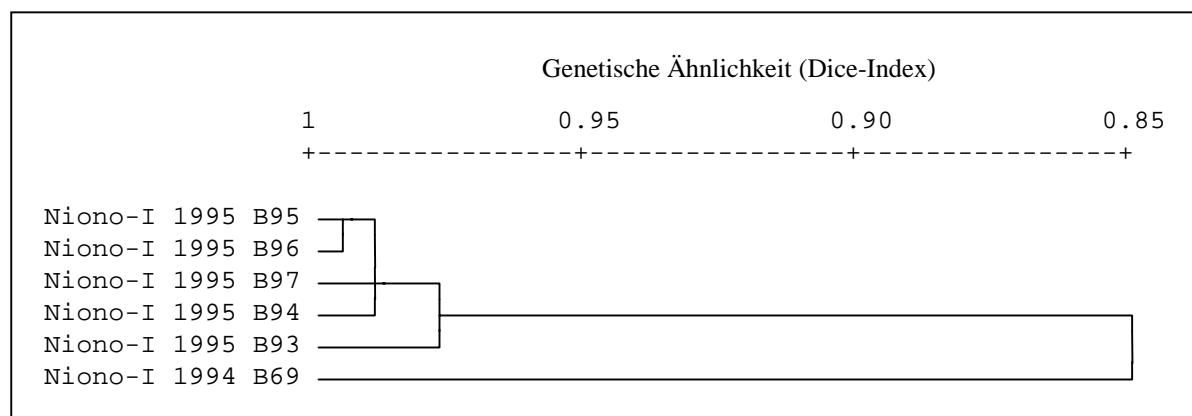
In der RAPD-Analyse wurden mit 10 Primern 6 Individuen untersucht und insgesamt 70 Marker amplifiziert.

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

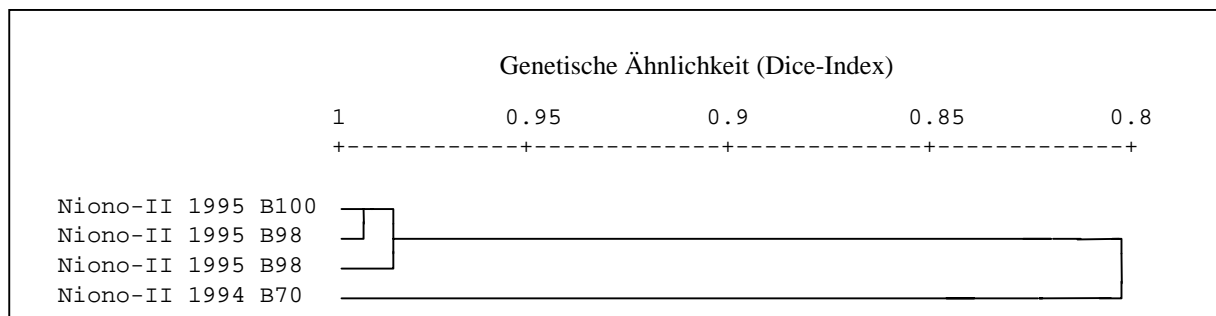


Abb. 43: UPGMA-Dendrogramm von 4 Individuen aus *B. lata*.

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 tigreur (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		