

Vorkommen des Alpenveilchens im Brigachtal – eine molekulargenetische Analyse

VON HANNAH MIRIAM JAAG und THOMAS KRING

Zusammenfassung

Mit der genetischen Untersuchung des Vorkommens des Alpenveilchens im Brigachtal konnte nachgewiesen werden, dass es sich dabei um das Europäische Alpenveilchen (*Cyclamen purpurascens*) und nicht um eine Zuchtform handelt. Gegen ein natürliches Vorkommen spricht die Auswertung älterer Beschreibungen der Flora der Baar. Um eine mögliche Herkunftsregion bestimmen zu können, muss weiteres Pflanzenmaterial untersucht werden.

Vorbemerkung

Seit mehreren Jahren beobachtet Herr Elmar Peter aus Lebach im Saarland regelmäßig das Vorkommen des Alpenveilchens im Weißwald. Das Vorkommen befindet sich im Gewann Haselbuck auf der Gemarkung Überauchen, welches zur Gemeinde Brigachtal gehört. Die geologische Karte (GK 50) weist am Standort mittleren Muschelkalk aus dem Mitteltrias (etwa 252 bis 201 Millionen Jahre vor heute) als anstehendes Gestein aus. Nach der Bodenkarte von Baden-Württemberg (BK 50) hat sich aus dem Muschelkalk-Hangschutt eine Rendzina, also ein flachgründiger Boden, entwickelt. Der nach Süden exponierte Standort befindet sich etwa 730 bis 740 m ü. NN (montane Stufe).

In Gesprächen zwischen Herrn Peter und den Autoren kristallisierten sich zwei Fragen heraus: Handelt es sich bei dem Vorkommen um das Europäische Alpenveilchen (*Cyclamen purpurascens*), um eine andere *Cyclamen*-Art oder um eine Zuchtform? Ist das Vorkommen, sofern es sich um *Cyclamen purpurascens* handelt, ein autochthones, also ein natürliches Vorkommen, oder wurde der Bestand angesalbt/angepflanzt.

Einleitung

In der Literatur werden etwa 20 Arten verschiedener *Cyclamen* (Alpenveilchen) unterschieden. Das Europäische Alpenveilchen (*Cyclamen purpurascens*) ist aber die einzige in Deutschland heimische *Cyclamen*-Art [A].

Verschiedene Pflanzenarten werden heute anhand ihrer DNA (Desoxyribonukleinsäure), also ihrer Erbinformationen, unterschieden. Hierfür verwendet man meistens Fragmente (Abschnitte) der Chloroplasten-DNA [1] oder auch Fragmente der ribosomalen 5,8S rDNA [3].



Alpenveilchen im Weißwald (Gemeinde Brigachtal). Foto: Thomas Kring

Ziel dieser Arbeit war die Artbestimmung des Alpenveilchen-Vorkommens im Weißwald. Hierfür wurde von den Autoren die DNA zweier Standorte des Alpenveilchens aus dem Brigachtal isoliert. Als Kontrolle diente ein Alpenveilchen aus einer Gärtnerei, von der ebenfalls die DNA isoliert wurde.

Aus der DNA wurden vier verschiedene Abschnitte vervielfältigt. Bei den Abschnitten handelt es sich um drei Fragmente aus der Chloroplasten-DNA (rps16, tRNA-Leu, trnD-trnY) und ein Fragment aus der 5,8S rDNA. Diese Fragmente wurden aufgereinigt, sequenziert und mit der NCBI-Datenbank (National Center for Biotechnology Information) [B] auf der Website der National Library of Medicine (NLM) abgeglichen.

Der Alpenraum ist das natürliche Verbreitungsgebiet des Europäischen Alpenveilchens. Einzelne regionale Vorkommen von *Cyclamen purpurascens* wurden 2012 vom Botanischen Institut in Bratislava sequenziert und veröffentlicht [2]. Hierfür wurde ein Abschnitt vom Chloroplasten-Chromosom sequenziert, dessen Fragment den Namen „trnD-trnY Intergenic spacer“ trägt. Für dieses DNA-Fragment von *Cyclamen purpurascens* existieren deshalb Sequenzen aus verschiedenen Regionen Europas. Andere *Cyclamen*-Arten wurden nicht sequenziert.

Mit den Sequenzen¹ aus dem Weißwald und einer Kontrollpflanze aus einer Gärtnerei wurde ein „Nucleotide Blast“² mit der NCBI-Datenbank [B] auf der Website der National Library of Medicine (NLM) durchgeführt. Dann wurden die entsprechenden Sequenzen in eine Datenbank und anschließend mit dem CLUSTALW-Programm [C] in einen phylogenetischen Baum überführt. Der Vergleich der einzelnen Sequenzen erfolgte mit dem Programm „Multiple Sequence Alignment“ [D].

Ergebnisse

Fragment 5.8S ribosomales RNA Gen

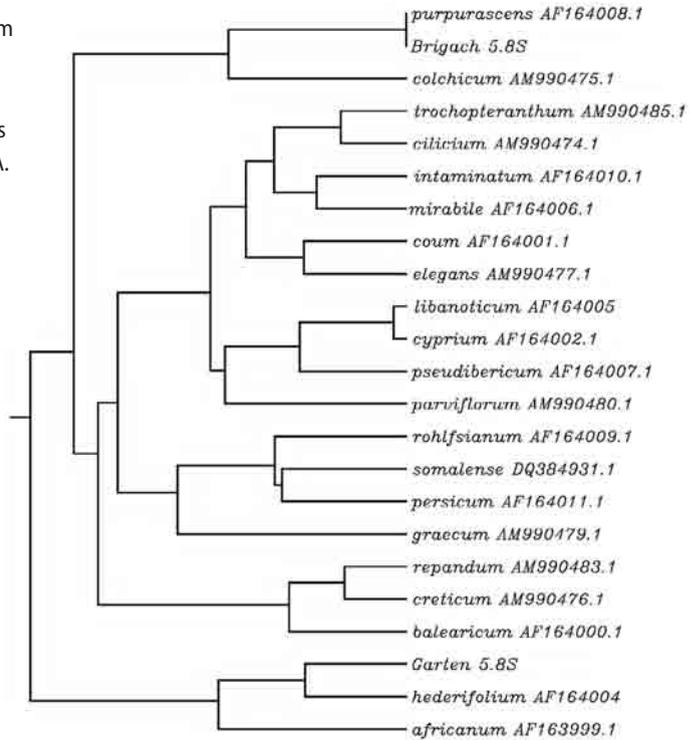
Die Sequenz „5.8S ribosomales RNA Gen“ aus der nukleären DNA wurde mit der GenBank der NCBI durch einen BLAST durchsucht. Hierbei kam als größte Übereinstimmung mit dem Vorkommen im Weißwald die Sequenz von „*Cyclamen purpurascens* internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene“ mit der GenBank-Nummer: AF 164008.1. Die Kontrollpflanze der Gärtnerei hat die größte Übereinstimmung mit *Cyclamen hederifolium*. Alle vorhandenen Alpenveilchen-Arten, bei denen das Fragment „5.8S ribosomales RNA Gen spacer 1“ bekannt sind, wurden in eine Datenbank überführt, und es wurde ein phylogenetischer Baum berechnet.

Fragment rps16 und Fragment tRNA-Leu

Für das Fragment rps16 war die größte Übereinstimmung mit dem Vorkommen im Brigachtal die Sequenz von „*Cyclamen purpurascens* chloroplast rps16 gene, intron“ mit der GenBank-Nummer: AM 990510.1. Die Kontrollpflanze der Gärtnerei hat die größte Übereinstimmung mit *Cyclamen hederifolium*.

Für das Fragment tRNA-Leu war die größte Übereinstimmung mit dem Vorkommen im Brigachtal die Sequenz von „*Cyclamen purpurascens* chloroplast tRNA-Leu gene for transfer RNA-Leu“ mit der GenBank-Nummer: AM 990536.1. Die Kontrollpflanze der Gärtnerei hat, wie zu erwarten, die größte Übereinstimmung mit *Cyclamen hederifolium*.

Phylogenetischer Baum
der verschiedenen
Alpenveilchenarten
anhand des Fragments
5.8S ribosomales rDNA.



Fragment trnD-trnY

Die Sequenz „trnD-trnY Intergenic spacer“ aus der Chloroplasten-DNA wurde mit der GenBank der NCBI durch einen BLAST durchsucht. Das erste Resultat vom BLAST war: 99,9% Übereinstimmung mit „*Cyclamen purpurascens* isolate CP282 trnD-trnY intergenic spacer, partial sequence; tRNA-Tyr (trnY) gene, trnY-trnE intergenic spacer, and tRNA-Glu (trnE) gene, complete sequence; and trnE-trnT intergenic spacer, partial sequence“ mit der GenBank-Nummer: JF 505115.1. Diese Pflanze stammt laut SLOVAK et al. [2] aus dem serbischen Nationalpark Tara.

Da die Ähnlichkeiten mit 99,9% der einzelnen Standorte von *Cyclamen purpurascens* mit den hinterlegten Sequenzen „trnD-trnY Intergenic spacer“ aus der Chloroplasten-DNA doch sehr groß sind, wurden einige der Standorte aus der Studie [2] miteinander verglichen.

Als Ergebnis kam heraus, dass das gesamte sequenzierte Fragment, das an den verschiedenen Standorten untersucht wurde, sich nur an 4 Stellen unterscheidet. Das Fragment vom Nationalpark Tara war hingegen identisch mit einem Fragment aus dem Bayerischen Wald.

Aus diesen vier Stellen des Fragments „trnD-trnY Intergenic spacer“ lassen sich entgegen der Aussage nach SLOVAK et al. keine Rückschlüsse auf den Standort des Europäischen Alpenveilchens ziehen.

Diskussion

Anhand der vier DNA-Fragmente wurde nachgewiesen, dass es sich bei den Alpenveilchenvorkommen im Weißwald um das Europäische Alpenveilchen (*Cyclamen purpurascens*) handelt. Es ist mit Sicherheit keine Zuchtform.

Die geographische Kartierung des Europäischen Alpenveilchens nach SLOVAK et al. [2] enthält leider nicht die versprochenen Unterschiede innerhalb der Sequenzen. Deshalb kann über den Ursprung der Pflanzen nach jetzigem Untersuchungsstand nur spekuliert werden. So kann das *Cyclamen purpurascens* im Weißwald ebenso von Pflanzen aus Serbien als auch aus Bayern oder vom Gardasee stammen.

Um die Herkunft der Pflanzen genauer zu bestimmen, erscheint das Fragment aus der „5.8S ribosomale rDNA“ deutlich besser geeignet. Um dies zu testen, müssten Pflanzen der verschiedenen natürlichen Standorte von *Cyclamen purpurascens* erneut mit geeigneten Markern untersucht werden.

Bis entsprechendes Probenmaterial gesammelt wird und untersucht werden kann, ist die Frage der Herkunft der Pflanzen nur spekulativ zu beantworten. Ein Blick in die vorliegende Literatur zur Flora der Baar und von Baden-Württemberg kann dabei aber etwas Licht auf die Frage werfen, ob das Vorkommen autochthon ist, also natürlichen Ursprungs, oder nicht.

ZAHN brachte 1889 mit seiner „Flora der Baar und der angrenzenden Landesteile“ ein Verzeichnis der nachgewiesenen und in verschiedenen Publikationen beschriebenen Pflanzenfunde heraus. In seiner Beschreibung wird das Alpenveilchen nicht erwähnt [4].

In der „Illustrierten Flora von Mittel-Europa“ beschreibt HEGI 1927, dass *Cyclamen europaeum* (Synonym für *Cyclamen purpurascens*) einzig in Bayern vorkommt. Zuweilen wurde die Art aber angepflanzt und ist verwildert. Im badischen Bodenseegebiet werden drei Anpflanzungen bei Salem aufgeführt. Nördlich des Bodensees in Richtung Baar sind keine Vorkommen beschrieben [5].

OLTMANNs beschreibt 1927 in seinem Werk „Das Pflanzenleben des Schwarzwaldes“ auch das östliche Vorland des Schwarzwaldes und behandelt in diesem Abschnitt fast ausschließlich die Baar. Auf den Seiten 52 und 53 macht er Ausführungen zu einer Begehung des Cros galle in der Nähe von Bellagio am Comer See. Dort hat er unter anderem *Cyclamen europaeum* gefunden und schreibt explizit, dass diese und die anderen sechs aufgeführten Arten nicht bei uns (gemeint ist die Baar und der Schwarzwald) vorkommen [6].

Die „Florenliste von Baden-Württemberg“ kennzeichnet *Cyclamen purpurascens* als eine Sippe mit Etablierungstendenz. Konsequenterweise wird dann auch *Cyclamen purpurascens* in der aktuellen „Roten Liste der Farn- und Samenpflanzen Baden-Württemberg“ nicht mehr behandelt. Als Grund wird angegeben, dass in Baden-Württemberg „lediglich Ansalbungen und unbeständige Verwilderungen“ vorkommen [7] [8].

Danksagung

An dieser Stelle möchten wir uns bei Herrn Peter für die Anregung der vorliegenden Arbeit bedanken. Nur durch seine großzügige Spende an den Baarverein war die Förderung der durchgeführten Untersuchungen durch den Verein möglich.

Autoren

DR. HANNAH MIRIAM JAAG

promovierte 2001 (Dr. rer. nat.) am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln. Nach einem mehrjährigen Forschungsaufenthalt in Lexington, Kentucky (USA), arbeitet sie seit 2013 als freie Wissenschaftlerin in Hüfingen.

THOMAS KRING

Nach dem Studium der Agrarwissenschaften (Umweltsicherung und Entwicklung ländlicher Räume) war er langjährig im Bereich der Landschafts- und Umweltplanung tätig. Seit 2013 ist er als Leiter des Naturschutzgroßprojektes Baar beim Schwarzwald-Baar-Kreis angestellt.

Dr. Hannah M. Jaag

Thomas Kring

Hauptstraße 52 · 78183 Hüfingen

info@hmjaag.de

Literatur

- [1] SHAW, Joey et al. (2005): The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92 (1): 142–166.
- [2] SLOVAK, Marek et al. (2012): Multiple glacial refugia and postglacial colonization routes inferred for a woodland geophyte, *Cyclamen purpurascens*: patterns concordant with the Pleistocene history of broad-leaved and coniferous tree species. *The Linnean Society of London* 105: 741–760.
- [3] ANDERBERG, Arne A. / TRIFT, Ida / KÄLLERSJÖ, Mari (2000): Phylogeny of *Cyclamen* L. (Primulaceae): Evidence from morphology and sequence data from the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Plant Syst. Evol.* 220:147–160.
- [4] ZAHN, Hermann (1889): Flora der Baar und der angrenzenden Landesteile. In: *Schriften des Vereins für Geschichte und Naturgeschichte der Baar und angrenzender Landesteile in Donaueschingen* (VII. Heft, Seite 1–174). Abrufbar über

[www.Baarverein.de \(http://baarverein.de/schriftenarchiv/1889_7.pdf\)](http://baarverein.de/schriftenarchiv/1889_7.pdf).

- [5] HEGI, Gustav (1927): *Illustrierte Flora von Mittel-Europa* (V. Band, 3. Teil). J. F. Lehmann Verlag, Stuttgart (Seite 1845).
- [6] OLTMANN, Friedrich (1927): *Das Pflanzenleben des Schwarzwaldes*. 3. Auflage. Herausgeber: Badischer Schwarzwaldverein (Seite 52–53).
- [7] BREUNING, Thomas / DEMUTH, Siegfried (1999): *Rote Liste der Farn- und Samenpflanzen Baden-Württemberg*. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe.
- [8] BUTTLER, Karl Peter / HARMS, Karl Hermann (1989): *Florenliste von Baden-Württemberg*. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe.
- [9] PHILIPPI, Georg / QUINGER, Burkhard / SEBALD, Oskar (1990): *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Band 2: Spezieller Teil (Spermatophyta)*. Herausgeber: SEBALD, Oskar / SEYBOLD, Siegmund / PHILIPPI Georg. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart (Seite 396–398).

Webseiten

- [A] www.deutschlandflora.de [11.8.2016]. Internetausgabe des „Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands“, Herausgegeben vom Netzwerk Phytodiversität Deutschlands e.V. (NetPhyD) und dem Bundesamt für Naturschutz (BfN) unter Mitarbeit der Gesellschaft zur Erforschung der Flora Deutschlands e.V. (GEFD).
- [B] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- [C] <http://www.genome.jp/tools/clustalw/>.
- [D] <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/>.

Anmerkungen

- 1 Die Sequenzierungen erfolgten durch SRD – Scientific Research and Development GmbH, Bad Homburg.
- 2 BLAST (engl.) = Basic Local Alignment Search Tool, Programm zur Analyse biologischer Sequenzdaten.