

## RAPD-Untersuchungen und Chromosomenzählungen in der *Potentilla-collina*-Gruppe (*Rosaceae*)

Von T. Gregor, Vechta, J. Rollik und K. Weising, Kassel

### Zusammenfassung

Random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) wurden zur Verwandtschaftsanalyse mitteleuropäischer Sippen der *Potentilla-collina*-Gruppe sowie ihrer potentiellen Elternarten *P. neumanniana* und *P. argentea* eingesetzt. Insgesamt wurden DNA-Proben aus 42 Herkünften mit sechs Zufalls-10mer-Primern amplifiziert, und die elektrophoretisch aufgetrennten Bandenmuster über UPGMA-Clusteranalyse ausgewertet. Zusätzlich wurden Chromosomenzählungen durchgeführt. Die RAPD-Daten bestätigen weitgehend die morphologische Zuordnung der Pflanzensippen. *P. argentea* und *P. neumanniana* bilden demnach zwei deutlich voneinander getrennte Cluster. Von den *P.-collina*-Sippen stehen *P. praecox* und *P. alsatica* ined. innerhalb des *P.-argentea*-Clusters und *P. leucopolitana*, *P. alpicola* und *P. wismariensis* an dessen Basis. *P. lindackeri* und *P. heptaphylla* ähnliche Herkünfte sind mit dem *P.-neumanniana*-Cluster assoziiert. Für Sippen der *P.-collina*-Gruppe wurden somatische Chromosomenzahlen von 42, für *P. argentea* von 14, 28 und 42, für *P. neumanniana* von 42 und 49 festgestellt.

### Abstract

Random amplified polymorphic DNAs were used to evaluate genetic relationships within and among Central European accessions of the *Potentilla collina* group and its potential parental species, *P. neumanniana* and *P. argentea*. All in all, 42 accessions were PCR-amplified with six random 10mer primers. Chromosome counts were also performed. RAPD banding patterns obtained after gel electrophoresis of the PCR products were evaluated by UPGMA cluster analysis. The resulting phenogram generally confirmed previous species designations based on morphological characteristics. *P. argentea* and *P. neumanniana* accessions each form a separate cluster. Of the *P. collina* accessions, *P. praecox* and *P. alsatica* ined. are nested within *P. argentea*, whereas *P. leucopolitana*, *P. alpicola* and *P. wismariensis* are in a basal position of the *P. argentea* cluster. *P. lindackeri* and two undetermined accessions similar in habit to *P. heptaphylla* are associated with *P. neumanniana*. Somatic chromosome numbers were 42 for all members of the *P. collina* group, 14, 28 and 42 for *P. argentea*, and 42 and 49 for *P. neumanniana*.

### 1. Einleitung

Die apomiktische *Potentilla-collina*-Gruppe stellt einen der taxonomisch schwierigsten Verwandtschaftskreise der europäischen Flora dar. Auf Grund der morphologischen Ähnlichkeiten nimmt man an, dass die Mitglieder dieser Gruppe durch Hybridisierung von *P. argentea* mit *P. neumanniana* (= *P. tabernaemontani*), *P. incana* und *P. heptaphylla* entstanden sind (BALL et al. 1968). Die Monographie von WOLF (1908) ist die letzte zusammenfassende Bearbeitung der Gruppe. Bisher liegen für mehr als 60 Sippen legitime Beschreibungen vor, viele Sippen sind allerdings nahezu unbekannt geblieben. Das Verbreitungszentrum der Gruppe scheint im östlichen Mitteleuropa zu liegen. Vorkommen reichen von Zentralrussland bis zum östlichen Frankreich sowie von Südschweden bis Nord-Italien und Rumänien. Weiterhin soll die Gruppe auch im Kaukasus vorkommen (WOLF 1908). In Frankreich, Deutschland, Österreich und der Tschechischen Republik gehören Sippen der *P.-collina*-Gruppe heute zu den floristischen Raritäten, wahrscheinlich weil ihre bevorzugten Standorte – nährstoffarme, lückige Wegränder – stark zurückgegangen sind.

Wie auch in anderen apomiktischen Verwandtschaftskreisen wird die taxonomische Behandlung durch das kontinuierliche Entstehen neuer Hybridisierungsprodukte erschwert. In der Vergangenheit haben sich molekulare Untersuchungen auf DNA-Ebene als gutes Werkzeug zur Charakterisierung und Differenzierung apomiktischer Taxa erwiesen (Übersicht bei NYBOM 1996). Die von WILLIAMS et al. (1990) begründete RAPD-Methode (random amplified polymorphic DNAs) erwies sich aufgrund ihrer Kosteneffizienz und leichten Durchführbarkeit als für solche Studien geeignet. So wurden RAPDs bereits für Verwandtschaftsanalysen apomiktischer Taxa innerhalb der Rosaceae angewendet, unter anderem in den Gattungen *Rubus* (GRAHAM & McNICOL 1995), *Cotoneaster* (BARTISH et al. 2001) und *Potentilla* (HOLM 1995; HOLM & GHATNEKAR 1996; HANSEN et al. 2000). Die RAPD-Methode wurde auch in der vorliegenden Studie zur Charakterisierung mitteleuropäischer Sippen der *P. collina*-Gruppe sowie potentieller Elternarten eingesetzt.

Ergänzend wurden für den Großteil der untersuchten Pflanzen die Chromosomenzahlen erfasst.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial

Für die RAPD-Untersuchung standen 42 getopfte *Potentilla*-Pflanzen zur Verfügung. Die Herkünfte des untersuchten Materials sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Die in der Untersuchung berücksichtigten Taxa der *Potentilla-collina*-Gruppe haben folgende Verbreitungsgebiete:

*Potentilla alpicola* De la Soie 1876 ist in der südlichen Schweiz (vor allem Wallis) und in Südtirol (Vinschgau, um Bozen und Brixen) relativ weit verbreitet.

*Potentilla alsatica* ined. kommt sehr lokal um Colmar im Elsass vor. Die Sippe ist noch unbeschrieben. Von WOLF (1908) wurde sie unter *P. sordida* var. *decipiens* (JORD.) DOMIN 1904 geführt. Dieser Name bezieht sich jedoch auf ein deutlich abweichendes Taxon, dessen locus typicus in Granithügeln bei Lyon liegt.

*Potentilla praecox* F. W. Schultz 1858 ist von einer begrenzten Zahl von Fundorten am Hochrhein um Schaffhausen bekannt.

*Potentilla leucopolitana* P. J. Müll. 1862 zeigt für eine apomiktische *Potentilla*-Sippe ein auffallend großes Verbreitungsgebiet. Bisher wurden Belege aus dem Elsass (u.a. Richwiller, Avolsheim, Wissembourg), der Pfalz, dem unteren Mosel- und Ahrtal sowie aus dem Rhein-Tal zwischen Koblenz und Bonn gesehen.

*Potentilla lindackeri* Tausch 1819 ist vor allem aus der Umgebung von Prag belegt. Weiterhin liegen eine Vielzahl von Belegen aus dem Elb-Tal um Dresden vor. *P. opizii* DOMIN 1903 wird als synonym angesehen. Auch von WOLF (1908) als *P. thyrsoiflora* aus Sachsen und Böhmen angegebene Funde dürften überwiegend zu *P. lindackeri* gehören. *P. thyrsoiflora* Hülsen ex Zimmerer 1882 ist eine deutlich abweichende Sippe, die vor allem aus Nordwest-Polen bekannt ist. Angaben zum Vorkommen von *P. thyrsoiflora* in Mittelfranken (WOLF 1908, SCHWARZ 1912) gehören wahrscheinlich nicht zu *P. lindackeri*. Die von August Schwarz bei Stein südlich von Nürnberg zwischen 1900 und 1905 gesammelten Belege weichen durch auffallend üppige Entwicklung und etwas abweichende Grundblätter ab.

*Potentilla wismariensis* T. Gregor & Henker 2001 ist nach bisheriger Kenntnis auf die Umgebung der Wismar-Bucht in Mecklenburg-Vorpommern beschränkt (GREGOR & HENKER 2001).

Tabelle 1: Herkünfte des untersuchten Materials. Es werden jeweils angegeben: Untersuchungsnummer / Nummer der Pflanze / Sippe / Sammler / Sammeldatum / Land: Provinz: Landkreis: Gemeinde: Fundort / geographische Koordinaten / somatische Chromosomenzahl / Herbarbeleg, Akronym des Herbariums.

- 1 / POT 27 / *P. wismariensis* / Thomas Gregor / 24. Mai 2000 / Deutschland: Mecklenburg-Vorpommern: Landkreis Nordwestmecklenburg; Gemeinde Blowatz: nährstoffarmes Grünland an einer aufgegebenen Sandgrube auf der Insel Ahrensburg / 53°58'05"N 11°28'13"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1756 (FR).
- 2 / POT 24 / *P. wismariensis* / Thomas Gregor & Heinz Henker / 23. Mai 2000 / Deutschland: Mecklenburg-Vorpommern: Landkreis Nordwestmecklenburg; Gemeinde Blowatz: nährstoffarmes Grünland an der Südseite des Damms zur Insel Poel / 53°58'20"N 11°28'29"E / 2n = 42 / in Kultur.
- 3 / POT 25 / *P. wismariensis* / Thomas Gregor & Heinz Henker / 23. Mai 2000 / Deutschland: Mecklenburg-Vorpommern: Landkreis Nordwestmecklenburg; Gemeinde Blowatz: nährstoffarmes Grünland an einer aufgegebenen Sandgrube nahe dem Damm zur Insel Poel / 53°58'20"N 11°28'29"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1790 (FR).
- 4 / POT 77 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Reinhold Treiber / 2. Aug. 2000 / Frankreich: département Haut-Rhin: ? : commune de Ste-Croix-en-Pleine: Wegrand an Kiesgrube, Gewann "Buttermilch" / 48°58'57"N 7°27'31"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 2037 (FR).
- 5 / POT 56 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino-Alto Adige: Bolzano: Laas: Magerrasen bei Ober-Tels nordwestlich von Eysr im Vinschgau / ca. 46°37' / 10°42' / 2n = 28 / Thomas Gregor 1778 (FR).
- 6 / POT 32 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 13. Juni 2000 / Deutschland: Sachsen: Landkreis Riesa-Großenhain: Gemeinde Diesbar-Seußlitz: Magerrasen an der Heinrichs-Burg s von Seußlitz / 51°14'20"N 13°25'57"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1839 (FR).
- 7 / POT 81 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Reinhold Treiber / 2. Aug. 2000 / Frankreich: département Haut-Rhin: ? : commune de Hirtzfeld: Kiesweg im Südosten des "Niederwald" / 47°55'16"N 7°27'52"E / - / Thomas Gregor 1768 (FR).
- 8 / POT 88 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 2. Aug. 2000 / Frankreich: department Haut-Rhine: canton de Neuf-Brisach: commune de Volgelsheim: Weg in Magerrasen auf aufgegebenem Militärgelände n von Neuf-Brisach / 7°30'04"N 48°02'38"E / 2n = 28 / Thomas Gregor 1805 (FR).
- 9 / POT 71 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 11. Juli 2000 / Italien: Trentino-Alto Adige: Bolzano: Brixen: Wegrand am Schloss Krakofl bei Brixen / 46°43'N 11°39'E / 2n = 14 / Thomas Gregor 1804 (FR).
- 10 / POT 58 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino-Alto Adige: Bolzano: Sluderno; Wegrand in Magerrasen bei Sluderno (Schluderns) / 46°40'N 10°35'E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1777 (FR).
- 11 / POT 28 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 24. Mai 2000 / Deutschland: Mecklenburg-Vorpommern: Landkreis Nordwestmecklenburg; Gemeinde Blowatz: Magerrasen an einer aufgegebenen Sandgrube auf der Insel Ahrensburg / 53°58'05"N 11°28'13"E / 2n = 14 / Thomas Gregor 1803 (FR).
- 12 / POT 19A / *P. argentea* / Thomas Gregor / 17. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Altenweiler: Verbandsgemeinde Altenahr: Wegrand in Weinberg oberhalb Altenahr / 50°30'18"N 6°59'52" / 2n = 14 / Thomas Gregor 1791 (FR).
- 13 / POT 21 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 17. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Neuwied: Verbandsgemeinde Unkel: Wegrand in Magerrasen auf dem "Erpeler Ley" / 50°35'02"N 7°14'56" / 2n = 28 / Thomas Gregor 1797 (FR).
- 14 / POT 33 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 13. Juni 2000 / Deutschland: Sachsen: Landkreis Riesa-Großenhain: Gemeinde Diesbar-Seußlitz: Magerrasen s von Seußlitz / 51°14'16"N 13°25'59"E / 2n ca. 42 / Thomas Gregor 1785 (FR).
- 15 / POT 47 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ? : magerer Wegrand zwischen Feldern sw von Mokrá Vrata / 49°48'N 14°16'E / 2n = 28 / Thomas Gregor 2035 (FR).
- 16 / POT 43 / *P. argentea* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ? : magerer Wegrand an Wochenendsiedlung etwa 1 km se von Nová Ves pod Pleř / 49°50'N 14°17'E / - / Thomas Gregor 1767 (FR).

- 17 / POT 35 / *P. argentea* / Thomas Gregor & Frank Müller / 14. Juni 2000 / Deutschland: Sachsen: Landkreis Sächsische Schweiz: Dohna Stadt: Bahndamm se von Dohna / 51°57'13"N 13°51'10"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1830 (FR).
- 18 / POT 60 / *P. alpicola* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino Alto Adige: Bolzano: Sluderno; Wegrand in Magerrasen bei Sluderno (Schluderns) / 46°40'N 10°35'E / – / Thomas Gregor 1813 (FR).
- 19 / POT 61 / *P. alpicola* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino Alto Adige: Bolzano: Sluderno; Wegrand in Magerrasen bei Sluderno (Schluderns) / 46°40'N 10°35'E / – / Thomas Gregor 1757 (FR).
- 20 / POT 67 / *P. alpicola* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 2000-07-10 / Italien: Trentino Alto Adige: Bolzano: Wegrand in Magerrasen bei Sluderno (Schluderns) / 46°40'N 10°35'E / – / Thomas Gregor 1760 (FR).
- 21 / POT 73 / *P. praecox* / Thomas Gregor & Eberhard Koch / 27. Juli 2000 / Deutschland: Baden-Württemberg: Landkreis Konstanz: Gemeinde Gottmadingen: Kiesig-grusige Fläche zwischen Häusern in der Erwin-Dietrich-Straße in Gottmadingen / 47°44'15"N 8°46'52"E / 2n = 42 / in Kultur.
- 22 / POT 75 / *P. praecox* / Thomas Gregor & Eberhard Koch / 27. Juli 2000 / Deutschland: Baden-Württemberg: Landkreis Konstanz: Gemeinde Gottmadingen: Kiesig-grusige Fläche zwischen Häusern in der Erwin-Dietrich-Straße in Gottmadingen / 47°44'15"N 8°46'52"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1770 (FR).
- 23 / POT 91 / *P. argentea* × *neumanniana* / Franz Dunkel / 28. Aug. 1999 / Deutschland: Hessen: Landkreis Darmstadt-Dieburg: Gemeinde Pfungstadt: magerer Wegrand südlich von Pfungstadt nahe dem Schwimmbad / 49°47'24"N 8°36'53"E / 2n = 42 / in Kultur.
- 24 / POT 7 / *P. leucopolitana* / Thomas Gregor / 15. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Cochem-Zell: Verbandsgemeinde Trais-Karden: Wegrand in Magerrasen im "Krailsbachtal" zwischen Karden und Müden / 50°11'22"N 7°18'59"E / 2n = 42 / in Kultur.
- 25 / POT 12/1 / *P. leucopolitana* / Thomas Gregor / 16. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Mayen-Koblenz: Verbandsgemeinde Unter mosel: magerer Wegrand an Stationenweg bei der "Niederburg" bei Kobern / 50°18'45"N 7°27'26"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1802 (FR).
- 26 / POT 105 / *P. leucopolitana* / Thomas Gregor & Christian Weingart / 25. Sep. 2000 / Rheinland-Pfalz: Landkreis Südliche Weinstraße: Verbandsgemeinde Annweiler am Trifels: magere Weide sw Gut "Hohenberg" / 49°12'36"N 7°59'53"E / – / Thomas Gregor 1853 (FR).
- 27 / POT 83 / *P. alsatica* ined. / Thomas Gregor / 2. Aug. 2000 / Frankreich: département Haut-Rhine: canton de Neuf-Brisach: commune de Volgelshem: Weg in Magerrasen auf aufgegebenem Militärgelände n von Neuf-Brisach / 7°30'04"N 48°02'38"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1774 (FR).
- 28 / POT 3 / *P. leucopolitana* / Thomas Gregor / 15. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Cochem-Zell: Verbandsgemeinde Cochem: Wegrand in Magerrasen am Pinnerberg bei Cochem / 50°09'08"N 7°09'46"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1820 (FR).
- 29 / POT 4 / *P. leucopolitana* / Thomas Gregor / 15. Mai 2000 / Rheinland-Pfalz: Deutschland: Landkreis Cochem-Zell: Verbandsgemeinde Cochem: Wegrand in Magerrasen am Pinnerberg bei Cochem / 50°09'08"N 7°09'46"E / 2n = 42 / in Kultur.
- 30 / POT 107 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor & Jens Rollik / 20. Nov. 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Trier-Saarburg: Verbandsgemeinde Saarburg: Magerrasen am Schloss "Saarburg" / 49°36'39"N 6°33'21" / 2n ca. 42 / Thomas Gregor 1786 (FR).
- 31 / POT 5 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor / 15. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Cochem-Zell: Verbandsgemeinde Cochem: Wegrand in Magerrasen am Pinnerberg bei Cochem / 50°09'08"N 7°09'46"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1747 (FR).
- 32 / POT 2 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor & Beate Wolf / 22. April 2000 / Deutschland: Hessen: Landkreis Fulda: Gemeinde Großelnäuder: magerer Wegrand südöstlich Hainzell / 50°32'12"N 9°30'31"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1742 (FR).
- 33 / POT 19 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor / 17. Mai 2000 / Deutschland: Rheinland-Pfalz: Landkreis Altenweiler: Verbandsgemeinde Altenahr: Wegrand in Weinberg oberhalb Altenahr / 50°30'18"N 6°59'52"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1878 (FR).
- 36 / POT 46 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Píbram: ? : magerer Wegrand sw von Mokrá Vrata / 49°48'N 14°16'E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1784 (FR).

- 37 / POT 42 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ?; Magerer Wegrand an Wochenendsiedlung etwa 1 km se von Nová Ves pod Pleř / 49°50'N 14°17'E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1759 (FR).
- 38 / POT 84 / *P. alsatica* ined. / Thomas Gregor / 2. Aug. 2000 / Frankreich: département Haut-Rhin: canton de Neuf-Brisach: commune de Volgelshcim: Weg in Magerrasen auf aufgegebenem Militärgelände n von Neuf-Brisach / 7°30'04"N 48°02'38"E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1995 (FR).
- 39 / POT 53 / *P. neumanniana* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino-Alto Adige: Bolzano: Bolzano : Magerrasen am Guntschnaberg bei Bolzano (Bozen) / ca. 46°29'N 11°21'E / 2n ca. 49 / Thomas Gregor 1815 (FR).
- 41 / POT 45/3 / *P. lindackeri* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ?; Magerer Wegrand zwischen Feldern sw von Mokrá Vrata / 49°48'N 14°16'E / - / in Kultur.
- 42 / POT 45/2 / *P. lindackeri* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ?; Magerer Wegrand zwischen Feldern sw von Mokrá Vrata / 49°48'N 14°16'E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1794 (FR).
- 43 / POT 41 / *P. lindackeri* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ?; Magerer Wegrand an Wochenendsiedlung etwa 1 km se von Nová Ves pod Pleř / 49°50'N 14°17'E / - / Thomas Gregor 1746 (FR).
- 45 / POT 44 / *P. cf. heptaphylla* × *neumanniana* / Thomas Gregor / 16. Juni 2000 / Tschechische Republik: Stredocesky Kraj: Okres Pířbram: ?; Magerer Wegrand an Wochenendsiedlung etwa 1 km se von Nová Ves pod Pleř / 49°50'N 14°17'E / - / in Kultur.
- 46 / POT 52 / *P. cf. heptaphylla* / Thomas Gregor & Susanne Raehse / 10. Juli 2000 / Italien: Trentino-Alto Adige: Bolzano: Bolzano : Felsspalten am Viglberg bei Bolzano (Bozen) / ca. 46°29'N 11°21'E / 2n = 42 / Thomas Gregor 1942 (FR).

## 2.2 DNA-Isolation und RAPD-Untersuchung

Die DNA-Isolation wurde mit dem "DNeasy" Plant Mini®-Kit der Firma Qiagen durchgeführt. Dabei wurde nach den Herstellerangaben des Kits vorgegangen (QIAGEN 2000). Das benötigte Blattmaterial (ca. 100 mg/Pflanze) wurde unmittelbar vor der Isolation frisch geerntet. Die DNA-Konzentrationsbestimmung erfolgte mittels Agarose-Gelelektrophorese in 0,5 x TBE-Puffer (SAMBROOK et al. 1989). Als Referenz diente DNA des Phagen  $\lambda$  mit bekannter, abgestufter Konzentration

Die RAPD-Methode wurde nach der von RAMSER et al. (1996) beschriebenen Variante durchgeführt. Von den insgesamt getesteten 37 10mer-Primern aus den G-, H- und X-Kits der Firma Roth wurden 6 Primer für die taxonomischen Untersuchungen verwendet (Tabelle 2). Die PCR-Ansätze enthielten 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M dNTPs, 0,8  $\mu$ M Primer, 20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM KCl sowie 1 Unit *Taq*-Polymerase (Invitrogen) und 5 ng Templat-DNA in 25  $\mu$ l. Die Amplifikation erfolgte in einem Thermocycler (i-Cycler der Firma Bio-Rad Laboratories) mit folgendem Programm (RAMSER et al. 1996): Eingangsdenaturierung 60 sec bei 94°C, 1.–3. Zyklus: 30 sec bei 94°C, 30 sec bei 35°C, 90 sec bei 72°C, 4.–38. Zyklus: 15 sec bei 94°C, 30 sec bei 35°C, 90 sec bei 72°C, finaler Elongationsschritt: 7 min bei 72°C.

Tabelle 2: RAPD Primer (Sequenzen in 5'-3'-Richtung)

G-02	GGC ACT GAG G
G-03	GAG CCC TCC A
G-08	TCA CGT CCA C
G-19	GTC AGG GCA A
X-07	GAG CGA GGC T
X-08	CAG GGG TGG A

Die PCR-Amplifikate wurden in 1,5 %igen Agarose-Gelen aufgetrennt und mit Ethidiumbromid-Färbelösung (0,5  $\mu$ g/ml) für 30 min angefärbt. Die resultierenden Bandenmuster wurden mit Hilfe einer

Video-Dokumentations-Anlage (Biometra) unter UV-Licht aufgenommen, als Computerdatei gespeichert und manuell in eine binäre 0/1-Matrix überführt (Bande an einer bestimmten Position vorhanden = 1, Bande nicht vorhanden = 0). Ausgewertet wurden nur klar erkennbare, distinkte Banden. Aus den 0/1-Matrizen wurden mit dem Programmpaket NTSYS-pc (Versionen 1.80 und 2.0; ROHLF 1993, 2000) Ähnlichkeitsmatrizen erstellt und mit Hilfe der UPGMA-Clusteranalyse graphisch ausgewertet. Die Erstellung der Ähnlichkeitsmatrizen erfolgte auf der Basis des Dice- oder Jaccard-Index (ROHLF 1993, 2000).

### 2.3 Chromosomen-Zählung

Die Chromosomenzahlen wurden an Quetschpräparaten von Wurzelspitzen bei 1000facher Vergrößerung mit einem OlympusBX41-Mikroskop ermittelt. Die abgenommenen Wurzelspitzen wurden 4 Stunden bei Zimmertemperatur in eine 2 mM 8-Hydroxychinolin-Lösung eingelegt und danach in Eisessig überführt. Vor dem Quetschvorgang wurden die Wurzelspitzen für 15 Minuten in 1 N Salzsäure bei 60 °C erhitzt. Die Färbung der Chromosomen erfolgte mit Orcein-Essigsäure.

## 3. Ergebnisse und Diskussion

Die von RAMSER et al. (1996) beschriebene Variante der RAPD-Methode wurde zunächst hinsichtlich der Konzentration der PCR-Ingredienzien ( $Mg^{2+}$ -Ionen, Primer, Templat) sowie der Amplifikationsbedingungen optimiert. Anschließend wurden insgesamt 37 10mer-Primer mit einem kleinen Set von vier Templat-DNAs getestet. Es ergaben sich Bandenmuster unterschiedlicher Komplexität, mit 2–20 Banden pro Primer in einem Molekulargewichtsbereich zwischen 300 und 1800 Basenpaaren. Die sechs in Tabelle 2 zusammengestellten Primer lieferten hinsichtlich der Reproduzierbarkeit und der Auswertbarkeit der RAPD-Bandenmuster die besten Ergebnisse und wurden für die Amplifikation der 42 in Tabelle 1 aufgelisteten Akzessionen eingesetzt. Das mit dem Primer X-08 erhaltene Bandenmuster ist exemplarisch in Abb. 1 dargestellt.

Aus den 6 individuellen Experimenten resultierten 145 distinkte, reproduzierbare Bandenpositionen, die in Form einer binären Datenmatrix aufgenommen wurden. Nach Überführung in eine Jaccard- oder Dice-Distanzmatrix wurde der Datensatz mit Hilfe der UPGMA-Clusteranalyse graphisch ausgewertet (s.o.; 2.2). Die Topologie der mit beiden Indices erstellten Phänogramme war identisch. Das auf dem Jaccard-Index basierende Phänogramm ist in Abb. 2 dargestellt.

Die RAPD-Untersuchung bestätigt weitgehend die morphologische Zuordnung der Pflanzen. *P.-argentea*- und *P.-neumanniana*-Herkünfte bilden demnach zwei deutlich voneinander getrennte Cluster. Die einzelnen Taxa der *P.-collina*-Gruppe gruppieren nach Maßgabe ihrer bisherigen taxonomischen Zuordnung und sind mit Ausnahme von *P. lindackeri* in den *P.-argentea*-Cluster eingebettet.

Der Untersuchung lassen sich Vermutungen zur Entstehung der untersuchten *P.-collina*-Sippen entnehmen: *P. praecox* und *P. alsatica* ined. stehen innerhalb des *P.-argentea*-Clusters, *P. leucopolitana* und *P. alpicola* an dessen Basis. *P. argentea* dürfte danach direkt oder indirekt zu den Elternarten dieser Sippen gehören, wie dies auch morphologische Merkmale, insbesondere das reichliche Auftreten von Kräuselhaaren auf der Blattunterseite wahrscheinlich machen. *P. wismariensis* steht ebenfalls an der Basis des *P.-argentea*-Clusters, eine Abstammung von *P. neumanniana* erscheint daher eher unwahrscheinlich. *P. lindackeri* steht innerhalb des *P.-neumanniana*-Clusters. *P. neumanniana* dürfte demnach direkt oder indirekt an der Entstehung dieser Sippe beteiligt gewesen sein. Die Ähnlichkeit mit *P. neumanniana* wird auch dadurch deutlich, dass *P. lindackeri* teilweise mit Formen von *P. neumanniana* ("*Potentilla verna* var. *incisa*") vermischt wurde (TAUSCH 1819).

Die ermittelten Chromosomenzahlen bestätigen und ergänzen bekannte Verhältnisse (siehe HESS et al. 1977). Bei *P. argentea* wurden di- (3mal), tetra- (4mal) und hexaploide (5mal) Herkünfte festgestellt. Die untersuchten *P.-neumanniana*-Pflanzen erwiesen sich als hexa- (6mal) und heptaploid (1mal). Es gab keine augenfälligen Korrelationen zwischen den Ergebnissen der UPGMA-Clusteranalyse und dem Ploidie-Grad der Sippen. Von Interesse ist eine hexaploide, morphologisch an eine kräftige

*P. heptaphylla* erinnernde Pflanze aus der Umgebung von Bozen (POT 52). Für *P. heptaphylla* sind bisher nur Zählungen von diploiden Pflanzen aus Europa bekannt (Hess & al 1977). Allerdings bilden *P. heptaphylla* und *P. neumanniana* gebietsweise nicht selten Bastarde, die einen bisher nicht befriedigend gliederbaren Formenschwarm mutmaßlich apomiktischer Sippen bilden. Zweifelsfreie Vorkommen von *P. heptaphylla* sind bisher aus der Umgebung von Bozen nicht bekannt (Thomas WILHALM, brieflich). Die genaue Zuordnung der untersuchten Pflanze muss vorerst offen bleiben. Zu dem Bastardkomplex *P. heptaphylla* × *neumanniana* dürfte die Pflanze "POT 44" aus der Umgebung von Pířbram südwestlich von Prag gehören. Pflanzen aus der *P.-collina*-Gruppe zeigten einheitlich 42 somatische Chromosomen. Von den untersuchten Sippen, wurde bisher nur *P. praecox* auf seine Chromosomenzahl hin untersucht, wobei ebenfalls  $2n = 42$  festgestellt wurde (RUTISHAUSER 1943). Diese Zahl wurde auch für Herkünfte aus Gotland und Öland ermittelt (MÜNTZING 1931).

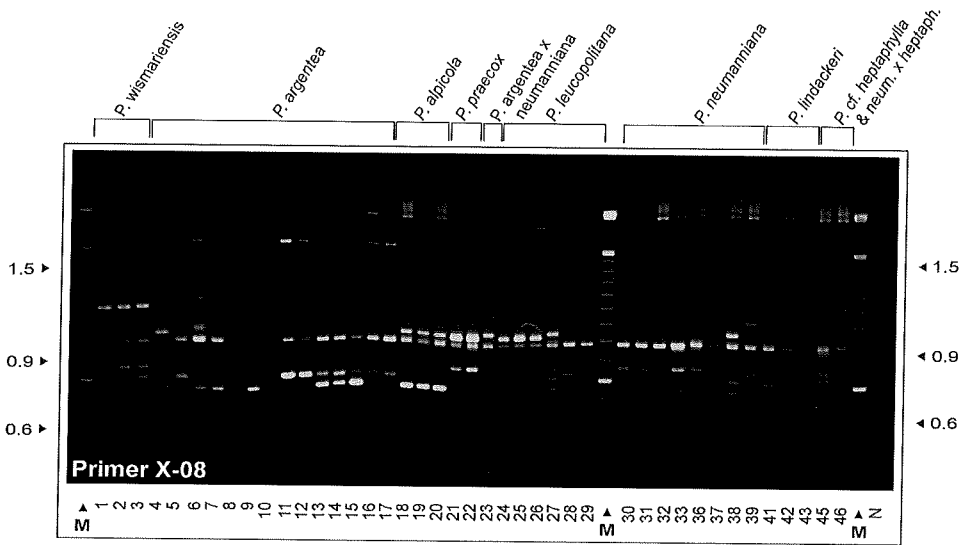


Abbildung 1: Gelelektrophoretische Auftrennung der RAPD-Fragmente unter Verwendung des Primers X-08. Die Proben sind mit der Untersuchungsnummer gekennzeichnet (vgl. Tab. 1). Die Negativkontrolle (keine Templat-DNA) ist mit N bezeichnet. Als DNA-Molekulargewichtsmarker wurde eine 100 bp-Leiter (M) aufgetragen. Molekulargewichte sind in Kilobasen (kb) angegeben. Proben 27 und 38 gehören zu *P. alsatica* ined.

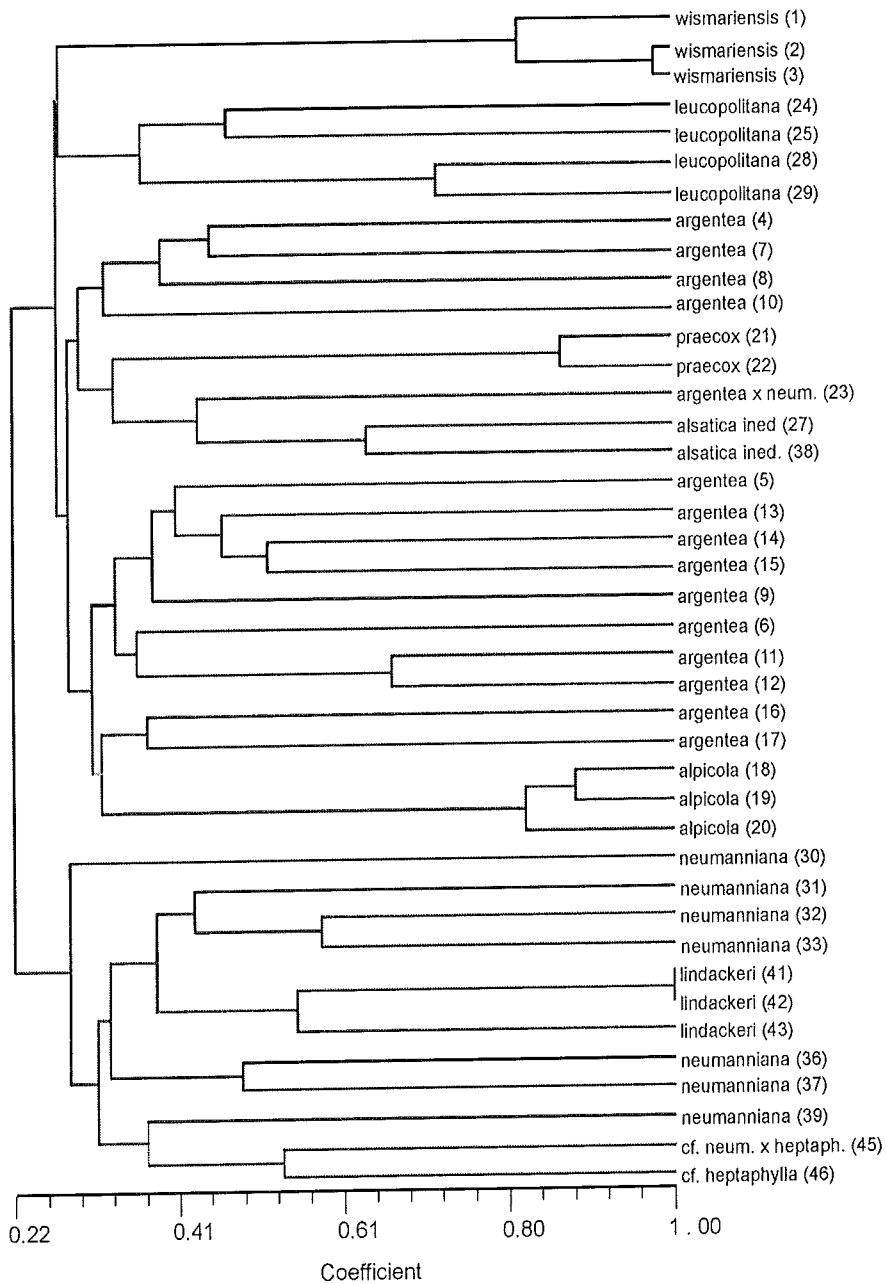


Abbildung 2: Phänogramm der UPGMA-Clusteranalyse von 41 untersuchten *Potentilla*-Herkünften, Nr. 26 ist wegen unvollständiger Ergebnisse nicht berücksichtigt. Die zugrundeliegende Jaccard-Distanzmatrix beruht auf 145 Merkmalen (= Bandenpositionen), detektiert von sechs Primern (Tab. 2). Untersuchungsnummern der Herkünfte in Klammern (Tab. 1).



## Danksagung

Ohne die Hilfe von Gebietskennern wäre es nicht möglich gewesen, Lebendbelege von Sippen der *Potentilla-collina*-Gruppe zu sammeln. Für ihre Hilfe sind wir Dr. Heinz Henker (Neuklosters), Eberhard Koch (Gottmadingen), Dr. Dieter Korneck (Niederbachem), Dr. Frank Müller (Dresden), Dr. Jiří Soják (Průhonice), Reinhold Treiber (Ihringen), Christian Weingart (Landau) und Dr. Peter Wilhalm (Bolzano) zu Dank verpflichtet.

## Literatur

- BALL, P.W., PAWLOWSKI, B. & WALTERS, S.M. 1968: *Potentilla* L. In: TUTIN, T.G. et al. (eds.), *Flora europaea*. Vol. 2: 36–47. Cambridge University Press, Cambridge, New York & Melbourne. – BARTISH, I.V., HYLMO, B. & NYBOM, H. 2001: RAPD analysis of interspecific relationships in presumably apomictic *Cotoneaster* species. *Euphytica* 120: 273–280. – GRAHAM, J. & MCNICOL, R.J. 1995: An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationships within and between *Rubus* species. *Theor. Appl. Genet.* 90: 1128–1132. – GREGOR, T. & HENKER, H. 2001: *Potentilla wisnariensis* T. Gregor & Henker sp. nova, ein Fingerkraut der Wisnarmbucht (Mecklenburg-Vorpommern, Deutschland). *Feddes Repert.* 112: 321–330. – HANSEN, K.T., ELVEN, R. & BROCHMANN, C. 2000: Molecules and morphology in concert: tests of some hypotheses in arctic *Potentilla* (Rosaceae). *Amer. J. Bot.* 87: 1466–1479. – HESS, H.E., LANDOLT, E. & HIRZEL, R. 1977: *Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete*. Band 2: *Nymphaeaceae* bis *Primulaceae*. Zweite, durchgesehene Auflage. Birkhäuser, Basel und Stuttgart. – HOLM, S. 1995: Unexpectedly high levels of genetic variation in *Potentilla argentea* L. (s.l.) in southern Sweden. *Hereditas* 123: 127–139. – HOLM, S. & GHATNEKAR, L. 1996: Apomixis and sexuality in hexaploid *Potentilla argentea*. *Hereditas* 125: 53–60. – MÜNTZING, A. 1958: Heteroploidy and polymorphism in some apomictic species of *Potentilla*. *Hereditas* 44: 280–328. – NYBOM, H. 1996: DNA fingerprinting - a useful tool in the taxonomy of apomictic plant groups. *Folia Geobotan. Phytotax.* 31: 295–304. – QIAGEN 2000: *DNeasy Plant Mini Handbook*. – RAMSER, J., LÓPEZ-PERALTA, C., WETZEL, R., WEISING, K. & KAHL, G. 1996: Genomic variation and relationships in aerial yam (*Dioscorea bulbifera* L.) detected by random amplified polymorphic DNA. *Genome* 39: 17–25. – ROHLF, F.J. 1993: NTSYS-pc (Numerical taxonomy and multivariate analysis system), version 1.80 (DOS). – ROHLF, F.J. 2000: NTSYS-pc (Numerical taxonomy and multivariate analysis system), version 2.00 (Windows). – RUTISHAUSER, A. 1943: Untersuchungen über die Fortpflanzung und Bastardbildung apomiktischer Potentillen. *Ber. Schweizer. Botan. Gesellsch.* 53: 5–83. – SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F. & MANIATIS, T. 1989: *Molecular Cloning – A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour. – SCHWARZ, A. 1912: Phanerogamen- und Gefäßkryptogamen-Flora der Umgegend von Nürnberg-Erlangen und des angrenzenden Teiles des Fränkischen Jura um Freistadt, Neumarkt, Hersbruck, Muggendorf, Hollfeld ... Nachträge. *Abhandl. Naturforsch. Gesellsch. Nürnberg* 18(2): 121–41. – TAUSCH, [I. F.] 1819: Beobachtung einiger neuen Pflanzen um Prag. *Flora* [2]: 461–467. – WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. 1990: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531–6535. – WOLF, T. 1908: Monographie der Gattung *Potentilla*. *Bibliotheca botanica* 71: I–VI, 1–715, 20 Taf.

Dr. Thomas GREGOR  
Hochschule Vechta  
Driverstraße 22  
D- 49377 Vechta  
thomas.gregor@uni-vechta.de

Jens ROLLIK & Prof. Dr. Kurt WEISING  
Systematik und Morphologie der Pflanzen  
FB Biologie/Chemie  
Universität Kassel  
D-34109 Kassel  
weising@uni-kassel.de

