

SEMINARARBEIT

Rahmenthema des Wissenschaftspropädeutischen Seminars:

Ökoklimatologischer Vergleich der bayerischen Alpen und Jotunheimen (Norwegen)

Leitfach: **GEOGRAPHIE**

Thema der Arbeit:

Morphologischer und genetischer Vergleich der Weißen Silberwurz (*Dryas octopetala*) in der Zugspitzregion (Deutschland) und in Jotunheimen (Norwegen)

Verfasser/in:
Katharina Maetschke

Seminarleiter:
Thomas Ludwig
Elke Leppelsack

Abgabetermin: *spätestens 8. November 2016, 10 Uhr*

Bewertung	Note	Notenstufe in Worten	Punkte		Punkte
schriftliche Arbeit				x 3	
Abschlusspräsentation				x 1	
Summe:					
Gesamtleistung nach § 61 (7) GSO = Summe:2 (gerundet)					

Datum und Unterschrift der Seminarleiterin bzw. des Seminarleiters

1.	Einleitung.....	3
2.	Methodik.....	4
2.1.	Charakterisierung von <i>Dryas octopetala</i> L.....	4
2.2.	Allgemeine Faktoren	5
2.3.	Morphologie	6
2.4.	Genetische Analyse	6
2.4.1.	Entnahme von Blattproben.....	7
2.4.2.	Extraktion der DNA	7
2.4.3.	Durchführung der PCR-Methode.....	8
2.4.4.	Sequenzierung der DNA	10
3.	Ergebnisse	12
3.1.	Morphologische Untersuchung.....	13
3.1.1.	Zugspitzregion.....	13
3.1.2.	Jotunheimen	14
3.2.	Genetische Untersuchung	15
3.2.1.	Zugspitzregion.....	15
3.2.2.	Jotunheimen	16
4.	Diskussion	16
4.1.	Morphologische Diskussion.....	16
4.1.1.	Zugspitzregion.....	16
4.1.2.	Jotunheimen	16
4.1.3.	Vergleich der Zugspitzregion und Jotunheimens.....	17
4.2.	Genetische Diskussion.....	19
4.2.1.	Zellkern-DNA	19
4.2.2.	Chloroplasten-DNA	20
5.	Literaturverzeichnis.....	22
6.	Anhang	23
7.	Erklärung zur Seminararbeit:	26

1. Einleitung

“The record-warm September [2016] means 11 of the past 12 consecutive months dating back to October 2015 have set new monthly high-temperature records.” (Shaftel, 2016) Dieses Zitat des Goddard Institute for Space Studies illustriert die Situation der diesjährigen Temperaturrekorde seit Messbeginn und weist damit auf die Problematik der gegenwärtigen Erderwärmung hin. Seit Jahrzehnten wird versucht, diesen Klimawandel mithilfe von Klimaschutzgesetzen einzudämmen, jedoch ist der Erfolg bisher nicht ausreichend, um die gesamte Erdbevölkerung zukünftig vor den unberechenbaren Folgen der globalen Erwärmung zu bewahren. Ein weiterer Anstieg der Jahresdurchschnittstemperatur würde in jedem Falle eine weitreichende Störung des Ökosystems und den damit verbundenen Lebensbedingungen für die Menschheit verursachen.

Eine Störung des Ökosystems ereignete sich schon einige Male im Laufe der Erdgeschichte im Zuge von Klimaänderungen, unter anderem im Zeitalter des Pleistozäns. Zu dieser Zeit wurde eine stetige Erwärmung der Erde durch eine subarktische Periode vor ca. 12 800 Jahren unterbrochen, die als „Jüngere Dryaszeit“ bekannt ist. Dieses erdgeschichtliche Intervall wurde nach dem damals sehr verbreitet wachsenden Chamaephyt „*Dryas octopetala* L.“, der weißen Silberwurz, benannt. Aufgrund von Blatt- und Pollenfunden dieser Pflanze in europäischen Sedimenten ist bekannt, dass sie zur Zeit der „Jüngeren Dryas“ wegen des kühleren Klimas in ganz Europa verbreitet war. Im Gegensatz dazu sind ihre heutigen Populationen seit Ende der Dryaszeit wegen des wärmeren Klimas auf arktisch-alpine Gebiete beschränkt (vgl. Macdougall, 2004, S. 198).

Im Folgenden werden die Forschungsarbeiten an *Dryas octopetala* L. -Populationen in Jotunheimen, Norwegen, und der Zugspitzregion, Deutschland, sowie die dabei erzielten Ergebnisse und deren Diskussion dargelegt.

Für die beschriebene Forschungsarbeit wurden in der Zugspitzregion drei und in Jotunheimen vier Individuen der *Dryas octopetala* L.-Populationen auf ihre morphologischen sowie auf ihre genetischen Eigenschaften untersucht. Ziel dieser Forschungen ist die Feststellung potentieller Unterschiede in der Morphologie und DNA der beiden Populationen.

Ursache solcher potentiellen Unterschiede wäre die räumliche Isolation der beiden Populationen, da sich die *Dryas octopetala* L. seit Ende der jüngeren Dryaszeit, in welcher sie in Eurasien weit verbreitet war, in arktisch-alpine Gebiete wie die Zugspitzregion und Jotunheimen zurückgezogen hat und seither wahrscheinlich kein Artenaustausch mehr

stattfind. Leicht unterschiedliche Umweltfaktoren können seitdem genetische und morphologische Veränderungen verursacht haben.

Da die *Dryas octopetala* L. ein Zwergstrauch mit sehr langer Lebensdauer ist, ist es jedoch sehr wahrscheinlich, dass besonders in der DNA keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden können, da genetische Veränderungen eine Zeitspanne von mehreren Generationen benötigen.

2. Methodik

Zur Feststellung der Unterschiede der Populationen von *Dryas octopetala* L. der Zugspitzregion und Jotunheimens bedarf es der Erforschung morphologischer sowie genetischer Eigenschaften mehrerer *Dryas octopetala* L.-Individuen an beiden Orten unter Berücksichtigung der Standortfaktoren. Dafür werden sowohl in der Zugspitzregion als auch in Jotunheimen mindestens drei Vorkommen der Weißen Silberwurz in möglichst unterschiedlichen Höhenlagen lokalisiert, was mithilfe von Verbreitungskarten der Forschungsgebiete der Zugspitzregion (vgl. Anhang: Abbildung 1) und in Jotunheimen (vgl. Anhang: Abbildung 2) geschieht.

Zunächst werden für jeweils ein Individuum Forschungsprotokolle (vgl. Anhang: Abbildung 3) angelegt, in die die jeweiligen Untersuchungsergebnisse an der *Dryas octopetala* L., welche das folgende Unterkapitel behandelt, vor Ort eingetragen werden.

2.1. Charakterisierung von *Dryas octopetala* L.



Abbildung 1: *Dryas octopetala* L.

Die weiße Silberwurz (vgl. Abbildung 1) gehört zur Familie der Rosaceae und der Gattung der *Dryas* und wird meist zwei bis zehn Zentimeter hoch. Sie blüht von Juni bis August, wobei ihre Blütenstände eine Höhe von 30 bis 40 Millimeter erreichen und die Blüten meist aus acht ovalen, weißen Kronblättern bestehen (vgl. Aeschmann et al., 2004, Bd. 1, S. 758).

Die *Dryas octopetala* L. ist eine Volllichtpflanze, weshalb sie meist an vollständig bestrahlten, selten an Standorten mit weniger als 50 % Beleuchtung anzutreffen ist (vgl. Ellenberg et al., 2010, S. 25).

Sie ist ausdauernd, das heißt, sie besitzt eine unbegrenzte Lebensdauer und wächst in der Pflanzengemeinschaft Carici-Kobresietea, ihrem soziologischen Optimum, bevorzugt auf Kalk- oder Dolomitgestein und auf intermediärem Gestein wie Kieselkalk, Kalkschiefer, Flysch und Sandstein. Außerdem tritt sie sporadisch auf Silikatböden aus Granit, Gneis oder Silikatschiefer auf, wobei sie mittel- bis sehr trockenen Boden bevorzugt. Weiterhin ist ihr optimales Vorkommen auf basischem und oligotrophem Boden, mäßig häufig tritt sie

auch auf basisch- mesotrophem Boden auf. Ein gelegentliches Vorkommen lässt sich bei *Dryas octopetala* L. bei neutralem oligotrophen und mesotrophen Boden feststellen. Sporadisch kommt sie in trockenen Bereichen von Uferböschungen, Säumen von Wasserläufen, Alluvionen, Kiesbänken und sandigen Uferstreifen, auch auf Geröll, Schuttfuren, Moränen, Erdrutschen, Verwitterungsmaterial, Blockfeldern, Lesesteinhaufen, Ruinen, oder in Flach- und Übergangsmooren vor. Ein optimaler Untergrund für die Weiße Silberwurz besteht hingegen aus Felsen, Mauern, Balmen und Höhlen, Karrenfeldern und Karstfluren, sowie subalpinen und alpinen Rasen im weitesten Sinne, Legföhrenbeständen und Nadelwäldern wie Föhrenwälder oder Wacholderbeständen. Sie kommt in anderen Nadelwäldern aus Fichten, Arven, Lärchen und Weißtannen, sowie Fichten-Mischwäldern allerdings nur sporadisch vor (vgl. Aeschimann et al., 2004, Bd. 1, S. 758).

Ihre bevorzugten Vegetationsstufen sind dabei hohe Gebirge, also die nivale, alpine und subalpine Stufe, weswegen sie ein Kälte- bzw. Kühlezeiger ist (vgl. Ellenberg et al., 2010, S. 25).

2.2. Allgemeine Faktoren

Für den Vergleich zwischen der Zugspitzregion und Jotunheimen sind neben den morphologischen und genetischen Informationen auch die allgemeinen Faktoren von Interesse. Wenn diese differieren, können die einzelnen Chamaephyten der Art *Dryas octopetala* L. unterschiedliche morphologische Eigenschaften aufweisen. Zu diesen Faktoren, die auch im Forschungsprotokoll enthalten sind, zählen das Datum und die Uhrzeit der Untersuchung, die Wetterverhältnisse und die Umgebungstemperatur, wie auch die GPS-Koordinaten und die Höhenlage des betreffenden Individuums. Zusätzlich werden Standortfaktoren wie die Humustiefe, die Bodenfeuchte und -temperatur, die vermutete Bodenart, sowie die Lage im Gelände und der daraus resultierende Grad der Beschattung im Protokoll festgehalten. Falls der untersuchte Zwergstrauch an einem Hang wächst, werden außerdem die Exposition und Hangneigung angegeben. Mithilfe eines GPS-Geräts (Garmin eTrex 10) werden die Koordinaten, die etwaige Exposition und die Höhenlage gemessen, die in Metern über NN angegeben wird. Die Umgebungstemperatur wird mit einem digitalen Stabthermometer auf eine Dezimalstelle genau ermittelt. Bei der Messung der Bodentemperatur wird das Stabthermometer circa 1,5 cm tief in den Boden direkt neben die Pflanze gesteckt. Die Humustiefe wird inklusive Abstand der Blätter zum Boden gemessen, da die Blätter der *Dryas octopetala* L. sehr nahe am Boden und äußerst dicht wachsen, sodass eine alleinige Bestimmung der Humustiefe beschwerlich ist. Für die restlichen oben genannten Faktoren werden keine Messinstrumente verwendet, sondern relative oder geschätzte Angaben gemacht.

2.3. Morphologie

Untersuchungen der Morphologie von *Dryas octopetala* L. sind von großer Wichtigkeit für die Vergleiche zwischen den Populationen in der Zugspitzregion und im Nationalpark Jotunheimen, da sich potentielle genetische Veränderungen, die sich über die Jahrtausende der lokalen Separation entwickelt haben können, in den morphologischen Merkmalen der Pflanze äußern.

Zur Untersuchung des gesamten Individuums wird zunächst die Höhe des gesamten Zwergstrauches ermittelt, indem mit einer digitalen Schieblehre vom Boden bis zum höchsten Punkt eines Blütenstands gemessen wird. Dieser Blütenstand wird so ausgewählt, dass seine Höhe nach Augenmaß dem Durchschnitt aller Blütenstandshöhen entspricht. Anschließend wird die Ausbreitung des *Dryas octopetala* L.-Individuums mithilfe eines Maßbandes ermittelt. Dabei wird so vorgegangen, dass der Chamaephyt an seiner jeweils breitesten beziehungsweise längsten Stelle vermessen wird.

Für die Vermessung der Blüten und Blätter werden an allen Standorten von einem Individuum jeweils fünf bis sechs Blütendurchmesser ermittelt, welche mit der digitalen Schieblehre an der breitesten Stelle der Blüte bestimmt werden. An den Blättern wird die Länge, Breite und Dicke ebenfalls mit der Schieblehre gemessen. Alle Angaben der Schieblehre sind auf zwei Dezimalstellen genau und werden nicht mit exakt gleichem Druck auf die Proben ermittelt, weshalb besonders Differenzen in der Blattdicke nicht notwendigerweise natürlich, sondern eventuell messbedingt auftreten können. In



Abbildung 2: Messgerät für die Ermittlung von Blattdicken

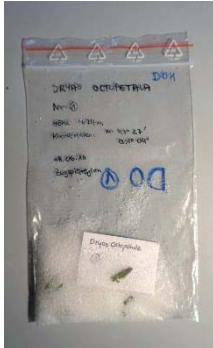
Jotunheimen wird die Blattdicke neben der Schieblehre auch mit einem Dickenmessgerät (Käfer) erlangt (vgl. Abbildung 2), welches eine konstante Kraft auf die Blattproben auswirkt und auf drei Dezimalstellen genau misst. Die so gemessenen Werte dienen jedoch nur als Referenz zu den mit der Schieblehre ermittelten Werten, falls sie voneinander zu stark abweichen. Zusätzlich zu den Messungen werden Fotografien der untersuchten Zwergsträucher angefertigt, die dem Protokoll beigelegt werden.

2.4. Genetische Analyse

Die DNA enthält die vollständige genetische Information eines Lebewesens. Zur Untersuchung möglicher Unterschiede, die sich seit der räumlichen Trennung der Populationen von *Dryas octopetala* L. ausgebildet haben können, bedarf es daher einer Analyse ihrer DNA. Diese Analyse besteht im Wesentlichen aus vier Hauptschritten, die

zum Teil im Labor von Prof. Hanno Schäfer (Fachgebiet Biodiversität der Pflanzen) an der TU München in Weihenstephan durchgeführt werden.

2.4.1. Entnahme von Blattproben



Der erste Schritt zur genetischen Analyse ist das Entnehmen von jeweils acht Blattproben von jedem der sieben untersuchten Individuen. Diese Blätter werden in mit Silicagel gefüllten, luftdicht verschließbaren Tütchen (vgl. Abbildung 3) aufbewahrt und so dehydriert. Der Grund für die Entnahme von Blättern für die DNA-Extraktion ist, dass aus ihnen sowohl die chromosomale DNA, als auch die Chloroplasten-DNA leicht extrahiert werden kann.

Abbildung 3: Luftdicht verschließbarer Beutel, mit Silicagel gefüllt

2.4.2. Extraktion der DNA

Der zweite Schritt umfasst die Extraktion der DNA aus den zuvor gesammelten Blattproben. Diese Extraktion wird im Labor der TUM durchgeführt. Dazu werden für jedes der sieben Individuen jeweils eine Spatelspitze Silicagel und vier kleine Stahlkügelchen mit dem Durchmesser von drei Millimetern in ein Reaktionsgefäß mit Schraubverschluss gefüllt. Diese Gefäße werden mit dem Kürzel „Do“ für *Dryas octopetala* L. und den Ziffern „1“ bis „7“ beschriftet, entsprechend der Nummerierung der untersuchten Standorte. Danach wird jeweils ca. 20 mg der Blattproben, was in etwa einem Blatt entspricht, jedes Individuums aus den auf dieselbe Art etikettierten luftdichten Tütchen mithilfe einer Pinzette in die entsprechenden Reaktionsgefäße gegeben. Die so gefüllten Gefäße werden dann in der Retschmühle (Modell MM400) für 20 Sekunden mit 25,0 Schüttlern pro Sekunde durch die Stahlkügelchen zu feinem Pulver zermahlen. Dabei ist auffällig, dass alle Proben, exklusive „Do7“, klumpig wurden. Dies deutet darauf hin, dass diese Proben nicht ausreichend getrocknet waren.

Auf diesen Mahlprozess folgt die Lyse der DNA durch die Zugabe von 400 µl Buffer PL1 und 10 µl RNase A mit Eppendorfpipetten. Danach wird der Inhalt der Reaktionsgefäße durch den Vortex (Modell Gene 2, Scientific Industries) für zwei Sekunden gemischt und im Thermo-Shaker (Modell PSC24N, Grant-bio) für 30 Minuten auf 62°C bei 410 rpm (revolutions per minute) aufgeheizt.

Die durch den vorhergegangenen Prozess aus dem Zellkern und den Chloroplasten befreite DNA wird anschließend fünf Minuten lang in einer Zentrifuge (Modell 5424, Eppendorf) bei 11 000 rpm zentrifugiert und danach mithilfe einer Eppendorfpipette in jeweils ein neues Eppendorf-Reaktionsgefäß, kurz „Eppi“, überführt.

Zu den gewonnenen 300 µl werden 350 µl Buffer PC hinzupipettiert. Die entstandenen

Gemische werden fünf Mal geschwenkt und auf die Membran von NucleoSpins[®] Werk II Column gegeben, welche in der Eppendorf- Centrifuge eine Minute lang bei 11 000 rpm rotiert werden. Der dabei unten im Eppi entstandene Durchfluss wird entsorgt, bevor die Reinigung der DNA, die sich nach wie vor auf der Membran befindet, beginnt.

In jedes der sieben Reaktionsgefäße wird 400 µl Buffer PW1 gegeben, anschließend erneut eine Minute bei 11 000 rpm zentrifugiert und der Durchfluss nochmals entsorgt. Dieser Prozess wird mit 600 µl Buffer PW2 wiederholt. Danach werden 200 µl Buffer PW2 auf die NucleoSpins pipettiert und diese zwei Minuten bei abermals 11 000 rpm zentrifugiert. Nachdem der letzte Durchfluss beseitigt worden ist, werden die NucleoSpins fünf Minuten auf einem Küchenpapier luftgetrocknet.

Die NucleoSpin-Membranen werden daraufhin in die zugehörigen Eppis mit 1,5 ml Füllmenge postiert, die zuvor mit dem Pflanzenkürzel „Do 1-7“ beschriftet worden sind. Nach der Zugabe von 50 µl Buffer PE werden die Membranen im Thermo-Shaker fünf Minuten inkubiert. Anschließend wird das Gemisch erneut eine Minute bei 11 000 rpm zentrifugiert und die NucleoSpins entsorgt, da sich nun die gereinigte DNA in den Eppis befindet.

Um die Qualität und Menge der extrahierten DNA zu kontrollieren, werden zwei µl der DNA-Substanz auf eine Platte pipettiert und dann in ein Spektrometer (BioTek Epoch) gegeben. Da die DNA besonders Licht der Wellenlänge von 260 Nanometern absorbiert, kann durch ihre Bestrahlung mit UV-Licht ihre Konzentration ermittelt werden. Bei einer großen Durchlässigkeit von UV-Strahlen in den zwei µl ist damit nur wenig DNA vorhanden, bei einer geringen Durchlässigkeit dagegen viel (vgl. Neis-Beeckmann, 2015, S.62).

Die Qualität und Menge der *Dryas octopetala* L. – Proben erweist sich als gut (vgl. Anhang: Tabelle 1), da sich die Werte innerhalb des Durchschnitts befinden (persönliche Mitteilung der Technischen Assistentin).

Nach der Überprüfung der Qualität und Menge wird die isolierte DNA bis zu dem folgenden dritten Hauptschritt, der PCR-Methode, auf 4 °C abgekühlt aufbewahrt, da sie dann temporär stabil ist (vgl. Neis-Beeckmann, 2015, S. 175).

2.4.3. Durchführung der PCR-Methode

Der dritte Schritt zur Analyse der DNA ist die PCR-Methode, welche zur gezielten Vervielfältigung bestimmter DNA-Abschnitte dient. Dazu werden zwei sogenannte Mastermixe erstellt (vgl. Anhang: Tabelle 2), von denen der Erste psbA-Primer und der Zweite ITS-Primer enthält. Die in der Tabelle aufgeführten Komponenten werden bei beiden Mastermixen verneunfacht, um eine ausreichende Menge zu erlangen, da 14 µl des Mixes

für jede der sieben DNA-Proben und jeweils einem Eppi mit 1 µl destilliertem Wasser (ddH₂O) notwendig sind. Zu den 14 µl Mastermix wird in nummerierte PCR-Stripes 1 µl der entsprechenden extrahierten DNA gegeben. Die Stripess werden zentrifugiert und daraufhin für 2 h 2 min in einen Thermocycler (Eppendorf flexlid Mastercycler nexus gradient) gesetzt. In diesem Thermocycler (vgl. Abbildung 4 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) findet nun die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) statt, welche aus 35 Zyklen besteht.

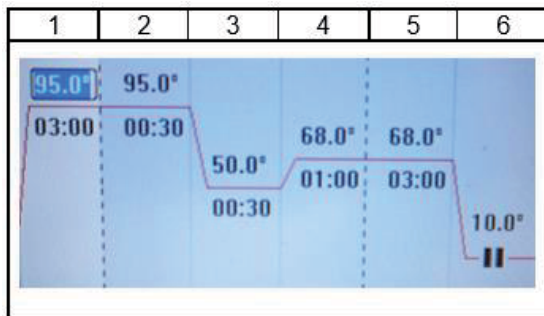


Abbildung 4: Programm des Thermocyclers

Diese setzen sich wiederum aus den drei Schritten Denaturierung, Annealing und Elongation zusammen. Zu Beginn werden die Proben innerhalb von drei Minuten auf 95 °C erhitzt. Bei der folgenden Denaturierung wird die DNA durch 30 Sekunden langes Halten der Temperatur auf 95 °C in Einzelstränge zerlegt, indem die

die Basenpaare verbindenden Wasserstoffbrückenbindungen destruiert werden. Daraufhin lagern sich im Annealing die Primer bei einer Temperatur von 50 °C innerhalb von 30 Sekunden an die jeweils komplementären Stellen der Einzelstränge, wobei die Forward-Primer den Anfang, die Reverse-Primer das Ende des zu vervielfältigenden DNA-Abschnitts markieren. Die psbA-Primer hybridisieren dabei mit der Chlorplasten-DNA (cpDNA, vgl. Mátyás, 1999, S. 18), während die ITS-Primer an die Zellkern-DNA (nDNA, vgl. Mátyás, 1999, S. 18) binden. Im letzten Schritt, der Elongation, welche eine Minute dauert, wird bei 68 °C durch die Taq-Polymerase die Sequenz zwischen den Forward- und Reverse-Primern repliziert. Danach bleibt die Temperatur drei Minuten lang auf 68 °C, damit eventuell nicht fertiggestellte Kettenverlängerungen beendet werden können. Um zu überprüfen, ob die Replikation der DNA mithilfe der PCR-Methode ausreichende Resultate erbracht hat, wird eine Gelelektrophorese mit den PCR-Produkten durchgeführt. Dazu wird Agarosepulver mit 75 ml 1xTAE gemischt und drei Minuten in einer Mikrowelle erhitzt, damit sich das Pulver vollständig löst. Das Gel wird auf 50 °C abgekühlt und 4 µl Farbstoff (Roti-Safe) hinzupipettiert, woraufhin es auf einen mit Kämmen besteckten Trägertisch gegeben wird. Nach 20 min Aushärtungszeit werden 5 µl Loading Buffer und jeweils 2 µl der PCR-Produkte, inklusive der Proben mit ddH₂O, in die durch die Kämmen entstandenen Geltaschen pipettiert. Am Rand der Elektrophoresekammer wird 1 µl DNA-Leiter in eine Tasche gefüllt und über das Agarosegel eine Schicht 1xTAE gegossen.

Durch die elektrische Spannung, die nun für 20 min an den beiden Enden der Kammer angelegt wird, wandern die negativ geladenen DNA-Moleküle abhängig von ihrer Größe

unterschiedlich weit im Agarosegel in Richtung der Anode. Dabei sind kürzere DNA-Moleküle schneller als solche mit einer höheren Zahl an Basenpaaren. Außerdem kann die Menge der im PCR-Produkt enthaltenen Nucleinsäure bestimmt werden, da die durch UV-Licht sichtbare Färbungsintensität der Banden dazu in direkter Proportion steht. Die am Rand aufgetragene DNA-Leiter mit bereits bekannter Nukleotidzahl und Menge an Nucleinsäure wandert bis zu einem bestimmten Punkt und besitzt eine spezifische Farbintensität, weshalb sie so als Vergleichsgröße für die PCR-Produkte dient. Also kann kontrolliert werden, ob bei der PCR-Methode eine für die Sequenzierung ausreichende Molekülgröße und -menge erreicht wurde (vgl. Neis-Beeckmann, 2015, S.199 ff.).

Das Ergebnis der Gelelektrophorese bei den PCR-Produkten der *Dryas octopetala* L. ist positiv, da bei sämtlichen Proben die entstandenen Banden unter UV-Licht gut zu sehen sind, wohingegen bei den PCR-Produkten mit ddH₂O keine Banden sichtbar werden, was nachweist, dass der Mastermix nicht mit DNA verunreinigt war.

2.4.4. Sequenzierung der DNA

Der vierte und letzte Schritt vor der Auswertung und Analyse der DNA ist ihre Sequenzierung. Bevor die eigentliche Sequenzierreaktion durchgeführt werden kann, müssen die Proben von den nach der PCR überschüssigen einzelnen Nukleotiden bereinigt

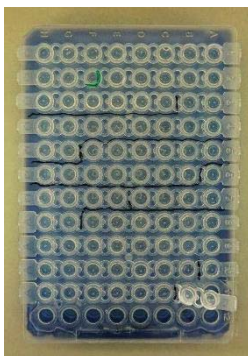


Abbildung 5:
Verschiebbare
Reaktionsgefäßpalette

werden. Dazu wird zu jedem PCR-Produkt 1 μ l SAP (shrimp alkaline phosphatase) und 0,25 μ l EXO (exonuclease 1) pipettiert und dieses Gemisch 5 Minuten auf 37 °C erhitzt, wobei die Enzyme die Nukleotide zerstören, woraufhin erstere durch eine zehnmündige Temperaturerhöhung auf 80 °C denaturiert werden. Die Sequenzierreaktion wird nicht im Labor der TUM, sondern von der „GATC Biotech“ durchgeführt. Deshalb werden 2,5 μ l der bereinigten PCR-Produkte zusammen mit jeweils 5 μ l ddH₂O in eine verschließbare Reaktionsgefäßpalette pipettiert (vgl. Abbildung 5).

Zu den sieben PCR-Produkten mit psbA-Primer werden von diesem nochmals 2,5 μ l hinzugegeben, während den Proben mit ITS-Primer 2,5 μ l ITS F₁-Primer zugefügt werden. Mit einer zweiten verschließbaren Palette wird ebenso verfahren, allerdings werden jeweils trnH-Primer zu den psbA-Proben und ITS R₁-Primer zu den PCR-Produkten mit ITS-Primern gegeben. Die Position der einzelnen Proben in den Paletten werden mithilfe von Tabellen festgehalten, in die die Pflanzenkürzel „Do 1-7“ und die Art der Primer in die den Slots in der Palette entsprechenden Zellen eingetragen werden. Die Paletten und zugehörigen Tabellen werden an die Firma „GATC Biotech“ versandt, welche die

Sequenzierung nach der Methode von Sanger durchführt.

Diese beinhaltet zunächst eine Art der PCR, bei der nur Einzelstränge vervielfältigt werden, weshalb die zuvor genannten Reaktionsgemische nur entweder einen Forward- oder einen Reverse-Primer enthalten. Durch die gesonderte Vervielfältigung der komplementären Stränge liegen die durch die spätere Elektrophorese entschlüsselten DNA-Sequenzen in den beiden entgegengesetzten Richtungen vor. Zu den Primern werden außerdem Nukleotide (dNTPs), Polymerase und die vier verschiedenen Didesoxynukleotide (ddNTPs), die mit Fluoreszenzmarkierungen versehen sind, pipettiert (vgl. Neis-Beeckmann, 2015, S. 252 ff.). Die ddNTPs sind Abbruchnukleotide, an die keine weiteren Nukleotide anschließen können und die somit immer die letzten Basen einer bei der PCR entstandenen DNA-Kette sind. Es ergeben sich daher bei den Sequenzierungs-Polymerase-Kettenreaktionen im Thermocycler einzelsträngige DNA-Ketten unterschiedlichster Länge, von denen die kürzesten ein bis zwei Nukleotide lang sind und die längsten die Länge der Template-DNA besitzen.

Mit den nun entstandenen Nukleotidketten wird in einer Kapillare eine Elektrophorese ausgeführt, bei der diese bedingt durch ihre Größe unterschiedlich schnell wandern und nacheinander ein Abbruchnukleotid, also die letzte Base einer DNA-Kette, das Ende der Kapillare erreicht. Dort befindet sich ein Laser, der Lichtblitze bei den Fluoreszenzmarkierungen der ddNTPs verursacht. Die vier verschiedenen Typen der Didesoxynukleotide haben jeweils andere Markierungen, wodurch basenspezifische Lichtsignale entstehen, aus denen ein Graph erstellt wird, der die Basenabfolge beschreibt (vgl. Schäfer, 2016).

Mit dem Computerprogramm Geneious (Version 6.1.6.) können die von „GATC Biotech“ digital zurückgeschickten Sequenzen auf Fehler überprüft werden, indem die Sequenzen der ITS F₁- und ITS R₁-Primer, also die der nDNA, sowie diese der psbA- und trnH-Primer, also die der cpDNA, in einem sogenannten Alignment überlagert werden, da sie sich jeweils aufgrund der umgekehrten Orientierung entsprechen sollten (vgl. Abbildung 6).

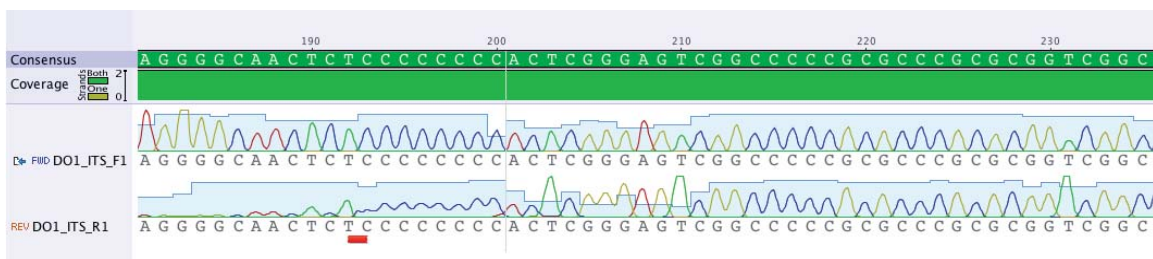


Abbildung 6: Alignment von komplementären DNA-Sequenzen

Falls bei der vorwärts gelesenen Sequenz nun ein nicht eindeutig einer Base zuordenbarer Peak auftritt, kann die Unklarheit durch einen Vergleich dieser Stelle mit der rückwärts

sequenzierten Nukleotidkette beseitigt werden, sowie umgekehrt. Nun kann mittels einer Durchsuchung einer DNA-Datenbank überprüft werden, ob die erhaltene DNA-Sequenz mit der dort vermerkten Sequenz der *Dryas octopetala* L. übereinstimmt. Es wurde die Sequenz der Probe „DO3 ITS F₁“ gewählt und eine Übereinstimmung von 100 % bei der Einstellung „Pairwise Identity“ erlangt, womit nachgewiesen ist, dass die vorliegende DNA-Sequenz die eines *Dryas octopetala* L. –Individuums ist.

3. Ergebnisse

In der Zugspitzregion wurden Daten von drei Individuen von *Dryas octopetala* L. („Do 1-3“) am 18.06.16 an drei Standorten (vgl. Anhang: Abbildung 1) unter leicht regnerischen Wetterverhältnissen und einer Durchschnittstemperatur von 8,2 °C aufgenommen.

Der Standort des Individuums „Do1“ befindet sich auf 1674 m über NN, besitzt die Koordinaten N 47 ° 26.613' E 11 ° 03.757' und ist nach Nordosten mit einer Steigung von ca. 65 ° exponiert. Eine Beschattung ist daher relativ häufig vorhanden.

„Do2“ wächst auf einer Höhe von 1619 m über NN und besitzt die Koordinaten N 47 ° 26.958' E 11 ° 03.925'. Seine Ausrichtung an einem Hang mit der geschätzten Steigung von 70 ° ist ostwärts und der Grad der Beschattung ist mittel.

Das Individuum „Do3“ ist 1618 m über NN bei den Koordinaten N 47 ° 27.188' E 11 ° 04.120' auf einem Felsen mit einem Steigungswinkel von ca. 70 ° nach Südosten ausgerichtet. Es besteht eine zeitweise Beschattung durch umstehende Bäume.

In Jotunheimen wurden Daten von vier *Dryas octopetala* L.- Individuen („Do 4-7“) an verschiedenen Standorten (vgl. Anhang: Abbildung 2) im Zeitraum des 23.07.16 bis 25.07.16 bei einer größtenteils bewölkten Wetterlage aufgenommen.

Das Individuum „Do4“ wurde am 23.07.16 bei einer Temperatur von 17,2 ° C untersucht. Der Standort auf 921 m über NN besitzt die Koordinaten N 61 ° 40.121' E 8 ° 07.865' und eine Exposition nach Südosten mit einer Steigung von 25 °. Daher ist der Grad der Beschattung gering.

Von „Do5“ wurden ebenfalls am 23.07.16 bei 21,9 °C auf 944 m über NN Daten aufgenommen. Die Koordinaten sind N 61 ° 39.385' E 8 ° 07.950' und die Ausrichtung ist südlich mit ca. 65 ° Hangneigung. Aufgrund einer dicht bewachsenen Umgebung ist eine Beschattung teilweise vorhanden.

„Do6“ wurde am 24.07.16 bei einer Umgebungstemperatur von 24,2 °C vermessen. Die Höhe des Standortes beträgt 970 m über NN und dessen Koordinaten sind N 61 ° 37.797' E 8 ° 02.420'. „Do6“ wächst in Hanglage mit einer Steigung von ca. 25 ° und einer Exposition nach Südosten, wobei der Grad der Beschattung gering ist.

Der Zwergstrauch „Do7“ wurde am 25.07.16 bei 11,8 °C untersucht. Sein Standort befindet

sich auf 1349 m über NN, besitzt die Koordinaten N 61 ° 40.370' E 8 ° 06.162' und ist nach Westen bei einem Steigungswinkel von 30 ° exponiert. Die Beschattung ist aufgrund des Standortes mittelstark.

3.1. Morphologische Untersuchung

Die genannten Individuen der *Dryas octopetala* L. wurden wie in der Methodik beschrieben vermessen, was zu den im Folgenden dargestellten Ergebnissen führte. Von den erlangten Daten werden jeweils die aus der Norm stechenden näher betrachtet.

3.1.1. Zugspitzregion

Die Datenaufnahme an den drei *Dryas octopetala* L. – Ökotypen „Do 1-3“ in der Zugspitzregion brachte die in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse. Die Tabelle stellt von jeder untersuchten Pflanze fünf mithilfe der digitalen Schieblehre erhaltene Messwerte der Blattdicke, -länge, sowie -breite und die Blütendurchmesser dar. Außerdem werden dazu die Durchschnittswerte und die ermittelten Zwergstrauchhöhen angegeben.

	Blattdicke	Blattlänge	Blattbreite	Blütendurchmesser	Höhe
„Do1“	0,96	12,24	5,87	32,28	52,17
	0,66	12,98	6,85	28,32	
	0,78	13,85	6,09	25,52	
	0,74	15,08	5,69	22,31	
	0,64	16,62	7,44	29,37	
☉ „Do1“	0,76	14,15	6,39	27,56	
„Do2“	0,54	17,16	8,00	26,52	89,87
	0,57	20,87	8,27	27,14	
	0,58	17,49	8,16	26,22	
	0,51	15,83	6,39	23,82	
	0,61	16,56	9,09	24,13	
☉ „Do2“	0,56	17,58	7,98	25,57	
„Do3“	0,72	13,17	5,77	28,84	57,17
	0,62	12,24	5,30	26,93	
	0,64	14,58	6,58	28,65	
	0,36	12,16	5,52	25,99	
	0,57	12,71	7,07	29,87	
☉ „Do3“	0,58	12,97	6,05	28,06	

Tabelle 1: Messwerte aus der Zugspitzregion, alle Angaben in mm

Auffällig ist, dass bei Individuum „Do1“ die Blattdicke von 0,96 mm sehr von den restlichen Blattdicken der gleichen Pflanze abweicht und die Werte der Blütendurchmesser in einer Spanne von ca. 10 mm variieren. Bei dem Zwergstrauch „Do2“ ist die Blattlänge von 20,87 mm deutlich über dem Durchschnittswert von 17,58 mm. Bei „Do3“ frappiert, dass der Blattdickenwert von 0,36 mm im Vergleich zu den anderen sehr niedrig ist.

Neben diesen Größen wurde auch die Ausbreitung der Zwergsträucher gemessen, welche bei „Do1“ 99 cm x 61 cm, bei „Do2“ 2,26 m x 1,57 m und bei Individuum „Do3“ 1,17 m x 1,47 m beträgt.

3.1.2. Jotunheimen

Die Messungen in Jotunheimen an den vier Individuen „Do 4-7“ von *Dryas octopetala* L. ergaben die in Tabelle 2 aufgeführten Werte. Es werden von jedem der vier untersuchten Pflanzen die Dicke, Länge und Breite von sechs Blättern, sowie die jeweiligen Durchschnittswerte und die Zwergstrauchhöhe angegeben. Die Blütendurchmesser werden nur bei „Do5“ und „Do7“ genannt, da die Blüten in den restlichen Fällen zum Zeitpunkt der Datenaufnahme bereits verblüht waren.

	Dicke	Länge	Breite	Blütendurchmesser	Höhe
„Do4“	0,41	14,72	6,81	-	83,00
	0,49	17,62	7,39	-	
	0,49	18,89	9,14	-	
	0,51	13,48	8,01	-	
	0,52	15,87	6,75	-	
	0,52	19,98	10,49	-	
∅ „Do4“	0,49	16,76	8,10		
„Do5“	0,51	20,2	10,94	26,70	128,00
	0,53	18,03	9,3	30,17	
	0,58	20,29	10,79	27,18	
	0,78	18,23	9,74	25,73	
	0,54	18,3	8,63	26,21	
	0,52	27,89	14,15	-	
∅ „Do5“	0,58	20,49	10,59	27, 20	
„Do6“	0,53	14,56	7,08	-	94,00
	0,52	17,76	9,08	-	
	0,61	19,67	10,36	-	
	0,56	20,42	12,51	-	
	0,54	21,46	12,73	-	
	0,49	13,84	7,36	-	
∅ „Do6“	0,54	17,95	9,85		
„Do7“	0,55	16,27	8,4	35,03	72,00
	0,42	18,73	9,98	33,62	
	0,35	15,72	6,94	36,08	
	0,37	17,04	8,61	38,47	
	0,42	19,07	8,23	37,77	
	0,41	24,57	11,6	34,18	
∅ „Do7“	0,42	18,57	8,96	35,86	

Tabelle 2: Messwerte aus Jotunheimen, alle Angaben in mm

Bei den angegebenen Werten ist auffällig, dass die Werte der Blattlänge von „Do4“ eine relativ große Varianz besitzen und von 13, 48 mm bis 19, 98 mm reichen. Des Weiteren sticht die Blattbreite von 10,49 mm aus den anderen Werten hervor.

Bei Individuum „Do5“ ist frappierend, dass die Blattdicke von 0,78 mm vom Durchschnitt um 0,2 mm abweicht. Der Blattlängenwert von 27, 89 mm unterscheidet sich um 7, 40 mm vom Durchschnitt, während die Breite desselben Blattes um 3, 56 mm variiert. Augenfällig beim Zwergstrauch „Do6“ ist der niedrige Wert der Blattlänge von 13,84 mm im Vergleich zum Durchschnitt, der 17,95 mm beträgt.

Ein weiterer auffälliger Blattlängenwert ist bei „Do7“ vorhanden, da die 24, 57 mm um 6, 00 mm vom Durchschnittswert mit 18, 57 mm differieren.

Die Ausbreitung der Zwergsträucher in Jotunheimen beträgt bei „Do4“ 3,11 m x 1,62 m, bei Individuum „Do5“ 1,34 m x 1,40 m, bei „Do6“ 8,76 m x 7,63 m und bei „Do7“ 31,8 cm x 24,5 cm.

3.2. Genetische Untersuchung

Neben den morphologischen Ergebnissen wurden durch die in der Methodik genannten vier Schritte der DNA-Analyse die DNA-Sequenzen der Individuen von *Dryas octopetala* L. erhalten. Dabei ergaben sich bei der nDNA nur Übereinstimmungen der DNA-Sequenzen von „Do 1-7“, weshalb auf diese in der folgenden Ergebnisdarstellung nicht eingegangen wird. Dahingegen lassen sich bei der cpDNA Varianzen an einigen Stellen des genetischen Codes feststellen, welche im Folgenden präsentiert werden (vgl. Abbildung 7).

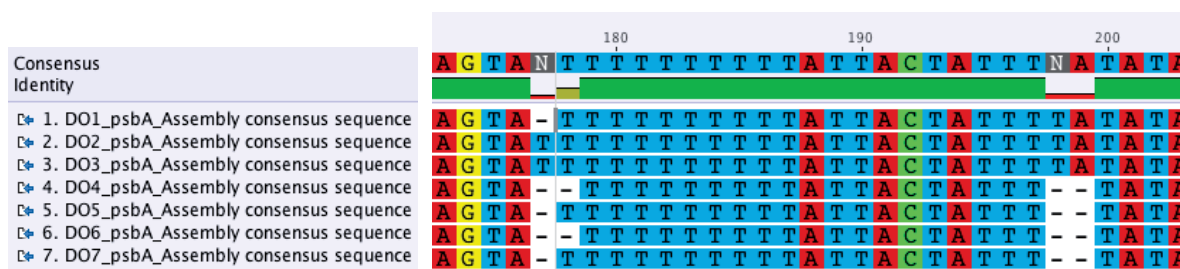


Abbildung 7: Sequenzen der Chloroplasten-DNA

3.2.1. Zugspitzregion

Die Sequenz der cpDNA weist bei Individuum „Do1“ an der Stelle des Basenpaars 177 am Rande einer Poly-T-Sequenz (eine Aneinanderreihung von mehreren Thymin-Basen) ein Gap, das heißt eine Lücke, auf, während bei den Individuen „Do2“ und „Do3“ eine Thymin-Base vorhanden ist. Bei den Basenpaaren 178 und 198 ist sowohl bei „Do1“, als auch bei „Do2“ und „Do3“ Thymin existent. An der Stelle 199 ist die Base Adenin bei den drei Individuen „Do 1-3“ vorhanden.

3.2.2. Jotunheimen

Die cpDNA-Sequenzen der Individuen „Do 4-7“ weisen an der Stelle 177 ein Gap auf, während bei Basenpaar 178 lediglich in den Sequenzen von „Do4“ und „Do6“ ein Gap auftritt. Bei „Do5“ und „Do7“ ist dort eine Thymin-Base vorhanden. Die Basenpaarstellen 198 und 199 bestehen bei allen vier in Jotunheimen untersuchten Zwergsträuchern „Do 4-7“ aus Gaps.

4. Diskussion

Die oben aufgeführte Datenaufnahme und -präsentation soll nun als Ausgangspunkt für die im Folgenden geführte Diskussion der Ergebnisse dienen, um zu einem Schluss zu kommen, ob sich seit der letzten Eiszeit und der darauffolgenden räumlichen Isolation der beiden Populationen in der Zugspitzregion und in Jotunheimen morphologische oder genetische Differenzen gebildet haben.

4.1. Morphologische Diskussion

Bei der Diskussion der morphologischen Resultate sind die allgemeinen Faktoren, sowie die Standortfaktoren zu berücksichtigen. Wichtig ist dabei, hervorzuheben, dass die Datenaufnahme der Individuen der Zugspitzregion ca. einen Monat vor derjenigen in Jotunheimen stattfand. Des Weiteren sind die Standorte in Deutschland höher und südlicher gelegen als in Norwegen, weshalb der Grad der Sonneneinstrahlung bei Ersterem höher, die Luftdichte hingegen niedriger ist.

4.1.1. Zugspitzregion

In der Zugspitzregion ist auffällig, dass das Individuum „Do2“ größere, wenn auch dünnere Blätter und mit 89, 87 mm einen deutlich größeren Wert für die Höhe, sowie mit 2,26 m x 1,57 m für die Ausbreitung besitzt als „Do1“ und „Do3“.

Die Begründung für die großen Werte und Ausbreitung kann darin liegen, dass die Standortfaktoren günstiger für das Wachstum sind als bei „Do1“ und „Do3“, da diese eine Ausrichtung nach Nordosten und Südosten besitzen, wobei um „Do3“ sehr dichter Baumbewuchs herrscht, weshalb der Grad der Beschattung sehr hoch ist. Dagegen ist „Do2“ ostwärts exponiert und erfährt daher eine geringe Beschattung.

4.1.2. Jotunheimen

Ähnliche Ergebnisse frappieren auch bei Individuum „Do6“ in Norwegen, welches eine sehr hohe Ausbreitung von 8,76 m x 7,63 m besitzt. Diese kann, anders als bei „Do2“ nicht nur Resultat eines guten Standortes sein, da die Exposition nach Südosten beispielsweise auch bei „Do4“ gegeben ist. Daher liegt die Schlussfolgerung nahe, dass der Zwergstrauch „Do6“

deshalb so groß ist, da er bisher mehr Zeit hatte, zu wachsen und daher älter als die restlichen untersuchten Individuen Jotunheimens ist.

Die Messresultate an Individuen der *Dryas octopetala* L. in Jotunheimen sind auch in Hinsicht auf die Blütenstände augenfällig, da diese bei der Hälfte der erforschten Pflanzen bereits verblüht waren, als die Daten erhoben wurden. So waren bei „Do4“ und „Do6“ gar keine Blüten mehr vorhanden, während bei „Do5“ fünf und „Do7“ noch alle Blüten existent waren.

Dies ist damit zu begründen, dass sowohl „Do4“, als auch „Do6“ nach Südosten exponiert sind und eine gering bewachsene Umgebung haben, weswegen die Einstrahlung so hoch ist, dass sie schneller verblühten als die Individuen „Do5“ und „Do7“. Ersteres ist zwar nach Süden ausgerichtet, jedoch umgebend sehr dicht bewachsen, weshalb der Grad der Beschattung hoch ist. „Do7“ besaß zum Zeitpunkt der Datenaufnahme noch alle Blütenstände, da dieser Zwergstrauch nach Westen ausgerichtet und daher die Beschattung ebenfalls eher hoch ist.

Der Grund, warum einige Individuen in Norwegen verblüht waren, aber in Deutschland nicht, liegt mit sehr großer Wahrscheinlichkeit im Zeitpunkt der Datenaufnahme, welcher in der Zugspitzregion ca. einen Monat vor dem in Jotunheimen lag.

4.1.3. Vergleich der Zugspitzregion und Jotunheimens

Abgesehen von den oben angesprochenen Unterschieden bezüglich der Blütenstände ist beim morphologischen Vergleich der Population von *Dryas octopetala* L. der Zugspitzregion mit der Jotunheimens sehr auffällig, dass die Individuen des deutschen Standortes im Schnitt eine geringere Wuchshöhe besitzen als die des norwegischen Nationalparks. So beträgt die Durchschnittshöhe der Individuen „Do 1-3“ der Zugspitzregion 66,40 mm und die von „Do 4-7“ aus Jotunheimen 94,25 mm (vgl. Abbildung 8).

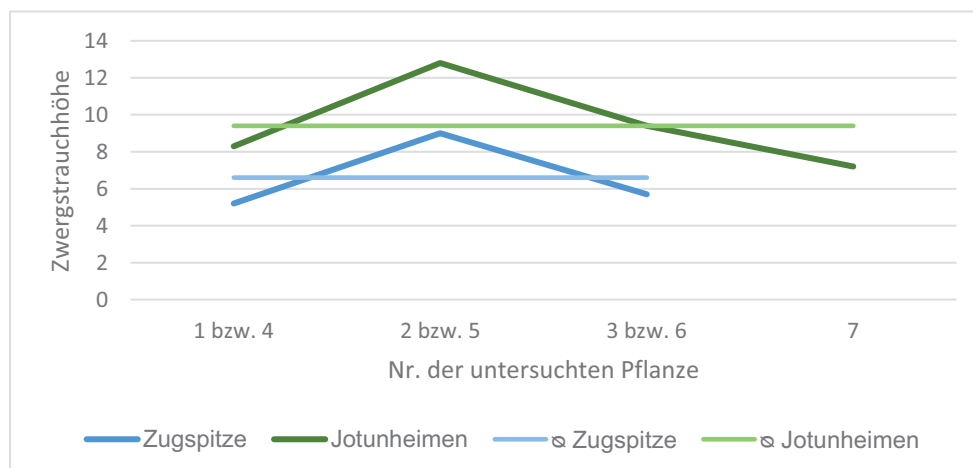


Abbildung 8: Diagramm zur Wuchshöhe von *Dryas octopetala* L.

Ein möglicher Grund dafür könnte die hohe Lage der Population der Zugspitzregion im Gegensatz zu der Jotunheimens sein. Da die Luftdichte mit der Höhe abnimmt, ist pro Volumeneinheit Luft für die Individuen „Do 1-3“ weniger CO₂ vorhanden als bei niedrigeren Standpunkten in Jotunheimen. Da CO₂ essentiell für die Fotosynthese und damit für die Gewinnung von Kohlehydraten ist, welche wiederum als Energiequelle für die Pflanze dienen, kann die Pflanze bei zu wenig CO₂-Gehalt in der Luft nur bedingt gut wachsen. Eine weitere Erklärung wäre die Annahme, dass die Zwergsträucher kleiner sind, je weiter sich der Standort im Süden befindet. Die weiße Silberwurz ist nach Ellenberg ein Kältezeiger. Daher ist es möglich, dass die Temperaturen in der Zugspitzregion für *Dryas octopetala* L. trotz der Gebirgslage zu hoch sind, um gut zu wachsen.

Die ausschlaggebendere Ursache ist dabei wahrscheinlich die erste, da die Temperaturunterschiede zwischen der Zugspitzregion zwar leicht vorhanden sind, aber keine so große Ausprägung haben, dass sie die Wuchshöhe derart beeinflussen.

Eine weitere Auffälligkeit, die die Ergebnisse hervorbringen, ist ein allgemeiner Trend, dass die Blattfläche von *Dryas octopetala* L.-Individuen in der Zugspitzregion im Durchschnitt kleiner ist als die in Jotunheimen. Dafür sind die Blätter der Zwergsträucher in Deutschland dicker als in Norwegen (vgl. Abbildung 9). Es ist also festzustellen, dass die Größe der Blattfläche indirekt proportional zur Blattdicke ist.

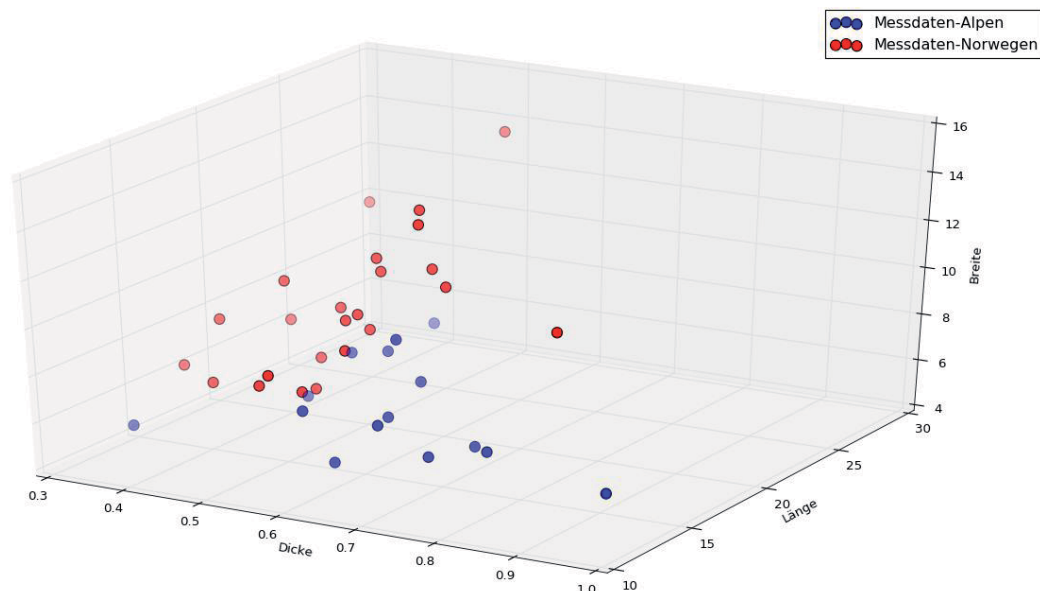


Abbildung 9: Verhältnis der Blattdicke, -länge und -breite von *Dryas octopetala* L.

Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass in den Chloroplasten der Palisaden- und Schwammzellen der Blätter Fotosynthese betrieben wird. Großflächigere Blätter besitzen mehrere Palisadenzellen nebeneinander, jedoch in wenigen Schichten, analog zu Schattenblättern. Dagegen ist das Palisadengewebe bei dickeren Blättern mehrschichtig,

wie bei Sonnenblättern, da das Schwammgewebe bei einer höheren Lichtintensität trotz dicker Palisadenschicht genügend Licht für die Fotosynthese erhält (vgl. Helmich, 2014).

Dass nun die norwegischen Blätter eher Eigenschaften von Schattenblättern aufweisen, kann auf die nördliche Lage des Wuchsgebietes der dortigen *Dryas octopetala L.*-Individuen zurückgehen. Durch die dadurch bedingte niedrige Bestrahlungsintensität, müssen die Blätter, um ausreichend Fotosynthese betreiben zu können, beschaffen sein wie Schattenblätter. Dies steht im Gegensatz zu den Blättern der Zugspitzregion, welche durch ihren relativ südlichen Standort und darüber hinaus durch eine höhere Lage, weswegen durch die geringere Luftdichte die Strahlungsintensität höher ist, über eine leichtere Ausgangsposition für Fotosynthese verfügen.

4.2. Genetische Diskussion

Bei der Diskussion der genetischen Resultate ist zu beachten, dass nicht kodierende DNA analysiert wurde. Festgestellte Unterschiede haben daher keine Auswirkungen auf die morphologischen Merkmale der Pflanze, weshalb diese unabhängig vom Folgenden betrachtet werden können.

4.2.1. Zellkern-DNA

In der nDNA der Individuen „Do 1-7“ konnten weder Unterschiede innerhalb der Zugspitzregion, noch innerhalb Jotunheimens, noch im Vergleich der beiden Standorte festgestellt werden.

Eine mögliche Ursache dafür ist, dass ein Austausch zwischen den beiden Populationen stattfindet, indem die Samen durch den Wind vom einen zum anderen Standort getragen werden. Also können sich bei der einen Population nicht unabhängig von der anderen genetische Mutationen im Zellkern ausbilden.

Ein weiterer potentieller Grund für den Mangel an Unterschieden in der DNA-Sequenz ist, dass die weiße Silberwurz ein sehr ausdauernder Chamaephyt ist (vgl. Aeschmann et al., 2004, Bd. 1, S. 758). Dies hat zur Folge, dass eine Generation über einen vergleichsweise langen Zeitraum existiert, weshalb seit der letzten Eiszeit nur ca. 120 Generationen bestanden, was für genetische Mutationen eine zu geringe Zahl darstellt (vgl. Schäfer, 2016).

Die stimmigere Theorie ist dabei die zweite, da die erste nicht im Einklang mit der folgend erläuterten Annahme bezüglich der cpDNA steht.

4.2.2. Chloroplasten-DNA

In der cpDNA können mehrere Differenzen der beiden Populationen determiniert werden (vgl. Tabelle 3).

		177	178	198	199
DEUTSCHLAND	„Do1“	-	T	T	A
	„Do2“	T	T	T	A
	„Do3“	T	T	T	A
NORWEGEN	„Do4“	-	-	-	-
	„Do5“	-	T	-	-
	„Do6“	-	-	-	-
	„Do7“	-	T	-	-

Tabelle 3: Unterschiede in den cpDNA-Sequenzen

Innerhalb der Zugspitzregion ist die Differenz, wie in der Ergebnispräsentation erläutert, am Rand einer Poly-T-Sequenz vorhanden. Ebenso verhält es sich mit den Sequenzen der norwegischen *Dryas octopetala* L.-Individuen untereinander. Diese Unterschiede in der DNA-Sequenz sind jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit während der Sequenzierung entstandene Messfehler und sagen daher nichts über tatsächliche genetische Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen aus.

Dahingegen sind an den Basenpaarstellen 198 und 199 Abweichungen, die zwischen den beiden Populationen herrschen. Die Individuen Jotunheimens haben an den Stellen 198 und 199 Gaps, während die der Zugspitzregion dort eine Thymin- und eine Adenin-Base besitzen.

Der mögliche Grund hierfür liegt darin, dass bei einem Individuum der einen Population Mutationen, also eine fehlerhafte DNA-Replikation, evolutionsbiologische Selektion oder genetische Drift, das heißt eine zufällige genetische Strukturänderung einer Population, auftrat. Diese dadurch entstandene Variation setzte sich durch, da cpDNA nur maternal vererbt wird (vgl. Mátyás, 2010, S.78).

Da Chloroplasten-DNA zudem eine geringe Mutationswahrscheinlichkeit aufweist, sind solche populationsspezifischen Abweichungen in der DNA-Sequenz ein Zeichen dafür, dass die beiden Populationen schon sehr lange voneinander isoliert sind (vgl. Mátyás, 2010, S.78) und kein Austausch durch die Samen stattfindet, da sonst keine Unterschiede zwischen „Do 1-3“ und „Do 4-7“ existierten.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich im Zeitintervall der räumlichen Isolation leichte standortbedingte morphologische Variationen zwischen der Population der Zugspitzregion und der Jotunheimens ausgebildet haben. Zudem kann aufgrund der Ergebnisse angenommen werden, dass kein Austausch zwischen den Populationen stattfindet, weswegen entgegen der Annahme in der Hypothese dieser Arbeit in der cpDNA Differenzen entstanden sind.

Änderungen der nDNA sind analog zur Vorhersage der Hypothese nicht vorhanden und werden erst in ferner Zukunft zu beobachten sein.

Diese Beobachtungen können jedoch nur erfolgen, falls sich die globale Erwärmung nicht weiterhin im jetzigen Maße entwickelt. Da die *Dryas octopetala* L. ein Chamaephyt ist, der nur in kalten Regionen beheimatet ist, wird ihr Vorkommen durch die globale Erwärmung noch akuter eingeschränkt werden, als es seit Ende der Dryaszeit nach und nach bereits geschehen ist.

5. Literaturverzeichnis

Aeschimann, D., Lauber, K., Moser, D. M., Theurillat, J.-P. (2004): Flora Alpina, 1. Auflage, Bd. 1, Bern: Haupt-Verlag.

Ellenberg, H., Leuschner, C. (2010): Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen, 6. Auflage, Stuttgart: Ulmer-Verlag.

Helmich, U. (05.2014): Das Blatt.

<http://www.u-helmich.de/bio/stoffwechsel/reihe4/reihe41/412-Blatt.html>

| letzter Zugriff am 06.11.2016 um 14:36 Uhr |

Macdougall, J. D. (2004): Frozen Earth, The Once and Future Story of Ice Ages, Berkeley, Los Angeles: University of California Press.

Mátyás, G. (1999): Rekonstruktion der nacheiszeitlichen Einwanderung der Eichen in der Schweiz anhand ihrer Chloroplasten-DNA, Technische Hochschule Zürich.

Neis-Beeckmann, P. (2015): Molekularbiologie für Dummies, 2. Auflage, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Schäfer, H. (15.09.2016): Persönliche Erklärung der DNA-Sequenzierung, TUM Weihenstephan.

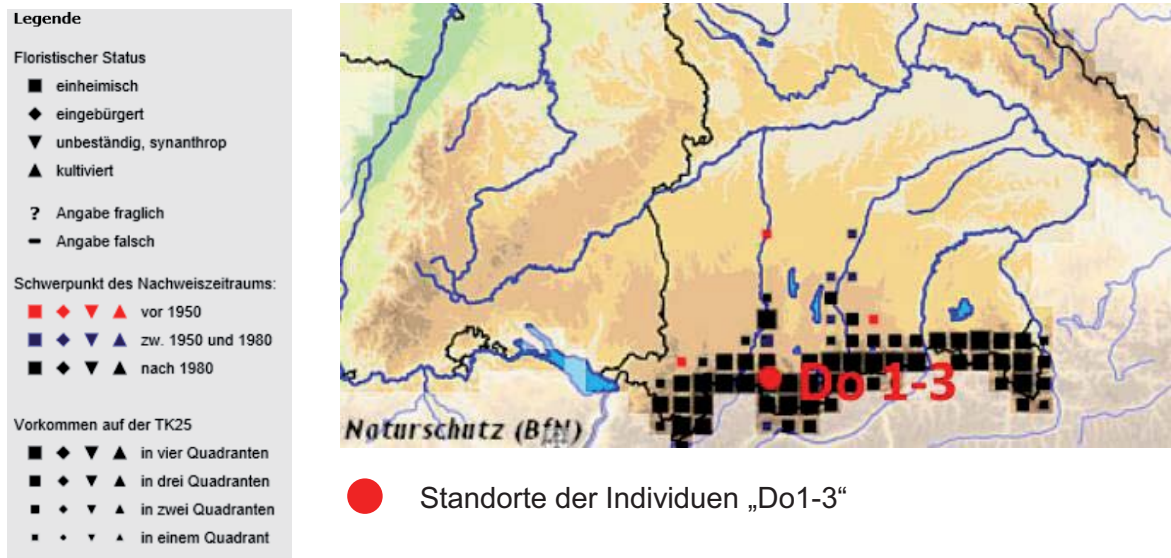
Shaftel, H. (03.11.16): September was warmest on record by narrow margin, Goddard Institute for Space Studies.

<http://climate.nasa.gov/news/2503/september-was-warmest-on-record-by-narrow-margin/>

| letzter Zugriff am 05.11.2016 um 00:04 Uhr |

6. Anhang

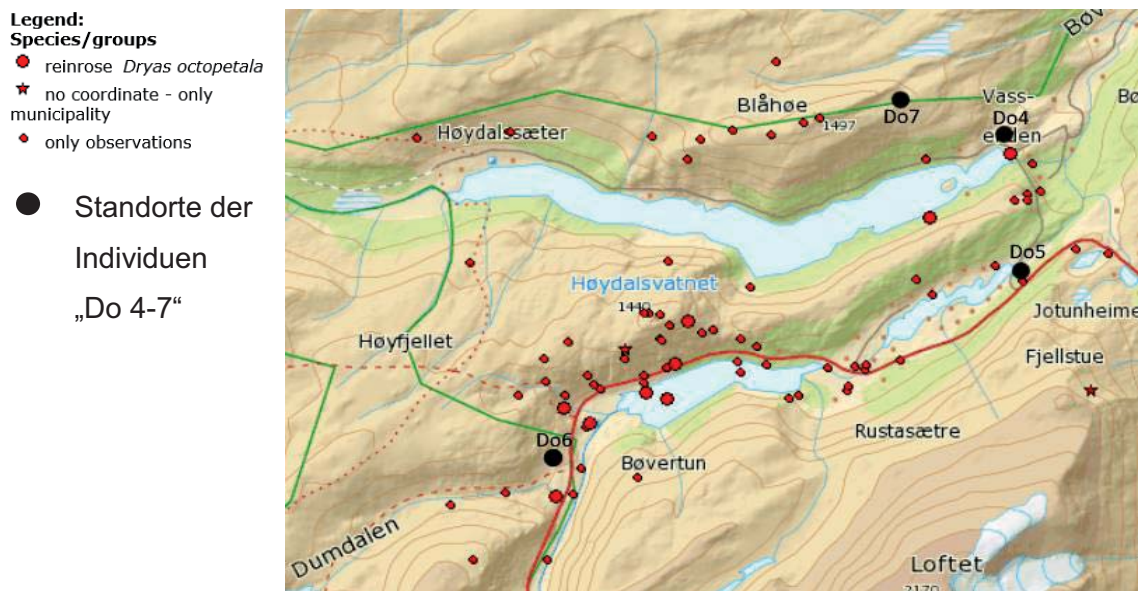
Abbildung 1: Karte zur Verbreitung der *Dryas octopetala* L. in der Zugspitzregion:



Bundesamt für Naturschutz: FloraWeb, Karte zur Verbreitung der *Dryas octopetala* L. in Deutschland (bearbeitet).

<http://www.floraweb.de/webkarten/karte.html?taxnr=2029>

Abbildung 2: Karte zur Verbreitung der *Dryas octopetala* L. in Norwegen:



Norwegian Biodiversity Information Centre und GBIF-Norway: Species Map Service (bearbeitet).

<http://artskart.artsdatabanken.no/FaneKart.aspx?Date=0,0&LnID=103303&GPND=True&DT=11111&BBOX=109022,6842085,175972,6870035&Height=430&Width=1030>

Abbildung 3: Forschungsprotokoll zur *Dryas octopetala* L.:

FORSCHUNGSPROTOKOLL DRYAS OCTOPETALA

Katharina Maetschke

Zugspitze Jotunheimen

Datum:	
Uhrzeit:	
Wetterverhältnisse:	
Temperatur:	
GPS-Koordinaten:	
Höhenlage:	



STANDORTFAKTOREN	
Lage im Gelände	
Beschattung	
Humustiefe	
Bodenfeuchte	
Bodentemperatur	
Bodenart	

MORPHOLOGIE							
Zwergstrauchhöhe							
Ausbreitung							
Stammdurchmesser							
Blattdicke							
Blattlänge							
Blattbreite							
Blütendurchmesser							

Tabelle 1: Qualität und Menge der DNA in 2 µl DNA-Substanz:

Probe	Qualität	Menge in ng/µl
„DO1“	1,718	12,943
„DO2“	1,797	15,267
„DO3“	1,787	11,983
„DO4“	1,756	8,135
„DO5“	1,746	9,839
„DO6“	1,68	7,069
„DO7“	1,571	6,774

Tabelle 2: Komponenten für 14 µl Mastermix:

ddH ₂ O	10,3 µl
10 x Reaction Buffer	1,5 µl
dNTPs (40 µM)	0,6 µl
F Primer (psbA oder ITS) (10 µM)	0,75 µl
R Primer (psbA oder ITS) (10 µM)	0,75 µl
Taq-Polymerase	0,1 µl

7. Erklärung zur Seminararbeit:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Seminararbeit ohne fremde Hilfe angefertigt und nur die im Literaturverzeichnis angeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Insbesondere versichere ich, dass ich alle wörtlichen und sinngemäßen Übernahmen aus anderen Werken als solche kenntlich gemacht habe.

Ort, Datum

Unterschrift