

***Gentiana lutea* L., *Gentiana pannonica* SCOP. und deren Hybriden auf der Brockenkuppe im Nationalpark Harz**

Gunter Karste und Holger Budahn

Zusammenfassung

KARSTE, G. & BUDAHN, H. (2022): *Gentiana lutea* L., *Gentiana pannonica* SCOP. und deren Hybriden auf der Brockenkuppe im Nationalpark Harz. – Mitt. florist. Kart. Sachsen-Anhalt (Halle) 27: 97–103. Der Gelbe Enzian (*Gentiana lutea*) und der Ungarische Enzian (*Gentiana pannonica*) gehören zu den montan bis subalpin verbreiteten Arten, welche im Harz nicht ursprünglich heimisch sind, sondern nach Anlage des Brockengartens im Jahr 1890 dort angepflanzt wurden. Nach erfolgreicher Etablierung unter den spezifischen klimatischen Bedingungen der Brockenkuppe konnten sich beide Enziane, wie ca. 30 weitere Gefäßpflanzenarten, über das Gartenareal hinaus ausbreiten und werden heute auch an verschiedenen Standorten auf der Kuppe gefunden. Kreuzungen von *G. lutea* und *G. pannonica* wurden schon von WYNEKEN (1938) beschrieben. Eine Distanzanalyse mittels molekularer Marker soll einen detaillierteren Einblick in das interspezifische Hybridisierungsgeschehen liefern. Diskutiert werden Fragen der 1890 eingeleiteten Florenverfälschung auf dem Bergplateau.

Abstract

KARSTE, G. & BUDAHN, H. (2022): *Gentiana lutea* L., *Gentiana pannonica* SCOP. and their hybrids on the Brocken hilltop in the Harz National Park. – Mitt. florist. Kart. Sachsen-Anhalt (Halle) 27: 97–103. The Yellow Gentian (*Gentiana lutea*) and the Hungarian Gentian (*Gentiana pannonica*) belong to the montane and subalpine species not indigenous in the Harz Mountains which were cultivated since the ‘Brockengarten’ was initiated in 1890. After established under the specific Brocken climate conditions, both species were able to enter regions outside the garden area as described also for about 30 other species. Nowadays *G. lutea* and *G. pannonica* can be found, caused by the main wind direction, in particular east from the garden. Hybrids of both species were already described by WYNEKEN (1938). A distance analysis using molecular markers provides data about the degree of interspecific hybridisations. The adulteration of flora starting 1890 at the Brocken plateau is discussed.

Einleitung

Am 8. Juni 1890 gründete Prof. Albert Peter von der Georg-August-Universität Göttingen den Brockengarten auf einer Fläche von 4.600 m². Ziel war es unter anderem, unter den rauen klimatischen Bedingungen der Brockenkuppe Gebirgspflanzen zu kultivieren, welche dort günstigere Bedingungen vorfinden als am Standort Göttingen (KARSTE 1994). Neben schwer kultivierbaren Arten aus den Gattungen *Androsace*, *Primula* und *Saxifraga* wurden auch konkurrenzstarke und expansive Arten wie z. B. *Rumex alpinus*, *Ligusticum mutellina*, *Peucedanum ostrutium* und verschiedene Enzianarten angepflanzt. Bereits 1893 erfolgten auf der Gartenfläche erste Versuche zur Kultivierung des Ungarischen Enzians (*Gentiana pannonica*). Der Tüpfel-Enzian (*G. punctata*) wurde das erste Mal 1895, der Gelbe Enzian (*G. lutea*) 1896, der Schwalbenwurz-Enzian (*G. asclepiadea*) 1898 und der Purpur-Enzian (*G. purpurea*) 1900 gepflanzt. Obwohl die ersten Pflanzversuche der oben genannten Enzianarten nicht glückten, entwickelten sich diese

nach Wiederholungspflanzungen um 1900 gut bis sehr gut. So stellt WYNEKEN (1938) fest, dass sich „alle hochwüchsigen Enzianarten gut gehalten haben und sich im Garten zum Teil so stark ausbreiten, dass sie scheinbar im Begriff sind sich über den Garten hinaus auf der Brockenkuppe anzusiedeln“. In handschriftlichen Mitteilungen aus dem Jahr 1937 erwähnt er bereits, dass sich unter anderem *G. lutea* in Hauptwindrichtung nach Osten über den Zaun in Richtung Bahngleise ausgebreitet hat (mündliche Mitteilung Dr. Gerrit Stohr). Heute, 85 Jahre später, sind die ‚Brockenenziane‘ im Garten an vielen verschiedenen Stellen zu finden (KARSTE 2016). Außerhalb der Anlage sind sie, wie früher, in erster Linie in Hauptwindrichtung auf der Kuppe verbreitet. Weiter nordöstlich, am ehemaligen Standort des ‚Pfeffturms‘, ist ein weiteres, größeres Vorkommen von in erster Linie *G. lutea* vorhanden (Abb. 2).

WYNEKEN benutzt die Bezeichnung ‚Brockenenzian‘ vor allem bei Kreuzungen zwischen *G. punctata* und *G. purpurea*, beschreibt aber auch Kreuzungen zwischen *G. lutea* und *G. pannonica*. Da diese ebenfalls im Brockengarten aufgrund der standörtlichen Nähe entstanden sind, werden diese Hybriden von uns ebenfalls als ‚Brockenenzian‘ bezeichnet. Erste Hinweise auf interspezifische Hybridisierungen von verwandten Arten liefern nach wie vor morphologische Merkmale wie Wuchstyp und Blütenfarbe. Anders als in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts kann das Vorliegen von Hybriden heute aber durch den Einsatz molekularer Marker untermauert werden. Zur Bestimmung der genetischen Distanz können Mikrosatelliten- oder SNP-gestützte Markersysteme eingesetzt werden. Aus Kostengründen haben aber auch noch anonyme Markersysteme wie Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)- und Doppelprimer-RAPD (dpRAPD)-Marker weiter ihre Berechtigung.

In die Distanzanalyse sollten morphologisch als ‚reinerbig‘ bzw. ‚Hybriden‘ klassifizierte Enziane von verschiedenen Fundorten der Brockenkuppe einbezogen und mit den Amplifikations-Mustern von reinerbigen *G. lutea* und *G. pannonica* aus den bayrischen Alpen verglichen werden. Mit Hilfe molekulargenetischer Untersuchungsmethoden soll die häufig gestellte Frage einer Klärung nähergebracht werden, welche Enzianarten sich auf der Brockenkuppe gekreuzt haben und in welcher verwandtschaftlichen Beziehung sie stehen.

Material

Für die molekulargenetischen Untersuchungen wurden auf dem Brocken nach morphologischen Kriterien reinerbige *G. lutea* (1–5/2020, 1–3/2021) und *G. pannonica*-Pflanzen (6–10/2020, 4–6/2021) beprobt. Die Bezeichnungen setzen sich aus den Probennummern und dem Beprobungsjahr zusammen. Im Brockengarten wurden außerdem Proben von potentiellen Hybriden beider Arten entnommen. Hier wurde unterschieden zwischen Hybriden, die den Habitus von *G. lutea* besaßen und orange blühten (11–15/2020, 7–10/2021) bzw. den Habitus von *G. pannonica* hatten und ebenfalls eine orange Blütenfarbe aufwiesen (16–20/2020) und denen, die von der Wuchsform her eher *G. lutea* ähnelten, aber wie *G. pannonica* eine rote Blütenfarbe zeigten (21–22/2020) und umgekehrt den Habitus von *G. pannonica* hatten und gelb blühten (26–27/2020) (Abb. 1 a–f, Tab. 1). Dr. Andreas Gröger vom Botanischen Garten in München-Nymphenburg stellte Blattmaterial von in den bayrischen Alpen wachsenden reinerbigen *G. lutea* (11/2021) und *G. pannonica*-Pflanzen (12/2021) (Tab. 1 und Abb. 4) zur Verfügung.

Methoden

DNA-Isolation

Die DNA der Einzelpflanzen wurde nach einem CTAB-Protokoll (POREBSKI et al. 1997) mit folgenden Modifikationen isoliert: 100 mg frisches Blattmaterial wurden in einem 1,5 ml Tube



Abb. 1 a–f: Auf der Brockenkuppe aufgefundene Typen von Hybriden zwischen *G. lutea* und *G. pannonica* und deren Ausgangsarten. – a: *G. lutea*, – b: *G. pannonica*, – c: orange blühende Hybride mit Habitus *G. lutea*, – d: orange blühende Hybride mit Habitus *G. pannonica*, – e: rot blühende Hybride mit Habitus *G. lutea*, – f: gelb blühende Hybride mit Habitus *G. pannonica*. Fotos G. Karste.

Tab. 1: Auf der Brockenkuppe beprobte Typen von Hybriden zwischen *G. lutea* und *G. pannonica* und deren Ausgangsarten (Typen a–f dargestellt in Abb. 1).

Typ	Pflanzen-Nr.	Klassifikation	Blütenfarbe	Habitus	Herkunft
Std.	11/2021	<i>G. lutea</i>	gelb	<i>G. lutea</i>	Wallberg, Mangfallgebirge, Oberbayern, 1.580 m
a	1–5/2020	<i>G. lutea</i>	gelb	<i>G. lutea</i> -Typ	Brockenkuppe
a	1–3/2021	<i>G. lutea</i>	gelb	<i>G. lutea</i> -Typ	Brockenkuppe
Std.	12/2021	<i>G. pannonica</i>	rot	<i>G. pannonica</i>	Wallberg, Mangfallgebirge, Oberbayern, 1.600 m
b	6–10/2020	<i>G. pannonica</i>	rot	<i>G. pannonica</i> -Typ	Brockenkuppe
b	4–6/2021	<i>G. pannonica</i>	rot	<i>G. pannonica</i> -Typ	Brockenkuppe
c	7–10/2021	Hybride	orange	<i>G. lutea</i> -Typ	Brockenkuppe
d	16–17/2020	Hybride	orange	<i>G. pannonica</i> -Typ	Brockenkuppe
e	21/2020	Hybride	rot	<i>G. lutea</i> -Typ	Brockenkuppe
f	26/2020	Hybride	gelb	<i>G. pannonica</i> -Typ	Brockenkuppe

mit 400 µl auf 65 °C vorgewärmten Extraktionspuffer mittels MM300-Mühle (Retsch, Haan, Deutschland) für 2×5 min bei 30 s⁻¹ aufgeschlossen, wobei jeweils eine Kugel aus rostfreiem Stahl genutzt wurde. Abschließend wurde die extrahierte und aufgereinigte DNA in jeweils 50 µl TE-Puffer resuspendiert. Konzentration und Reinheit der DNA wurden photometrisch mittels NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, USA) bestimmt und alle Proben auf eine DNA-Konzentration von 10 ng µl⁻¹ eingestellt.

RAPD (Random amplified polymorphic DNA)- und dpRAPD (Doppelprimer RAPD)-Analyse
Die RAPD-Analyse erfolgte in einem Volumen von jeweils 6 µl mit Dekamerprimern nach WILLIAMS et al. (1990). Bei der dpRAPD-Analyse handelt es sich um eine Variante mit zwei Dekamerprimern (BUDAHN et al. 2008), um mehr und kleinere DNA-Fragmente zu generieren. Die Amplifikationsprodukte wurden mittels 1%iger Agarosegele aufgetrennt, mit Ethidiumbromidlösung gefärbt und auf einem UV-Transilluminator dokumentiert. Die Größenbestimmung erfolgte anhand einer auf dem Gel aufgetragenen 100 bp-Leiter (Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA).

Bestimmung der genetischen Distanz

Polymorphe Banden wurden für jede Pflanze als 1 (vorhanden) oder 0 (fehlend) ausgewertet und diese Matrix mit dem Software-Paket TREECON for Windows, Version 1.3 (VAN DE PEER & DE WACHTER 1994) mittels UPGMA- (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) Algorithmus verrechnet. Für die Bootstrap-Analyse wurden 100 Wiederholungen gewählt.

Ergebnisse

In Abb. 2 wurde die Verbreitung von *G. lutea*, *G. pannonica* und deren Hybriden auf der Brockenkuppe dargestellt (rote Markierungen). Es fällt auf, dass sich diese Vorkommen primär

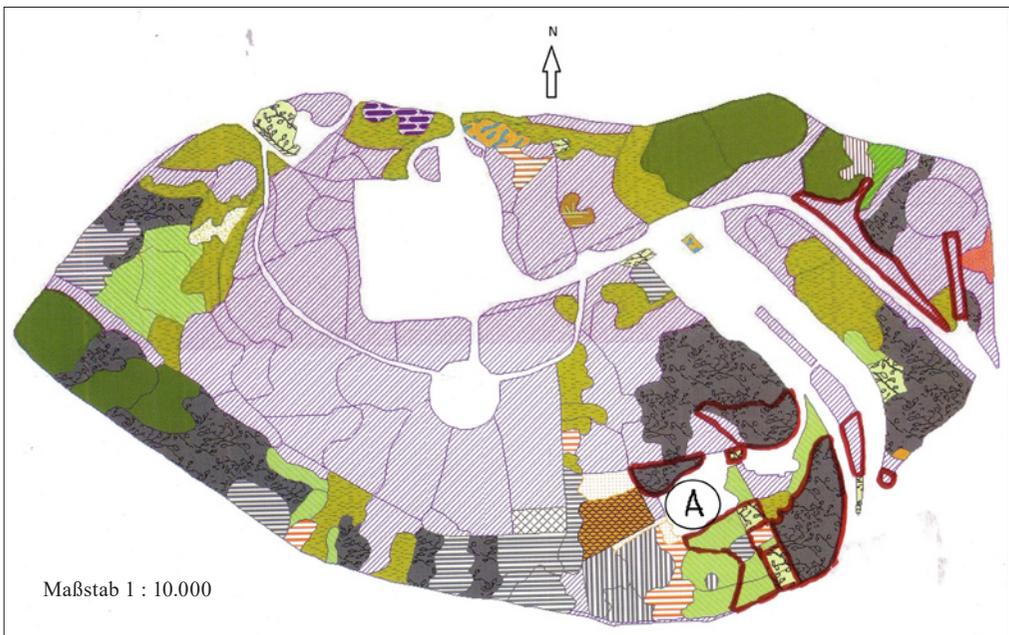


Abb. 2: Verbreitung von *Gentiana lutea*, *G. pannonica* und deren Hybriden (rot umrandete Bereiche) auf der Brockenkuppe. A = Standort des Brockenkengartens. Symbole der Vegetationskarte vgl. KARSTE (2014).

östlich bis nordöstlich vom Brockengarten (A) aus befinden. Sie haben sich erwartungsgemäß mit der Hauptwindrichtung Südwest ausgebreitet. Anders verhält es sich z. B. beim Alpen-Frauenmantel (*Alchemilla alpina*) und beim Rasigen Steinbrech (*Saxifraga rosacea*) (KARSTE 2014). Beide Arten kommen in z. T. hohen Deckungsgraden auf der gesamten Brockenkuppe, auch entgegen der Hauptwindrichtung vor.

DNA von 26 *Gentiana*-Proben wurde in Kombination mit vier Operon-Dekamerprimern (RAPD) sowie 11 Primerkombinationen (dpRAPD) untersucht und 173 polymorphe Banden ausgewertet (Abb. 3). Die Anzahl ausgewerteter polymorpher Banden pro System lag zwischen 5 und 21. Die erstellte Matrix wurde für eine Distanzanalyse verwendet (Abb. 4).

Diskussion

Die Spuren des 1890 von Prof. A. Peter gegründeten Brockengartens sind auf dem Brockenplateau vielerorts wahrnehmbar (KARSTE 2014). Vor der Wiederinstandsetzung des Brockengartens stellten wir 1990 zusammen mit Dr. Gerrit Stohr fest, dass ca. 30 der im Garten kultivierten Pflanzenarten auch außerhalb der Anlage auftraten. Als prominente Vertreter gehörten dazu bereits seit Mitte der 1950er Jahre verschiedene *Gentiana*-Arten.

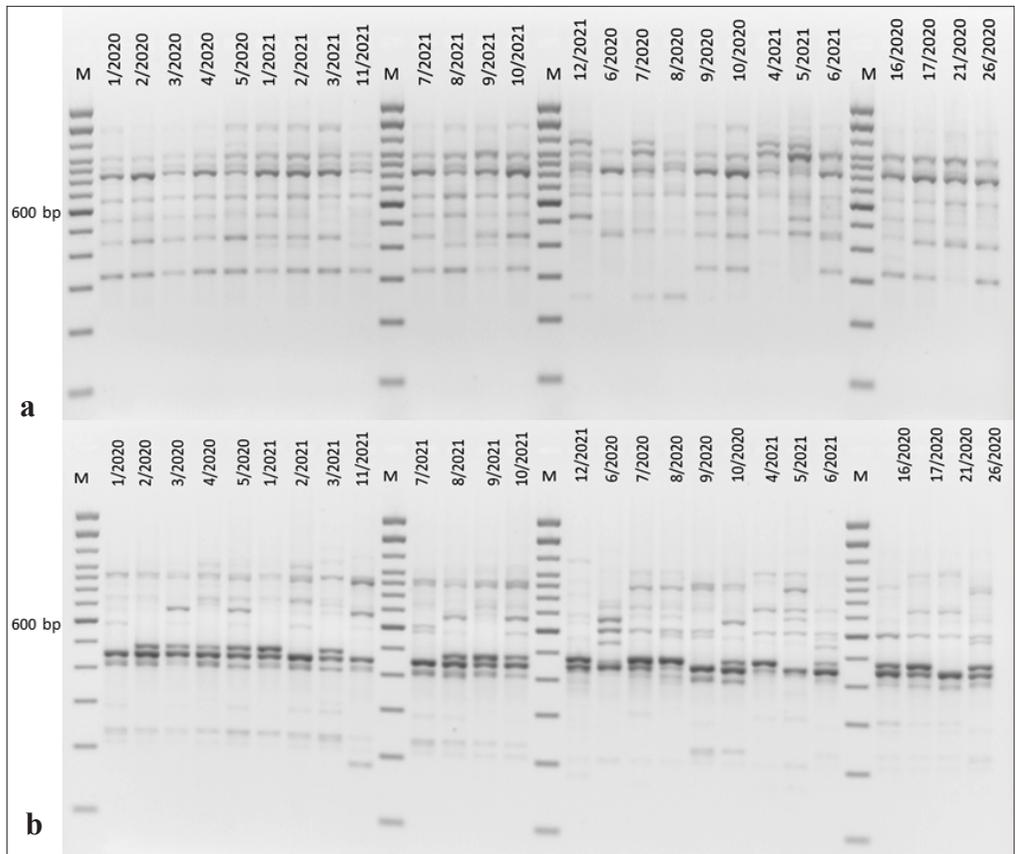


Abb. 3a, b: Auftrennung der amplifizierten DNA-Fragmente bei Einsatz von **a)** Dekamerprimer OPE 03 (5'-AGTCAGCCAC-3') und **b)** OPA 17 (5'-GACCCTTGT-3') + OPA 18 (5'-AGGTGACCGT-3'). M: 100 bp Größenstandard.

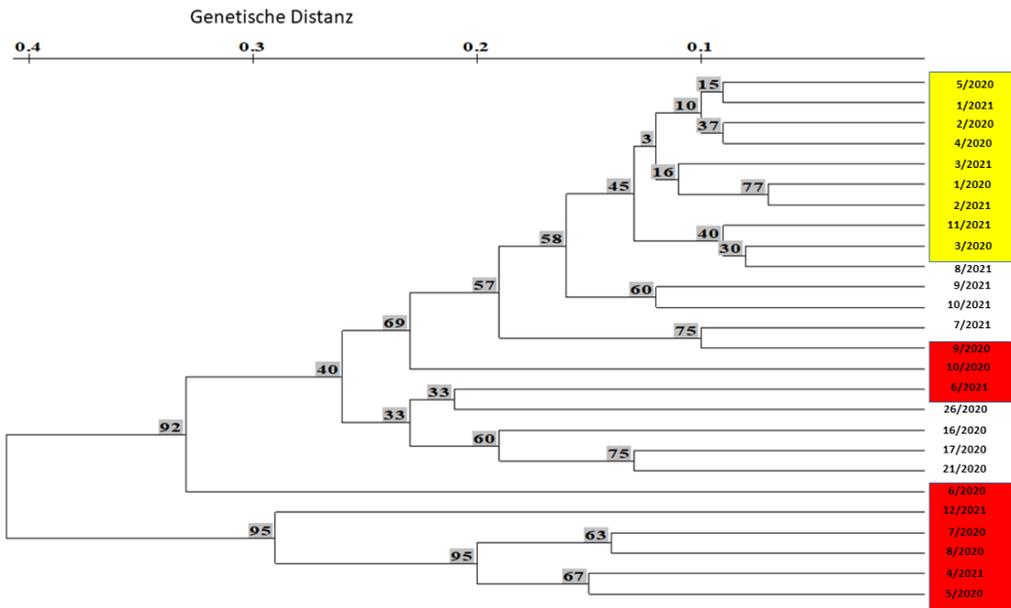


Abb. 4: Distanzanalyse für 26 morphologisch als reinerbig bzw. Hybriden klassifizierte *Gentiana*-Proben. Gelb hinterlegt: morphologisch als *G. lutea* klassifiziert; rot hinterlegt: morphologisch als *G. pannonica* klassifiziert; ohne Hinterlegung: morphologisch als Hybriden klassifiziert. Angegeben wurden die genetische Distanz und (grau hinterlegt) die Bootstrap Values.

Die acht als reinerbig bonitierten *G. lutea*-Pflanzen, die auf der Brockenkuppe beprobt wurden, bildeten bei der Distanzanalyse ein geschlossenes Cluster mit der als Standard genutzten *G. lutea*-Probe aus Bayern. Auch fünf der als reinerbig bonitierten *G. pannonica*-Pflanzen clusteren mit der *G. pannonica*-Pflanze aus Bayern. Warum die Pflanzen 9/2020, 10/2020 und 6/2021 eine relativ große genetische Distanz zu diesem Cluster aufwiesen, muss weiter untersucht werden. Ob es sich eventuell um nicht erkannte Hybriden mit *G. lutea* handelt, kann nur durch die Analyse hochauflösender Markersysteme geklärt werden. Die als Hybriden klassifizierten Pflanzen fanden sich wie erwartet zwischen den *G. lutea* und *G. pannonica*-Blöcken wieder. Die genetische Distanz der Hybriden zu *G. lutea* ist geringer als die zu *G. pannonica*. Bei der Pflanze 8/2021 könnte es sich auch um eine Rückkreuzung einer Hybride mit *G. lutea* handeln.

Auffällig ist, dass nur in direkter Nachbarschaft des Brockengartens die oben aufgeführten Hybriden auftraten. Weiter entfernt von der Anlage hat sich in erster Linie *G. lutea* etabliert (4/2020, 5/2020, 2/2021 und 3/2021). Obwohl *G. lutea* in der freien Natur häufig auf basischen Standorten auftritt, fühlt er sich auf dem Brocken recht wohl. Es liegt die Vermutung nahe, dass sich der im Zuge der Grenzbefestigung eingebrachte Kalkschotter auf die Ausbreitung von basiphilen Arten auf dem Brocken auswirkte. Obwohl insgesamt 120.000 t Rübeleränder Devonkalk aus dem Brockengebiet abtransportiert wurden, ist die Bodenreaktion der ehemals geschotterten Standorte noch schwach basisch bzw. neutral. Weiter entfernt von ehemals geschotterten Wegen und Plätzen liegt der pH-Wert bei ca. 4 im sauren Bereich (KARSTE & SCHUBERT 1997). Die Annahme, dass die Kreuzungen von *G. lutea* und *G. pannonica* besser mit den sauren Standortbedingungen des Berges zurechtkommen, kann nicht bestätigt werden.

Trotz der zu beobachtenden Florenverfälschung kann man sagen, dass von den aus dem Brockengarten stammenden Pflanzenarten keine akute Gefahr für die autochthonen Arten der

Brockenkuppe ausgeht. Nach der Wiederinstandsetzung des Gartens 1990 wurden vorrangig Arten in den Brockengarten gepflanzt, die nicht in Konkurrenz zu den autochthonen Arten der Brockenkuppe treten können. Der Brockengarten, welcher 1890 als Schau- und Versuchsgarten gegründet wurde, entwickelte sich allmählich zum ‚Naturschutzgarten‘. Ab 1990 wurde er zum Promotor für die Renaturierung der Brockenkuppe. Im Ergebnis der Renaturierungsarbeiten wurde das Areal für die bedrohten Pflanzenarten des Brockens wie *Pulsatilla alpina* subsp. *alba*, *Hieracium nigrescens* subsp. *bructerum*, *Carex vaginata* oder auch *Carex bigelowii* subsp. *dacica* deutlich vergrößert. Dadurch wurde der Bestand dieser noch 1990 bedrohten Pflanzenarten weitestgehend gesichert. Vor dem Hintergrund, dass der Brockengarten in den vergangenen 132 Jahren einen entscheidenden Beitrag beim Erhalt der vom Aussterben bedrohten Pflanzenarten des Brockens leistete, überwiegt, trotz der vom ihm in der Vergangenheit ausgehenden Florenverfälschung, der positive Einfluss auf den Naturraum. Eine wesentliche Aufgabe des Gartens wird in Zukunft, neben der Organisation der Biotoppflegemaßnahmen, eine kontinuierliche, wissenschaftliche Erfassung der Vegetationsentwicklung auf dem Brocken sein.

Danksagung

Dem Kustos des Botanischen Gartens München-Nymphenburg, Dr. Andreas Gröger, sei hier herzlich für die Probenentnahme von *Geniana lutea* und *Gentiana pannonica* in den Bayrischen Alpen gedankt.

Wir danken auch dem Praktikanten Franz Just für die Unterstützung bei der Beprobung der ‚Brockenziane‘ und Frau Anika Kunze (JKI) für die Durchführung der molekularen Analysen.

Literatur

- BUDAHN, H.; SCHRADER, O. & PETERKA, H. (2008): Development of a complete set of disomic rape-radish chromosome-addition lines. – *Euphytica* (Dordrecht, u. a.) **162**: 117–128.
- KARSTE, G. (1994): Der Brockengarten. – *Naturschutz Land Sachsen Anhalt* (Halle) **31**: 52–53.
- KARSTE, G. (2014): Die Entwicklung der Vegetation auf dem Brocken innerhalb der ehemaligen Brockenmauer von 1993 bis 2013. – *Mitt. florist. Kart. Sachsen-Anhalt* (Halle) **19**: 11–17.
- KARSTE, G. (2016): Der Brockengarten und sein Einfluss auf die Artenzusammensetzung und Entwicklung der Brockenvegetation. – In: *Nationalparkverwaltung Harz* (Hrsg.): 125 Jahre Brockengarten. – *Schr.-R. Nationalpark Harz* (Wernigerode) **14**: 52–60.
- KARSTE, G. & SCHUBERT, R. (1997): Sukzessionsuntersuchungen zur Renaturierung subalpiner Mattenvegetation auf der Brockenkuppe (Nationalpark Hochharz). – *Arch. Naturschutz Landschaftsforsch.* (Amsterdam) **39**: 103–138.
- VAN DE PEER, Y. & DE WACHTER, R. (1994): TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. – *Comput. Applic. Biosci.* (Oxford) **10**: 569–570.
- POREBSKI, S.; BAILEY, L. G. & BAUM, B. R. (1997): Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. – *Plant Mol. Biol. Repr.* (Berlin u. a.) **15**: 8–15.
- 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.* (Oxford) **18**: 6531–6535.
- WYNEKEN, K. (1938): Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit von Alpenpflanzen an einen neuen Standort. – *Feddes Repert. Beih.* (Berlin) **101 A**: 55–102.

Anschriften der Autoren

Dr. Gunter Karste
Nationalpark Harz, Nationalparkverwaltung
Lindenallee 35
38855 Wernigerode
E-Mail: gunter.karste@npharz.de

Dr. Holger Budahn
Institut für Gartenbauliche Kulturen
Julius-Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI)
Erwin-Baur-Str. 27
06484 Quedlinburg
E-Mail: holger.budahn@julius-kuehn.de