

Das Zwerg-Sonnenröschen (*Fumana procumbens*) im Naturschutzgebiet „Scheid bei Volkmarsen“ – Relikt oder Ansalbung?

Birgit Kanz & Thomas Gregor

Zusammenfassung: Anlass für diese molekular-genetische Studie war der Verdacht, dass die seit 1986 bekannten und seitdem stark expandierten Populationen des Zwerg-Sonnenröschens (*Fumana procumbens*) im Naturschutzgebiet „Scheid bei Volkmarsen“ in Nordhessen angesalbt wurden. Die Art war zuvor aus Nordhessen nicht gemeldet; lediglich in Südhessen waren isolierte Vorkommen auf kalkreichen Sanddünen bekannt. Eine Split-Netzwerk-Analyse basierend auf AFLP-Profilen von 69 Individuen an acht Lokalitäten konnte aufdecken, dass sich die südhessischen und französischen Populationen im Netzwerk jeweils klar als eigene Gruppen abgrenzen, während sich die nordhessischen Individuen mit den thüringischen, sachsen-anhaltinischen und gotländischen Aufsammlungen mischen. Die Frage nach der Ansalbung der Bestände lässt sich durch die Studie nicht beantworten. Wurde angesalbt, dann stammte das Ausgangsmaterial höchstwahrscheinlich aus den östlich sich anschließenden Populationen.

The sprawling needle sunrose (*Fumana procumbens*) in the “Scheid bei Volkmarsen” nature conservation area in northern Hesse – relict or recent introduction?

Summary: In 1986, a few individuals of *Fumana procumbens* were reported from an area of calcareous grassland near Volkmarsen (Hesse, Germany). The species was previously unknown in northern Hesse; an isolated range exists in calcareous sand dunes in southern Hesse. The Volkmarsen population has since expanded strongly, and now consists of about 2000 individuals. The current study tested the hypothesis that this expanded population is a recent introduction rather than indigenous. A split network analysis based on AFLP profiles of 69 individuals sampled in eight locations showed that individuals from southern Hesse and France are clearly genetically distinct from each other and from other populations. Individuals from northern Hesse appear to be mixed with individuals from Thuringia, Saxony-Anhalt, and Gotland (Sweden). It remains equivocal as to whether or not individuals from northern Hesse are derived from a recent introduction. However, if this is the case, the introduced individuals most probably originated from neighbouring populations to the east.

Birgit Kanz & Thomas Gregor, Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum Frankfurt, Abteilung Botanik & Molekulare Evolutionsforschung, Senckenberganlage 25, 60325 Frankfurt am Main; birgit.kanz@senckenberg.de, thomas.gregor@senckenberg.de

1. Einleitung

Im Jahr 2006 wurde von einer Arbeitsgruppe der Botanischen Vereinigung für Naturschutz in Hessen (BVNH) ein Artenhilfsprogramm für das Zwerg-Sonnenröschen (*Fumana procumbens*, Abb. 1) durchgeführt (Hodvina & Cezanne 2007). Diese überwiegend im Mittelmeergebiet beheimatete Art besitzt in Deutschland wenige Vorkommen, überwiegend auf basenreichen Sanden oder Kalk-Felsen. In Hessen sind 43 Populationen an acht Lokalitäten auf Flug-Sanden in Südhessen bekannt, dazu seit 1986 ein Vorkommen in Nordhessen im Naturschutzgebiet „Scheid bei Volkmarsen“ auf schafbeweidetem Halbtrockenrasen (Gentiano-Koelerietum, Abb. 2).



Abb. 1: *Fumana procumbens* bei Volkmarsen; 10. Juni 2007, Winfried Becker. – *Fumana procumbens* near Volkmarsen (Hesse, county Waldeck-Frankenberg).

1986 wurden dort erstmals drei Pflanzen nachgewiesen (Becker 1988), 1992 bestand das Vorkommen bereits aus mehr als 50 Pflanzen (Becker & al. 1997), 2003 wurde es auf mehrere hundert Pflanzen geschätzt und 2007 wurden mindestens 2965 Pflanzen gezählt, was die Gesamtzahl der in Südhessen bekannten Pflanzen von 2699 übertrifft (Hodvina & Cezanne 2007, Abb. 3). Allerdings war die Intensität der Zählungen nicht einheitlich. Ein 1964 entdecktes, sehr individuenarmes Vorkommen bei Höxter-Ottbergen (Nordrhein-Westfalen) markiert die nordwestliche Verbreitungsgrenze der Pflanze (Beinlich & Grawe 2012, Häcker 2005, Uwe Raabe Mitteilung). Weiter nördlich liegen nur noch einige Vorkommen in Sachsen-Anhalt und Thüringen sowie auf den baltischen Inseln Öland und Gotland. Die baltischen Vorkommen gelten als postglaziale Reliktvorkommen einer vormals ausgedehnteren Verbreitung in Zentral- und Nordeuropa (Bengtsson 1993).



Abb. 2: Lebensraum von *Fumana procumbens* bei Volkmarsen; 19. September 2006, Winfried Becker. – Habitat of *Fumana procumbens* near Volkmarsen (Hesse, county Waldeck-Frankenberg).

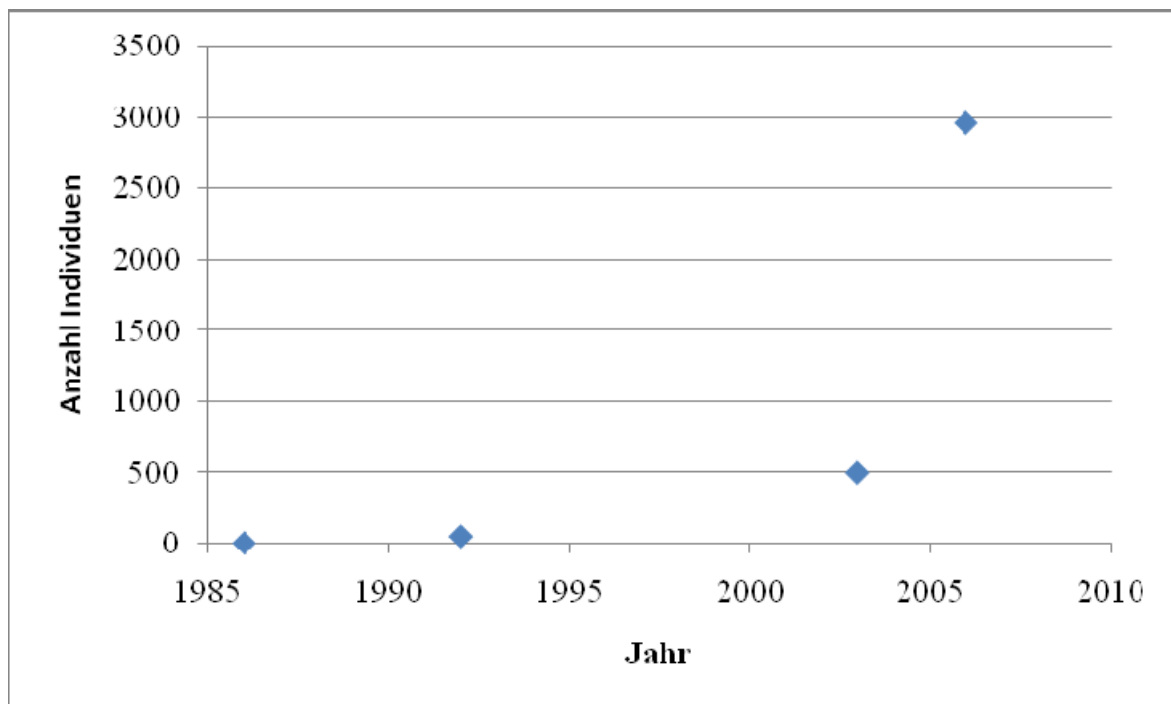


Abb. 3: Entwicklung der *Fumana-procumbens*-Population bei Volkmarsen (nach Hodvina & Cezanne 2007). – Development of the *Fumana procumbens* population near Volkmarsen (from Hodvina & Cezanne 2007).

Vor allem aufgrund des starken Anstiegs der Volkmarser Population in einem Gebiet, das weder standörtlich herausragend noch durch Vorkommen anderer thermophiler Arten bekannt ist, bestand der Verdacht, dass die Pflanze hier angesalbt wurde. Um diese Frage zu klären, wurden molekulare-genetische Methoden angewandt. Mittels einer sogenannten Fingerprint-Methode, einer nicht nur technisch einfachen, sondern mittlerweile auch recht preisgünstigen Methode, lassen sich genetische Verwandtschaften aussagekräftig darstellen. Fingerprints von Vertretern der nordhessischen Population wurden mit denen von Populationen auf Gotland (Schweden), aus Sachsen-Anhalt, Thüringen, Südhessen und Frankreich verglichen. Als Fingerprint-Methode fand die AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)-Methode Anwendung.

2. Molekulare Analyse und Auswertungsmethode

2.1. Material

Pflanzenmaterial von 83 *Fumana-procumbens*-Individuen wurde an acht Lokalitäten gesammelt (Tab. 1, Abb. 4). Pro Lokalität wurden 6–11 Individuen gesammelt. Das Material wurde in mit Silicagel gefüllten, verschließbaren Plastiktütchen getrocknet, um durch rasches Trocknen eine hohe DNS-Qualität zu gewährleisten – eine wichtige Voraussetzung für reproduzierbare AFLP-Analysen.



Abb. 4: Geographische Lage der Sammelorte. – Locations of the collection sites.

Tab. 1: In der Studie eingesetztes Pflanzenmaterial von *Fumana procumbens*. – Plant material of *Fumana procumbens* used in the study.

Name	Individuen	Lokalität	Breite	Länge	Sammler
V1-V3 V4-V6 V7-V9	10	Deutschland, Hessen, NSG Scheid bei Volkmarshen; Kalkmagerrasen	51,39656 51,39215 51,39926	09,13815 09,13255 09,12768	W. Becker
T1-T9	10	Deutschland, Thüringen, Kyffhäuser, SO Steinhaleben; Trockenrasen	51,38606	11,03734	H. Korsch
SA1-SA11	11	Deutschland, Sachsen-Anhalt, Saalekreis, Vitzener Hang; Trockenrasen	51,29975	11,57768	H. Hoppe
S01-S11	11	Deutschland, Hessen, Seeheim; Sandrasen	49,75843	08,64021	K. Böger
S1a-S1b	4	Deutschland, Hessen, Darmstadt-Dieburg, Seeheim-Jugenheim, Seeheim;	49,77258	08,62606	S. Hodvina
S2a-S2b	4	Deutschland, Hessen, Darmstadt-Dieburg, Pfungstadt, Pfungstadt	49,78815	08,62110	
G1-G9, G11	11	Schweden, Gotland, Gotlands län, Hejdeby hällar, circa 4 km östlich von Visby; Alvar-Gebiet	57,63777	18,37910	K. Bengtsson
G10	1	Schweden, Gotland, Gotlands län, Hejdeby hällar, circa 4 km östlich von Visby; Alvar-Gebiet	57,63867	18,37974	
F1-F9	9	Frankreich, Rhône-Alpes, Ain, zwischen Saint-Maurice-de-Gourdans und Loyette; Trockenrasen	45,80803	05,21489	T. Gregor
E1-E11	11	Frankreich, Elsass, Haut-Rhin, Westhalten; Trockenrasen	47,95450	07,26419	T. Gregor
Summe	83				

2.2. DNS-Isolierung

Die genomische DNS wurde nach dem Standard-Protokoll des Grunelius-Möllgard-Labors am Forschungsinstitut Senckenberg in enger Anlehnung an Doyle & Doyle (1987, 1990) und Doyle & Dickson (1987) isoliert, wobei aufgrund des hohen Gehalts an Polysacchariden zusätzliche Reinigungsschritte durchgeführt werden mussten. Es wurde in den meisten Fällen circa 8 mg getrocknetes Blattmaterial für die DNS-Isolierung eingesetzt. Vom vorjährigen französischen Blattmaterial kam entsprechend der Annahme, dass ältere Blätter weniger DNS enthalten als jüngere, soweit vorhanden eine größere Menge (maximal 20,4 mg) zum Einsatz. Thüringisches Material war generell sehr knapp, weshalb zum Teil nur extrem wenig (circa 4 mg) eingesetzt werden konnte.

2.3. AFLP-Analyse

Bei der AFLP-Analyse (Vos & al. 1995) handelt es sich um einen mehrstufigen chemischen Prozess, der aus der Gesamtheit der Erbsubstanz (genomische DNS) individuelle Muster erzeugt. Zunächst wird die DNS durch sogenannte Restriktionsenzyme in Frag-

mente unterschiedlicher Länge zerschnitten. Ein selektiv ausgewählter Anteil von diesen wird mittels einer Vervielfältigungsmethode (Polymerase-Ketten-Reaktion, PCR) milliardenfach vermehrt und die Fragmentlängen elektrophoretisch bestimmt. Hierfür wurde ein DNS-Sequenzierer verwendet, der auch Fragmente trennen kann, deren Länge sich nur um ein Nukleotid unterscheidet. Bei der anschließenden Analyse wird davon ausgegangen, dass gleich lange Fragmente homolog sind. Für die Individuen und die Fragmente wird eine 0/1-Matrix erstellt, wobei 0 bedeutet, dass ein Fragment bestimmter Länge nicht vorhanden und 1, dass ein Fragment bestimmter Länge vorhanden war. Die 0/1-Matrix lässt sich durch statistische Verfahren analysieren, die genetische Ähnlichkeiten in Baum- oder Netzwerk-Strukturen darstellen (zur detaillierten Erläuterung einer AFLP-Analyse siehe Box 1 im Anhang).

Die AFLP-Analyse wurde an 78 erfolgreich isolierten DNS-Proben durchgeführt. Die DNS-Isolierung der Proben S2b, E10 und E11 misslang und die von S02 und S03 ergab keine ausreichende Menge an DNS. Sie waren deshalb von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die resultierenden AFLP-(Fingerprint)-Muster wurden mit Hilfe des Softwareprogramms GeneMarker® Version 1.90 (SoftGenetics, State College, CA, USA) unter Einhaltung der vom Hersteller für die AFLP-Analyse empfohlenen Auswertungseinstellungen visualisiert und nach manueller Nachbearbeitung in Form der 0/1-Matrix als Ergebnis ausgegeben.

2.4. Datenanalyse

Mit Hilfe des Programms SplitsTree4 V4.11.3 (Huson & Bryant 2006) wurde ein Split-Netzwerk der untersuchten Individuen generiert (ausführlichere Erläuterungen sind in Box 2 im Anhang zu finden). Netzwerke werden standardmäßig in der Populationsbiologie eingesetzt, um Beziehungsstrukturen zwischen Individuen zu visualisieren. Individuen mit ähnlichen AFLP-Mustern liegen im Netzwerk nahe beieinander. Je weiter die individuellen AFLP-Muster voneinander abweichen, desto weiter sind die Individuen im Netzwerk voneinander entfernt angeordnet.

3. Ergebnisse

3.1. AFLP-Analyse

Die AFLP-Analyse von 78 *Fumana-procumbens*-Individuen erbrachte mit 3 Primerkombinationen die Gesamtanzahl von 192 Fragmenten. Die Berechnung der Fehlerrate ergab ein Ergebnis von 4,5 %. Durch Herausnahme besonders fehlerträchtiger Individuen und Fragmente konnte sie auf 2,8% herabgesetzt werden. Im ersten wie im zweiten Fall lag die Fehlerrate unter 5% und damit in dem nach Bonin & al. (2007) akzeptablen Rahmen. Die endgültige 0/1-Matrix setzte sich somit aus 69 Individuen und 176 Fragmenten (Tab. 2) zusammen. Die Fragmentzahlen pro Primerkombination lagen zwischen 40 und 68. Von den Fragmenten waren 24 konstant, das heißt ohne Ausnahme bei allen Individuen vorhanden, und 152 (= 86,4 %) polymorph. Unter den polymorphen Fragmenten befanden sich 15 Fragmente (= 8,5 %), die nur innerhalb einer Population (private Fragmente)

und 8 Fragmente (= 4,5 %), die bei allen Individuen einer Population (fixierte private Fragmente) vorkamen. Auffällig war dabei, dass diese ausschließlich innerhalb der elsässischen Population (4 fixierte private Fragmente), derjenigen bei Lyon (3 private Fragmente) und insbesondere der südhessischen Populationen (4 fixierte private und 12 private Fragmente) auftraten.

Tab. 2: In dieser Studie eingesetzte Primer-Kombinationen. – Primer combinations used in the study.

Primer-Kombinationen	Gesamtanzahl Fragmente	Anzahl polymorpher Fragmente	Anzahl privater Fragmente	Anzahl fixierter privater Fragmente
<i>HindIII</i> –ACA + <i>MseI</i> –CTA	40	38	6	4
<i>HindIII</i> –AAC + <i>MseI</i> –CTG	68	59	7	1
<i>HindIII</i> –AGC + <i>MseI</i> –CTA	68	55	2	3
Total	176	152 (= 86,4 %)	15 (= 8,5 %)	8 (= 4,5 %)

3.2. Split-Netzwerk

Das resultierende Netzwerk (Abb. 5A) lässt sich zunächst in 4 Gruppen unterteilen: Rechts gruppieren sich die Individuen der südhessischen Populationen (1), mittig die französischen Populationen bei Lyon (2) und aus dem Elsass (3), und auf der linken Seite des Netzwerks befinden sich die nordhessischen, thüringischen, sachsen-anhaltinischen und schwedischen Individuen (4). Eine Vergrößerung dieses Teils des Netzwerkes (Abb. 5B) zeigt, dass sich zwar die schwedische Population noch als eine Untergruppe abtrennen ließe, dass die nordhessischen Individuen jedoch unauflösbar mit den thüringischen und sachsen-anhaltinischen Vertretern vermischt sind.

Ob eine Ansalbung in Nordhessen stattgefunden hat oder nicht, kann die Studie nicht beantworten. Das Netzwerk zeigt aber klar eine genetische Verwandtschaftsbeziehung zwischen den nordhessischen Populationen und denen in Thüringen, Sachsen-Anhalt und auf Gotland. Wenn die Art angesalbt wurde, dann stammte das Ursprungsmaterial aus diesen Gebieten und nicht zum Beispiel aus Südhessen.

Das Netzwerk zeigt weiterhin, dass die genetische Variabilität innerhalb der südhessischen Populationen viel größer ist als innerhalb aller anderen Populationen. Auffällig ist auch die große Anzahl an privaten und fixierten privaten Fragmenten in diesen Populationen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass es sich um isolierte Postglazialrelikte eines ehemals größeren Areals in Mitteleuropa handelt. In den nördlich verbreiteten Beständen in Thüringen, Sachsen-Anhalt und Gotland ist stattdessen genetische Verarmung zu bemerken. Diese geringe genetische Variabilität deutet auf Ansiedlung aus einer kleinen Gründerpopulation hin. Das abweichende Verhalten der Individuen T3, T5, V7 und SA5 kann als analysebedingter Fehler betrachtet werden. Von T3 und T5 stand extrem wenig Pflanzenmaterial zur Verfügung (3,6 und 3,7 mg), während bei SA5 und V7 die DNS-Ausbeute nach der Isolierung nur sehr gering war. Diese Analyseergebnisse führten offensichtlich zu Interpretationsfehlern.

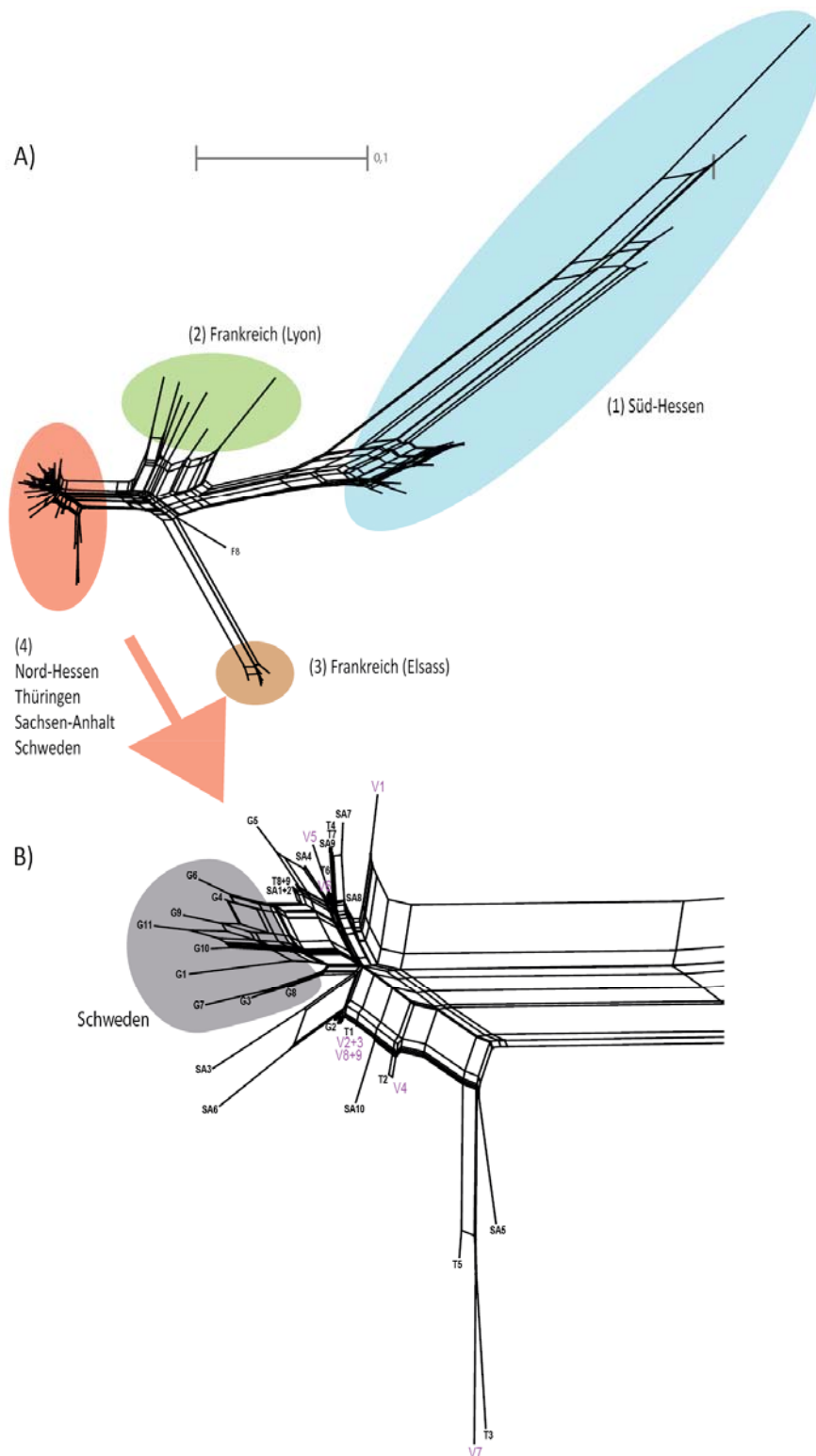


Abb. 5: A) Split-Netzwerk basierend auf AFLP-Profilen von 69 *Fumana-procumbens*-Individuen. Der Längenstandard entspricht 10 % einfacher Distanz der AFLP-Muster. B) Vergrößerter Teilbereich des Split-Netzwerks mit Gruppe 4. Die farblich hervorgehobenen Akzessionsnummern kennzeichnen die Individuen aus dem Naturschutzgebiet „Scheid bei Volkmarsen“. Grau hinterlegt die Individuen von Gotland (Schweden). – A) Split network based on AFLP profiles of 69 individuals of *Fumana procumbens*. The length scale corresponds to 10% of the direct distance of the AFLP pattern. B) Enlarged part of the split network with group 4. Coloured individuals from the “Scheid bei Volkmarsen” nature conservation area. Individuals from Gotland (Sweden) are highlighted in grey.

Dank

Wir danken Winfried Becker (Volkmarsen), Dr. Karin Bengtsson (Gotland), Dr. Karsten Böger (Darmstadt), Sylvain Hodvina (Darmstadt), Heike Hoppe (Halle) und Dr. Heiko Korsch (Jena) für das Sammeln von Pflanzenproben. Winfried Becker stellte auch Fotos zur Verfügung. Das Regierungspräsidium in Kassel erteilte die Erlaubnis, im Naturschutzgebiet „Scheid bei Volkmarsen“ Pflanzenmaterial von *Fumana procumbens* entnehmen zu dürfen.

4. Literatur

- Becker W. 1988: Erster Nachweis des Nadelröschens, *Fumana procumbens*, im nördlichen Hessen. – Bot. Natursch. Hessen **2**, 49–51, Frankfurt am Main.
- Becker W., A. Frede & W. Lehmann, unter Mitarbeit von W. Eger, R. Kubosch, V. Lucan & C. Nieschalk 1997: Pflanzenwelt zwischen Eder und Diemel. Flora des Landkreises Waldeck-Frankenberg mit Verbreitungsatlas. – Natursch. Waldeck-Frankenberg **5**, 1–510, Korbach „1996“.
- Beinlich B. & F. Grawe 2012: „Kalkgeprägte Trockenlebensräume im Kreis Höxter“ – ein LIFE+-Projekt für den Kreis Höxter (NRW). – Beitr. Naturk. Egge Weser **23**, 35–62, Borgenteich.
- Bengtsson K. 1993: *Fumana procumbens* on Öland – population dynamics of a disjunct species at the northern limit of its range. – J. Ecol. **81**, 745–758, Oxford u. a.
- Bonin A., D. Ehrich & S. Manel 2007: Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. – Mol. Ecol. **16**, 3737–3758, Oxford u. a.
- Doyle J. J. & J. L. Doyle 1987: A rapid DNS isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. – Phytochem. Bull. **19**, 11–15, Bronx/NY.
- Doyle J. J. & J. L. Doyle 1990: Isolation of plant DNS from fresh tissue. – Focus **12**, 13–15, Gaithersburg/Md.
- Doyle J. J. & E. E. Dickson 1987: Preservation of plant samples for DNS restriction endonuclease analysis. – Taxon **36**, 715–722, Vienna.
- Häcker S. 2005: Das Naturschutzgebiet „Stockberg“ bei Ottbergen. – Beitr. Naturk. Egge Weser **17**, 85–91, Borgenteich.
- Hodvina S. & R. Cezanne 2007: Das Zwerg-Sonnenröschen (*Fumana procumbens*) in Hessen. – Bot. Natursch. Hessen **19**, 43–67, Frankfurt am Main.
- Huson D. H. & D. Bryant 2006: Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. – Mol. Biol. Evol. **23**(2), 254–267, Oxford.
- Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper & M. Zabeau 1995: AFLP: a new technique for DNS fingerprinting. – Nucleic Acids Res. **23**(21), 4407–4414, Oxford.

5. Glossar

Ansabung: Ansaat oder Anpflanzung gebietsfremder Pflanzen durch den Menschen mit dem Ziel, die Flora zu bereichern.

DNS: Erbsubstanz Desoxyribonukleinsäure.

DNS-Isolierung: Herauslösen (Extraktion) der Erbsubstanz DNS aus den Zellen.

DNS-Sequenzierer: Kapillarelektrophorese-Systeme für die genetische Analyse.

elektrophoretisch/Elektrophorese: Räumliche Auftrennung geladener Moleküle (hier: AFLP-Fragmente) durch das Anlegen eines elektrischen Feldes.

Fehlerrate: Relativer Anteil von fehlerhaften Fragmenten im Verhältnis zur Gesamtzahl der Fragmente.

(genetic oder DNS-) Fingerprinting: Erzeugung eines für jedes Individuum einzigartigen DNS-Musters mit Hilfe molekularer Merkmale, anhand dessen das Individuum unzweifelhaft identifiziert werden kann (genetischer Fingerabdruck).

genetische Variabilität: Unterschiedlichkeit zwischen Individuen aufgrund mutationsbedingter Abweichungen im Erbmateriale.

genomische DNS: Gesamtheit der Erbsubstanz DNS in einer Zelle.

homolog (hier): Identische Abfolge der Nukleotiden.

Nukleotid: Grundbaustein von Nukleinsäuren (DNS, RNA), neben einem Phosphorrest und einem (C5-)Zucker bestehend aus einer der fünf Nukleobasen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin und Uracil.

Polysaccharide: Kohlenhydrate, wie zum Beispiel Stärke, Pektine, Callose und Cellulose. Sie erschweren durch ihre kleberartige, schleimige Konsistenz die Laborarbeit und blockieren während der DNS-Vervielfältigung (Amplifizierung) die Enzym-Aktivität.

Polymerase-Kettenreaktion (PCR): Methode, um die Erbsubstanz DNS in vitro (im Reagenzglas) zu vervielfältigen.

polymorph (hier): Ein Merkmal (Fragment) ist nur bei einer Gruppe von Individuen vorhanden und nicht bei allen (Gegenteil: monomorph oder konstant).

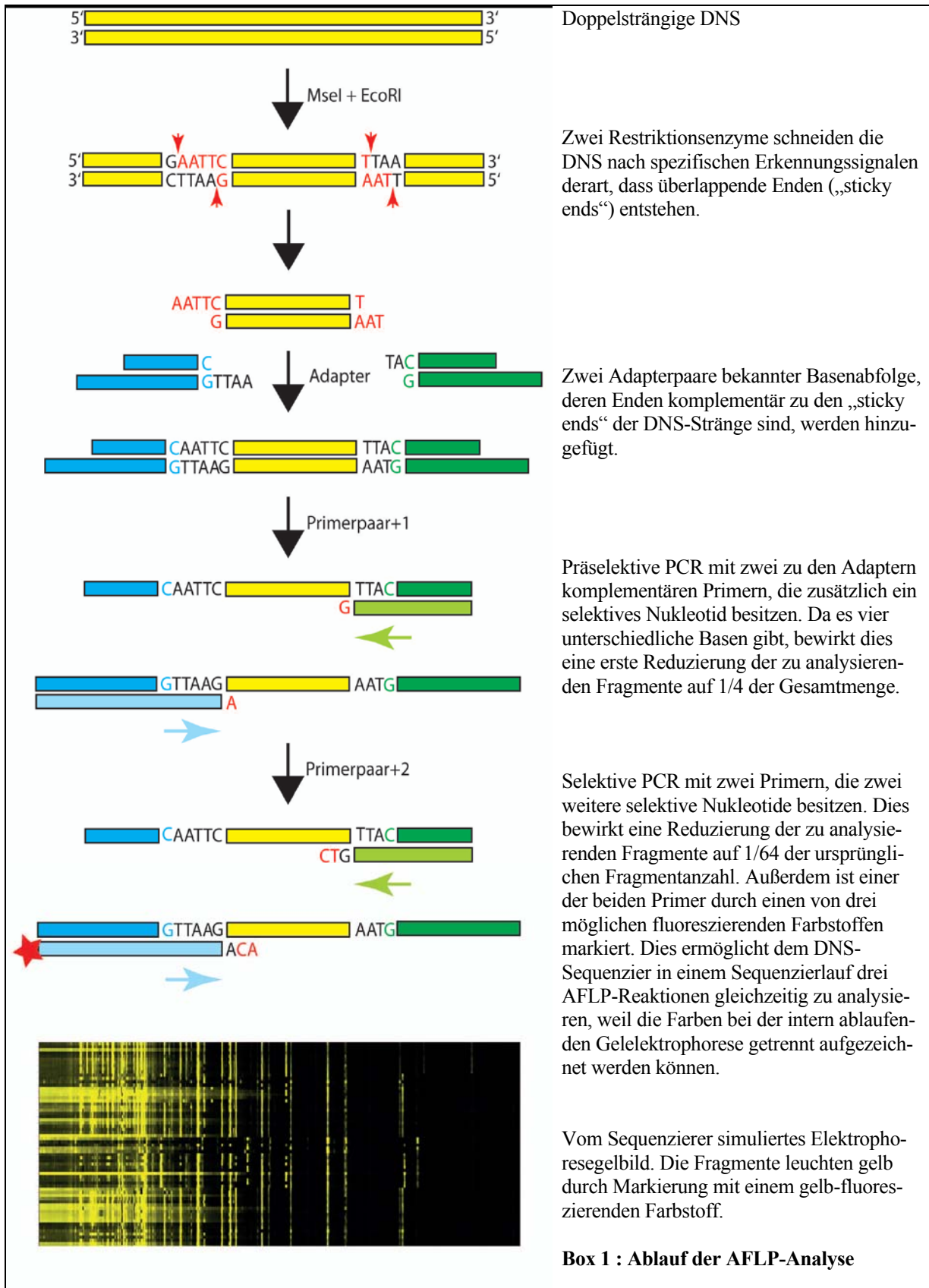
Postglazialrelikt: Relikt aus der nacheiszeitlichen Wärmezeit.

Restriktionsenzyme: Kurze Enzyme (Proteine), die DNS an bestimmten Positionen erkennen und spezifisch schneiden können.

Primer: Kurzes DNS-Stück aus 18 bis 30 Basenpaaren, das als Starthilfe beim Kopieren/Vervielfältigen eines bestimmten DNS-Abschnittes fungiert.

Silicagel (Kieselgel): stark wasseranziehendes (hygroskopisches) Trockenmittel aus Siliziumdioxid.

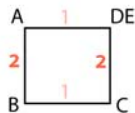
Anhang



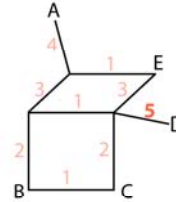
Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0



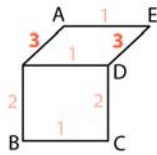
Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0
2	0	1	1	0	0



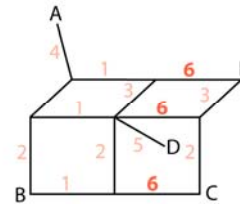
Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0
2	0	1	1	0	0
3	1	0	0	0	1
4	1	0	0	0	0
5	0	0	0	1	0



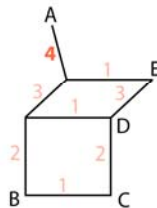
Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0
2	0	1	1	0	0
3	1	0	0	0	1



Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0
2	0	1	1	0	0
3	1	0	0	0	1
4	1	0	0	0	0
5	0	0	0	1	0
6	0	0	1	0	1



Split	A	B	C	D	E
1	1	1	0	0	0
2	0	1	1	0	0
3	1	0	0	0	1
4	1	0	0	0	0



Box 2: Split-Netzwerk. Die schematischen Abbildungen mit den jeweiligen 0/1-Matrizen sollen schrittweise den Aufbau eines Split-Netzwerk erklären. Ein Split ist ein Merkmal, das die Individuen der zu untersuchenden Gruppe in zwei Teilgruppen unterteilt: In einer der Teilgruppen ist das Merkmal vorhanden, in der anderen nicht. In der ersten Abbildung teilt Split 1 die fünf Individuen A, B, C, D, E in die zwei Gruppen AB und CDE auf. Ein gemeinsames Merkmal von B und C (Split 2) trennt die beiden von A, D und E. Der dritte Split, ein gemeinsames Merkmal von A und E, setzt diese von B, C, und D ab. Ein alleiniges Merkmal von A (Split 4) trennt es durch einen weiteren Ast von allen übrigen Individuen. Dasselbe passiert D durch Split 5. Split 6 verursacht eine Erweiterung des Abstands zwischen den beiden Gruppen C, E und A, B und D. Die Zunahme der Merkmalsanzahl führt zu immer komplexeren Netzwerk-Strukturen.