

Resilienz aquatischer Ökosysteme – Vitalitätsabschätzungen von Diasporenbanken

Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock



vorgelegt von

Anja Holzhausen, geb. am 10. November 1989 in Potsdam

aus Rostock

Rostock, 22.04.2016

Gutachter:

1. Gutachter:
Prof. Dr. Hendrik Schubert
Institut für Ökologie, Universität Rostock
2. Gutachter:
Dr. rer. nat. habil. Lothar Krienitz
Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Stechlin

Datum der Einreichung: 22.04.2016

Datum der Verteidigung: 04.11.2016

Inhaltsverzeichnis

II	Abbildungsverzeichnis	I
III	Tabellenverzeichnis	IV
1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	9
2.1	Oosporenmorphometrie	9
2.1.1	Kultivierung von Characeen	9
2.1.2	Aufnahme und Vermessung morphologischer Pflanzenmerkmale	10
2.1.3	Aufnahme und Vermessung morphologischer Oosporenmerkmale	11
2.2	Dormanz & Keimung von Oosporen	14
2.2.1	Dormanzbrechung	14
2.2.2	Keimungsverhalten in Abhängigkeit der Lichtintensität	16
2.3	Vitalität von Diasporenbanken	19
2.3.1	Erprobung des Vitalitätsnachweises von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)	19
2.3.2	Erprobung des Vitalitätsnachweises über den Masseverlust von Oosporen	21
3	Oosporenuntersuchungen	22
3.1	Oosporenmorphometrie	22
3.1.1	Motivation	22
3.1.2	Ergebnisse	28
3.1.2.1	Identifikation gattungsspezifischer Oosporenmerkmale innerhalb der <i>Characeae</i>	28
3.1.2.2	Identifikation artspezifischer Oosporenmerkmale innerhalb des diplostichen <i>Chara</i> – Artenclusters	32
3.1.2.3	Identifikation artspezifischer Oosporenmerkmale der parthenogenetisch und sexuell vermehrenden haplostichen Art <i>Chara canescens</i>	35
3.1.3	Diskussion	40

3.2 Dormanz & Keimung von Oosporen	55
3.2.1 Motivation	55
3.2.2 Ergebnisse	60
3.2.2.1 Dорманзbrechung	60
3.2.2.2 Keimungsverhalten in Abhängigkeit der Lichtintensität	63
3.2.3 Diskussion	69
3.3 Vitalität von Diasporenbanken	80
3.3.1 Motivation	80
3.3.2 Ergebnisse	82
3.3.2.1 Erprobung des Vitalitätsnachweises von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)	82
3.3.2.2 Erprobung des Vitalitätsnachweises über den Masseverlust von Oosporen	85
3.3.3 Diskussion	93
4 Gesamtzusammenfassung	97
5 Literaturverzeichnis	98
6 Anhang	118

I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wasserverteilung der Erde. (Darstellung nach Igor A. Shiklomanov 1993). _____	1
Abbildung 2: Darstellung des Wirkungsgefüges aquatischer Systeme, die auf Grund ihres Zusammenspiels zu alternativ stabilen Zuständen führen können (nach Scheffer 2001). _____	6
Abbildung 3: <i>Chara tomentosa</i> L. 1753 - morphologische Pflanzenmerkmale _____	11
Abbildung 4: Versuchsschema zur Brechung der primären Dormanz (I) und anschließendem Keimungsprozess (II)._____	14
Abbildung 5: Keimungsanlage. Reproduktionsfähigkeit in Abhängigkeit der Lichtintensität.._____	18
Abbildung 6: Zusammenfassende Übersicht der getesteten <i>Chara</i> Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid. _____	20
Abbildung 7: Zusammenfassender Vergleich der untersuchten Gattungen <i>Chara</i> , <i>Tolypella</i> , <i>Lamprothamnium</i> und <i>Lychnothamnus</i> . _____	29
Abbildung 8: Darstellung der Verteilung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen und –breiten (μm ; Größenklassen) der untersuchten Arten <i>Chara tomentosa</i> (n=40), <i>Lamprothamnium papulosum</i> (n=40), <i>Lychnothamnus barbatus</i> (n=40) und <i>Tolypella nidifica</i> (n=40). _____	30
Abbildung 9: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Arten <i>Chara tomentosa</i> , <i>Lamprothamnium papulosum</i> , <i>Lychnothamnus barbatus</i> und <i>Tolypella nidifica</i> . _____	31
Abbildung 10: Darstellung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen von <i>Chara hispida</i> – Populationen._____	32

Abbildung 11: graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Arten <i>Chara baltica</i> , <i>Chara liljebladii</i> , <i>Chara papillosa</i> , <i>Chara hispida</i> , <i>Chara vulgaris</i> , <i>Chara tomentosa</i> und <i>Chara contraria</i> . _____	34
Abbildung 12: Darstellung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen (1) und –breiten (2) der bisexuell und parthenogenetisch vermehrenden Populationen <i>Chara canescens</i> . _____	38
Abbildung 13: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der bisexuell und parthenogenetisch vermehrenden <i>Chara canescens</i> Populationen._____	39
Abbildung 14: Korrelation der Oosporenlängen und –breiten der <i>Chara canescens</i> Populationen._____	46
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Dormanzinduzierung in Abhängigkeit des Zeitpunktes der Auslösung (verändert nach Hilhorst & Karsson 1982). _____	57
Abbildung 16: Keimungspotential in Abhängigkeit der Lichtintensität (standortunabhängig). _____	66
Abbildung 17: Anzahl an <i>Chara contraria</i> -Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. _____	67
Abbildung 18: Anzahl an <i>Chara globularis</i> -Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. _____	68
Abbildung 19: Anzahl an <i>Nitellopsis obtusa</i> -Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. _____	69
Abbildung 20: schematische Darstellung des hypothetisch physiologischen Dormanzmodells nach Hilhorst (1993) und Vleeshouwers et al. (1995). _____	70

- Abbildung 21: Darstellung der Reaktion von 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (oxidierte Form) in die reduzierte Form (Formazan) über die Bildung der instabilen Zwischenstufe des Tetrazolium – Radikals (erstellt mit ChemSketch). _____ 81
- Abbildung 22: Vergleichende Darstellung der relativen Häufigkeiten der Vitalitätsuntersuchung mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid in Abhängigkeit der Konzentration (0,5%, 1% und 2%) der untersuchten Arten: (1) *Chara contraria*, (2) *Chara globularis*, (3) *Chara canescens*, (4) *Chara vulgaris*. ____ 83
- Abbildung 23: Darstellung der unterschiedenen Kategorien: 1-4 eindeutige Rotfärbung, 5-8 teilweise Rotfärbung und 9 keine Färbung der untersuchten Arten *Chara contraria* (1,5); *Chara globularis* (2,6,9), *Chara canescens* (3,7) und *Chara vulgaris* (4,8). _____ 84
- Abbildung 24: Darstellung des Gesamtverlaufes der Massenänderung (Massenverlust, %) von Oosporen der Art *Chara canescens* in Abhängigkeit der Zeit. _____ 86
- Abbildung 25: Einzelbetrachtung der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara canescens* nach Verdunstung des äußerlich anhaftenden Wassers. _____ 86
- Abbildung 26: Darstellung des Gesamtverlaufes der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara hispida* über die Zeit. _____ 89
- Abbildung 27: Einzelbetrachtung der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara hispida* nach Verdunstung des äußerlich anhaftenden Wassers. _____ 90

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Chemische Zusammensetzung des verwendeten Mineralmediums zur Kultivierung diverser Characeen.	9
Tabelle 2:	Übersicht der verwendeten Messgeräte zur Aufnahme standortspezifischer abiotischer Parameter.	10
Tabelle 3:	Zusammenfassung der im Rahmen der Oosporenmorphologie untersuchten Characeen – Arten sowie der aufgenommenen standortspezifischen chemisch – physikalischen Wasserparameter.	13
Tabelle 4:	Gesamtübersicht der durchgeführten Ansätze zur Identifikation Dornanz brechender Faktoren der Arten <i>Chara baltica</i> , <i>Chara hispida</i> , <i>Chara papillosa</i> , <i>Chara canescens</i> und <i>Lychnothamnus barbatus</i> .	16
Tabelle 5:	Morphometrische Kenngrößen der untersuchten Oberflächengewässer.	19
Tabelle 6:	Zusammenfassung der Nomenklatur der verwendeten Arten nach dem Makroartenkonzept (Wood & Imahori 1965) und Mikroartenkonzept (Wood & Imahori 1965; Krause 1997) sowie der AG Characeen Deutschlands (2016).	27
Tabelle 7:	Zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der untersuchten Arten <i>Chara tomentosa</i> , <i>Lamprothamnium papulosum</i> , <i>Lychnothamnus barbatus</i> und <i>Tolypella nidifica</i> .	29
Tabelle 8:	Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der Hauptkomponentenanalyse (siehe Material & Methoden) der untersuchten Arten <i>Chara tomentosa</i> , <i>Lamprothamnium papulosum</i> , <i>Lychnothamnus barbatus</i> und <i>Tolypella nidifica</i> .	31

Tabelle 9:	zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der untersuchten Arten <i>Chara baltica</i> , <i>Chara liljebladii</i> , <i>Chara papillosa</i> , <i>Chara hispida</i> , <i>Chara vulgaris</i> , <i>Chara tomentosa</i> und <i>Chara contraria</i> . _____	33
Tabelle 10:	Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der Hauptkomponentenanalyse (siehe Material & Methoden) der untersuchten Arten <i>Chara baltica</i> , <i>Chara liljebladii</i> , <i>Chara papillosa</i> , <i>Chara hispida</i> , <i>Chara vulgaris</i> , <i>Chara tomentosa</i> und <i>Chara contraria</i> . _____	35
Tabelle 11:	Zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der parthenogenetisch vermehrenden <i>Chara canescens</i> Populationen sowie der bisexuell vermehrenden Population aus den Lacken des österreichischen Seewinkels (Stinkergraben)._____	37
Tabelle 12:	Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der PCA (siehe Material & Methoden) der untersuchten Populationen <i>Chara canescens</i> . _____	39
Tabelle 13:	Vergleich der Literaturangaben der morphologischen Oosporenmerkmale Länge, Breite und Anzahl der Striae mit den Ergebnissen dieser Studie (2015)._____	41
Tabelle 14:	Übersicht über die standortspezifischen chemisch-physikalischen Wasserparameter pH und Leitfähigkeit (mS/cm) sowie der Massenkonzentrationen (mg/L) der Kationen Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium und der daraus berechneten Ionenverhältnisse: _____	52
Tabelle 15:	Zusammenfassung der Ergebnisse der Keimungsfähigkeit [%] als Repräsentation der Brechung der primären Dormanz. _____	62
Tabelle 16:	Übersicht der Gesamtreproduktion der einzelnen Arten in Abhängigkeit der Lichtintensität von 15-20µmol Photonen s-1 m-2, 30-40µmol Photonen s-1 m-2 und 110-130µmol Photonen s-1 m-2, sowie ausschließlich die Reproduktion aus Oosporen. _____	64

Tabelle 17:	Zusammenfassung der Ergebnisse (%) der Vitalitätsuntersuchung von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid.	83
Tabelle 18:	(exemplarische) Übersicht der Massenverluste (Angaben in µg und %) der vermessenen Oosporen der Art <i>Chara canescens</i> in Abhängigkeit der Zeit (h).	87
Tabelle 19:	Zusammenstellung der Ergebnisse der Masseuntersuchung von Oosporen der Art <i>Chara canescens</i> Loisel. 1810.	88
Tabelle 20:	Zusammenstellung der Ergebnisse der Masseuntersuchung von Oosporen der Art <i>Chara hispida</i> L. 1753.	90
Tabelle 21:	Zusammenstellung der Sedimentanalysen (Stichproben).	92
Tabelle 22:	Gegenüberstellung der prozentualen Anteile vitaler und nicht vitaler Oosporen mittels Nachweis über 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid, Massenänderung sowie Cut-Test.	95
Tabelle 23:	Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden).	118
Tabelle 24:	Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden).	119
Tabelle 25:	Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden).	120

1 Einleitung

Der Schutz der Ressource Wasser ist eines der meistdiskutiertesten Probleme in den vergangenen 2 Jahrzehnten. Zwar ist die Erde zu 71% mit Wasser bedeckt; aber nur 2,6% des Wassers der Erde sind Süßwasservorkommen. Der für den Menschen für z.B. Trinkwassergewinnung nutzbare Anteil des Wassers beträgt sogar nur 0,26% (Abbildung 1; Gleick 1993).

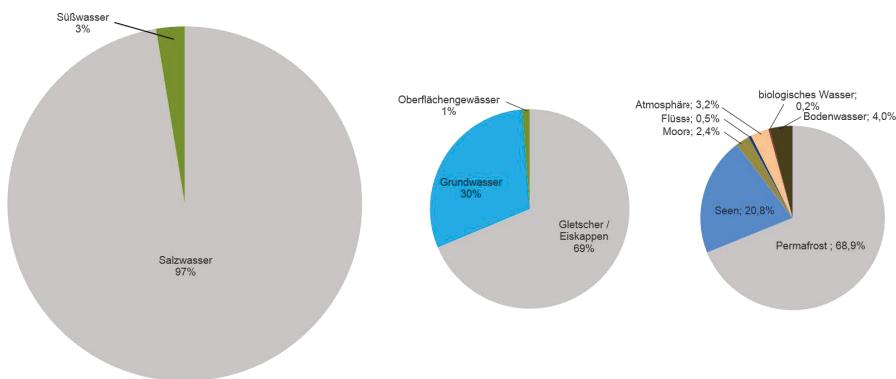


Abbildung 1: Wasserverteilung der Erde. (Darstellung nach Igor A. Shiklomanov 1993).

Wasser ist für den Menschen nicht nur als Trinkwasser von Bedeutung – Gewässer sind Lebensraum für viele Pflanzen- und Tiergesellschaften, sie besitzen einen Erholungswert, ermöglichen Schiffsverkehr, leiten Abfälle ab, sind Energielieferant, Klimaregulatoren und werden für Brauchwassergewinnung genutzt, um nur einige Beispiele zu nennen. Die steigende anthropogene Einflussnahme – sowohl als Folge des Bevölkerungswachstums als auch des Wandels in den Lebensbedingungen – beschleunigte die aus der Nutzung resultierenden Prozesse der Gewässerverschmutzung in einem Ausmaß, dass heutzutage in vielen Fällen nicht mehr all diese Aufgaben parallel erfüllt werden können. Um die Nutzbarkeit der Gewässer zu erhalten bzw. wiederherzustellen, sind in den vergangenen Jahrzehnten Richtlinien zum Ressourcenschutz erlassen worden (im europäischen Raum z.Bsp. EU-WRRL; EU-MSRL). Die EU-WRRL, als die für Binnengewässer relevante Verordnung, beinhaltet als Ziel die Verbesserung der Wasserqualität von Oberflächengewässern sowie den Schutz und das Verschlechterungsverbot aquatischer Ökosysteme; ein sogenannter „guter ökologischer Zustand“ sollte bis 2015 für alle Wasserkörper in der EU erreicht werden. 12 Jahre nach Erlassung der rechtlichen Grundlage wurde jedoch prognostiziert, dass knapp 50% der Gewässer unterhalb eines guten ökologischen Zustandes bis 2015 liegen werden (EUA-Bericht 08/2012). Ein

alarmierendes Ergebnis, welches die notwendige Maßnahmenergreifung zur Verbesserung sowie die Reduzierung anthropogener Einflussnahme in den Vordergrund rücken lässt.

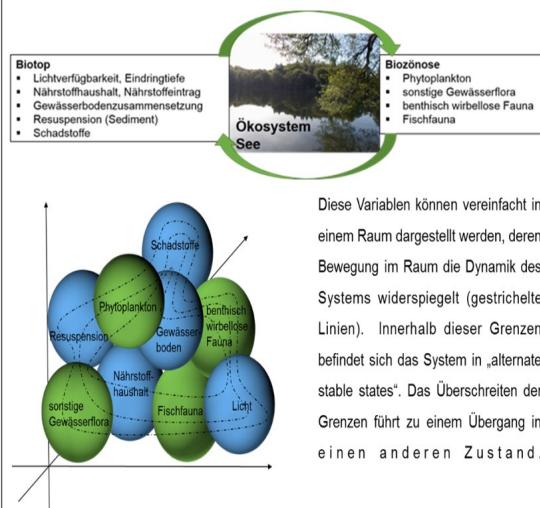
Nach Becker (2016) stellen u.a. Stoffeinträge und Lichtmangel, Habitatzerstörung und Lebensraumvernichtung, Intensivierung der Gewässernutzung, die Freizeit- und fischereiliche Nutzung von Seen sowie die Entwässerung und Grundwasserabsenkung Gefahrenursachen aquatischer Ökosysteme dar. Eine strikte Wichtung dieser Einflussfaktoren ist jedoch nicht möglich – jeder einzelne kann für sich zum Verschwinden von Pflanzen- und Tiergesellschaften führen. Das heißt wiederum, dass für die Erhaltung eines guten Zustandes Maßnahmen erforderlich sind, die den Druck der Einflussfaktoren so regulieren, dass ausreichend Bestände erhalten bleiben, um ihre jeweilige Funktion im Seeökosystem wahrnehmen zu können.

Der Erhalt der Funktion von Ökosystemen ist ebenfalls Bestandteil im theoretischen Modell der Resilienz. An dieser Stelle soll jedoch eine kurze Einleitung in den Ansatz genügen (Box.1). Die Resilienz wurde 1973 von C. S. Holling als Maß der Fähigkeit von Ökosystemen definiert, Änderungen der Zustandsvariablen zu absorbieren und dennoch weiterhin zu bestehen (Holling 1973). Die Erkenntnis, dass es keine ungestörten Ökosysteme gibt und diese durch Interaktionen mit dem Menschen dauerhaft beeinflusst werden sowie eine daraus folgende gesteigerte Erforschung der Mensch-Umwelt-Beziehungen führten Mitte der 90er Jahre zur Bildung der Resilience Alliance, einem Zusammenschluss von Wissenschaftlern und Praktikern, die sich mit der Erforschung der Dynamiken in sozio-ökologischen Systemen beschäftigen und damit einen der aktuell einflussreichsten Resilienz-Ansätze lieferten. In diesem Zuge wurde das „Weiterbestehen“ nach Störungen ebenfalls detaillierter, im Vergleich zur ursprünglichen Definition von Holling, in den Erhalt von Funktion und Struktur und somit deren Identität definiert (Walker et al. 2006).

Resilienz ist die Fähigkeit von Systemen Störungen, die eine Änderung bewirken, zu absorbieren und sich anschließend zu reorganisieren, d.h. Grundstruktur und Funktion des Systems bleiben erhalten (Resilience Alliance).

Ziele: (I) Erhalt von Systemen in einem wünschenswerten Zustand (Nutzbarkeit Dienstleistungen) (II) Verschiebung eines nicht wünschenswerten Zustandes eines (Öko-)Systems in einen wünschenswerten Zustand.

(I) Nicht-lineare dynamische Prozesse innerhalb der Systeme führen häufig zur Verschiebung des Systemzustandes, zu sogenannten „alternate stable states“. Vereinfacht dargestellt ergibt sich ein Zustand aus der Gesamtheit der Variablen, aus denen es besteht und die Dynamik spiegelt die Bewegung im Raum, d.h. der durch die möglichen Kombinationen der Variablen gebildet wird, wider.



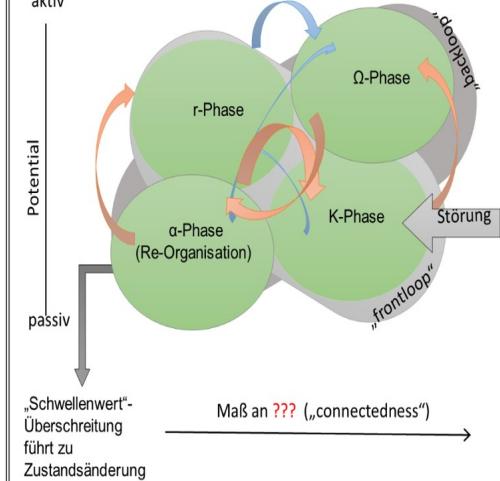
(III) Panarchie, ein konzeptionelles Modell zur Erklärung von Systementwicklung und -dynamik, welches durch die Betrachtung der Interaktionen auf mehreren Dimensionen gleichzeitig die vernetzenden Strukturen den einzelnen adaptiven Zyklen mit einbezieht und in Beziehung zu Strukturen/Prozessen innerhalb einer Ebene setzt (Gunderson & Holling, 2002). Sodass mit Hilfe dieses Modells Hypothesen zur Resilienz, Diskontinuität, komplexen Strukturprozessen sowie Ursachen für Zustandsverschiebungen von Systemen überprüft werden können (Allen et al. 2014). Aufgrund des fehlens von Langzeitanalysedaten ist die Verwendung bzw. Anwendbarkeit jedoch häufig limitiert.

Basiskonzepte Resilienz (I) Nichtlinearität - alternate stable states (II) Adaptiver Zyklus (III) Panarchy

(II) Die Ökosystemdynamik folgt vier phasigem **adaptiven Zyklus**:

- (1) **r-Phase** - Entwicklung r-Strategen (hohe Fortpflanzungsrate, schnelles Wachstum & hohe Toleranzbreite)
- (2) **K-Phase** - Entwicklung spezialisierter K-Strategen (Fortpflanzung, Wachstum & Reproduktion langsamer, aber konkurrenzfähiger); Dominanz von K-Strategen \approx Erhaltungsphase (stabil aber anfällig!)
- (3) **Ω -Phase** - Zusammenbruch bestehender Strukturen und vernetzender Beziehungen durch Störungseinfluss (Release)
- (4) **α -Phase** - Nutzung frei werdender Potentiale zur Erneuerung und Entwicklung des Ökosystems (Re-organisation)

\Rightarrow selten kontinuierlicher Ablauf (orangene Pfeile)
 \Rightarrow Rückkehr/Überspringen von Phasen möglich (blaue Pfeile)
 \Rightarrow „frontloop“ (r - K) Wachstum und Stabilitätszunahme; vorhersagbar
 \Rightarrow „backloop“ (Ω - α) Veränderung (Zusammenbruch), Neustrukturierung aktiv



Box 1: Kurzübersicht der im Resilienz-Ansatz enthaltenen Basiskonzepte (nach Gunderson & Holling 2002).

Sowohl auf nationaler als auch auf internationaler Ebene wurden bereits Restaurierungsmaßnahmen durchgeführt, die jedoch auch aufzeigten, dass diese nicht immer zur Zielerreichung führen oder zeitlich verzögert ablaufen. Beispielsweise stellte die Einleitung von Aluminiumsalzen zur Phosphorbindung eine Möglichkeit der Biomanipulation dar. Unter Biomanipulation versteht man nach Shapiro et al. (1975) das Management aquatischer Gemeinschaften mit dem Ziel der Wasserqualitätsverbesserung. Diese Maßnahme wurde u.a. im hypertrophen Süßen See (Sachsen-Anhalt, Deutschland) angewendet, wodurch Phosphat an Aluminiumhydroxid gebunden und in Form schwer löslicher Aluminiumphosphat-Verbindungen im Sediment abgelagert wird. In Kurzzeitbetrachtungen durchaus eine funktionierende Maßnahme, Untersuchungen der Langzeiteffekte nach 15jähriger Einleitung in den Süßen See zeigten jedoch, dass eine Verbesserung der Trophie-Stufe und damit ein Erreichen des ökologisch guten Zustandes nicht erfolgte (Lewandowski et al. 2003). Dies liegt vor allem an der nicht abschätzbareren Phosphorfreisetzung aus dem Sedimentpool und den dazu fehlenden Langzeituntersuchungen begründet (Reitzel et al. 2005; Søndergaard et al. 2005; 2007). Internationaler betrachtet, stellt der Erie-See, einer der fünf größten Seen Nordamerikas, ein zahlreich untersuchtes Objekt dar. Der erhöhte Eintrag von Phosphor in den 1950ern & 60ern ließ den Eutrophierungsgrad ansteigen; nach katastrophalen Veränderungen des Fischbestandes (Zusammenbruch der kommerziellen Fischerei sowie gesetzliches Fischverbot), wurde ab Mitte der 70er Jahre ein „Phosphorsenkungs-Programm“ ins Leben gerufen. Die Reduzierung der Phytoplankton-kontrollierenden Nährstoffe sowie die Erholung des Zander- und Lachsbestandes waren grundlegende Ziele (International Joint Commission 1986; Makarewicz & Bertram 1991). 10 Jahre nach Erlassung der Maßnahmen konnte eine 65%ige Reduzierung der Algenblüte in allen drei Becken des Erie-Sees sowie eine Dominanz mesotroph-indikativen Diatomeen (*Melosira islandica*) im Gegensatz zur vorherigen Dominanz von eutroph-indikativen Diatomeen (*Stephanodiscus binderanus* und *Fragilaria capucina*) festgestellt werden (Makarewicz & Bertram 1991). Doch das Auftauchen invader Arten (*Bythotrephes cederstroemi*, *Oncorhynchus* spp. und *Dreissena polymorpha*) resultierte anschließend erneut in einer starken Cyanobakterienblüte (v.a. *Microcystis*, *Anabaena* und *Aphanizomenon*) (Vanderploeg et al. 2001), die ihren Höhepunkt im Jahr 2011 hatte (Michalak et al. 2013).

Diese Beispiele verdeutlichen, dass trotz eines kurzzeitigen Erfolges der Maßnahmen, sich langfristig gesehen häufig nicht wünschenswerte Zustände einstellten. Hierfür kommen folgende drei Ursachen in Frage: (1) die Bistabilität aquatischer Systeme (Verschiebung innerhalb alternativ stabiler Zustandsgrenzen), (2) die Möglichkeit eines „Attraktor-Wechsels“ (Überschreiten der Zustandsgrenzen und damit Änderung der Systemfunktion)

und (3) eine voranschreitende Gewässersukzession. Letzteres kann im Rahmen dieser Arbeit auf Grund der zeitlich zu betrachtenden Skala nicht untersucht werden. Durch das Auffüllen der Gewässerwanne mit nicht vollständig abgebauter Biomasse sowie Einträgen aus umliegenden terrestrischen Bereichen, ergibt sich ein Verlauf von einem ursprünglichen See über einen Flachsee, Weiher, Sumpf bis hin zu einem Wald oder Moor. Die Bistabilität aquatischer Systeme sowie die Möglichkeit des „Attraktor-Wechsels“ sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

Nach dem Modell der Bistabilität (Moss 1998) können in aquatischen Ökosystemen auf Grund von unterschiedlichen Nährstoffkonzentrationen zwei alternativ stabile Zustände vorhanden sein (Scheffer et al. 1993). Beide dieser Zustände, sowohl der nährstoffarme Makrophyten-dominierende Zustand als auch der nährstoffreiche Phytoplankton-dominierende Zustand, sind auf Grund ablaufender Puffermechanismen als stabil anzusehen. Geringe Nährstoffkonzentrationen fördern in diesem Fall das Wachstum oligotraphenter submerser Pflanzengesellschaften (u.a. das der Characeen), deren Vorteile einerseits im sedimentoberflächennahen Wuchs und damit der Stabilisierung der Wassertransparenz durch Reduzierung des Resuspensionseinflusses liegen (van den Berg et al. 1998; Melzer 1999) und andererseits bieten diese vor allem für herbivores Zooplankton Schutzrefugien, wodurch der Räuberdruck Zooplankton-fressender Fische minimiert und die top-down Kontrolle auf Phytoplankton erhöht wird (Abbildung 2). Auf der anderen Seite führt eine erhöhte Nährstoffkonzentration (bottom-up Kontrolle) zum Verlust oligotraphenter und zum Aufkommen eutraphenter Pflanzengesellschaften (wie *Potamogeton* und *Myriophyllum*) sowie einem vermehrten Phytoplankton-Wachstum, welches wiederum zu einem erhöhten Zooplankton Aufkommen führt. Durch die Erhöhung Zooplankton-fressender Fische erhöht sich jedoch der Räuberdruck auf dieses, wodurch der sogenannte Grazingdruck auf das Phytoplankton verringert wird (Jeppesen et al. 1997; Scheffer 2001). Der erhöhte Fischbestand sowie die Wuchsform eutraphenter Pflanzengesellschaften führen darüber hinaus zu einer Erhöhung des Resuspensionseinflusses auf obere Sedimentschichten, wodurch die innere Phosphor-Freisetzung aus dem Sediment begünstigt wird, die wiederum zu einem erhöhten Phytoplankton-Vorkommen führt. Eine Lichtlimitierung, die sich nachteilig auf das Makrophyten-Wachstum und deren Reproduktion auswirkt, ist die Folge (Blindow 1992; Lehmann & Lachavanne 1999).

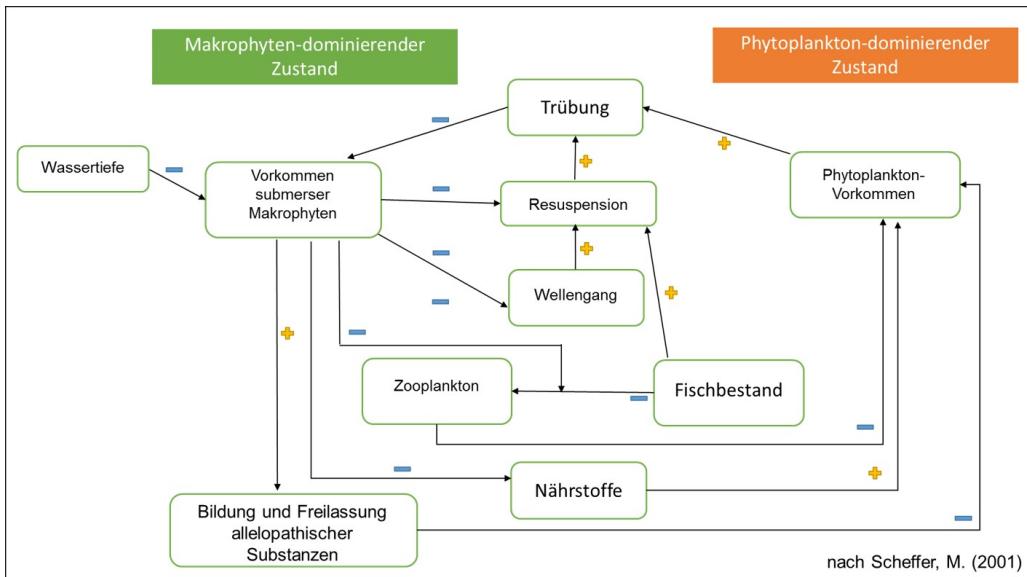


Abbildung 2: Darstellung des Wirkungsgefüges aquatischer Systeme, die auf Grund ihres Zusammenspiels zu alternativ stabilen Zuständen führen können (nach Scheffer 2001).

Die Frage, mit welcher Geschwindigkeit und welchem Verlauf aquatische Ökosysteme reagieren, ist nur in Abhängigkeit dreier Einflussgrößen und damit der „Geschichte des Ökosystems“ zu betrachten. Nach Thomasius & Schmidt (1996) werden diese Einflussgrößen als Richtgröße, Realisierungsgröße und Verlaufsgröße bezeichnet. An ersterer – der Richtgröße – kann jedoch kaum angesetzt werden, da es sich bei dieser um den gesamten Komplex der Umweltfaktoren handelt, der schlussendlich zu einer potentiellen Pflanzengesellschaft führt. Für die weitere Betrachtung bleiben somit nur die Verlaufs- und Realisierungsgröße übrig, wobei erstere im Allgemeinen durch die Ontogenese der ansiedelnden Pflanzengesellschaften und der daraus resultierenden Konkurrenzfähigkeit bestimmt wird, während letztere, die Realisierungsgröße, das Vorhandensein von Diasporen als Grundlage der Ausbildung von Pflanzengesellschaften beinhaltet. Die Ausnutzung vorhandener Diasporenbanken, die sich aus der Gesamtheit generativer als auch vegetativer Reproduktionseinheiten ergibt (Bonis & Grillas 2002), führt im Rahmen von Restaurierungsprozessen sowohl zu einer Erhöhung der Realisierungsgröße als auch zu einer Beschleunigung des Gesamtverlaufes. Nach Thompson & Grime (1979) kann zwischen einer potentiellen und einer ruhenden Diasporenbank unterschieden werden; Abgrenzungsmerkmal ist deren Lebensfähigkeit (potentiell < 1 Jahr; ruhend > Jahr). Vor allem das ruhende Potential aquatischer Ökosysteme kann von Vorteil sein, wenn umweltbedingte Fluktuationen eine jährliche Reproduktion der Pflanzenvegetation vermindern bzw. gänzlich verhindern. Darüber hinaus kann dieses Potential zur Makrophyten-Wieder- und Neubesiedlung nach Störungen ausgenutzt werden.

Diasporenbanken aquatischer Ökosysteme werden zu 80-90% durch Characeen-Arten dominiert (Steinhardt & Selig 2007; 2008), deren Reproduktionseinheiten (generativ) als Oosporen bezeichnet werden. Die vorteilige Vermehrungsstrategie vieler Characeen, die eine Vielzahl von fertilen Oosporen pro Pflanze produzieren können, sichert einerseits das Überleben dieser Arten (Kautsky 1988) und ist andererseits ursächlich für die Oosporendominanz in den Gewässerböden aquatischer Systeme. Dies bedeutet jedoch nicht, dass dieses Potential jederzeit ausgenutzt werden kann, denn ein Nicht-Auskeimen von Diasporen bzw. eine abnehmende Keimungsfähigkeit kann zweierlei Gründe haben: (1) das Vorhandensein (umweltbedingter) nicht optimaler Keimungsbedingungen und (2) das Vorhandensein einer diasporenabhängigen Dormanz, die bis zur Brechung dieser die Möglichkeit der Keimung verwehrt (Thompson & Ooi 2010).

Sowohl die Brechung der artspezifischen Oosporendormanz als auch die Untersuchung keimungsinduzierender Bedingungen stehen einer raschen Reproduktion jedoch häufig im Wege und sollen daher im Rahmen dieser Arbeit näher betrachtet werden. Das Ziel dieser Arbeit, die Abschätzung des Potentials ruhender Diasporenbanken für den Einbezug in Restaurierungsmaßnahmen, kann dementsprechend nur erreicht werden, wenn sowohl morphologische Betrachtungen der Oosporen zur Artidentifizierung (3.1), physiologische Betrachtungen zu Dormanz brechenden und keimungsinduzierenden Faktoren (3.2) sowie Vitalitätsuntersuchungen (Lebensfähigkeit; 3.3) als Grundlage erfolgen.

Hypothesen

Im Rahmen dieser Arbeit sollen sowohl Untersuchungen zur Identifikation Dормanz brechender als auch keimungsinduzierender Bedingungen erfolgen. Darüber hinaus stellen die Bestimmung der Diasporenbankzusammensetzung und deren Vitalität weitere Untersuchungsaspekte dar. Diese stützen sich auf folgende Hypothesen:

- (1) Die Saccharose-Konzentration in Abhängigkeit der Salinität übt einen Einfluss auf die Ausprägung der Oosporenmorphologie aus.
- (2) Die primäre Dормanz von Oosporen kann durch Kälteeinfluss oder Austrocknung gebrochen werden.
- (3) Die Keimungsinduktion von Oosporen ist sowohl von der Lichtverfügbarkeit als auch von der Nährstoffverfügbarkeit abhängig.
- (4) Die Lebensfähigkeit von Oosporen kann über die Aktivität von Dehydrogenasen mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid nachgewiesen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Oosporenmorphometrie

2.1.1 Kultivierung von Characeen

Die Kultivierung der Characeen erfolgte grundsätzlich nach den Vorschriften von Wüstenberg et al. (2011). Die vereinzelten Pflanzen bzw. Pflanzenteile werden hierzu in Plastikvessel gesetzt, die mit einer Schichtung von 20g eines Phosphat-Sand-Gemisches (6g tri-Calciumphosphat/1l Sand; tri-Calciumphosphat reinst. Ph. Eur., AppliChem GmbH, Deutschland) sowie 20g reinem Seesand gefüllt sind. Diese Schichtung des Substrates hat den Vorteil, dass Phosphat ausschließlich über die Rhizoide aufgenommen wird; eine Verwendung im Mineralmedium könnte das Wachstum von unerwünschten Algen, v.a. fädigen Grünalgen, fördern. Die Kultivierung der Characeen erfolgte in zylindrischen Glasbehältern (Rundrand-Glas 60, Weck, Deutschland), die mit Mineralmedium bzw. gefiltertem Habitatwasser (55µm) gefüllt sind. Die chemische Zusammensetzung des verwendeten Mineralmediums kann Tabelle 1 entnommen werden. Je nach Salinität des jeweiligen Standortes wurde dieses im Anschluss mit „Instant Ocean“ Seesalz (Aquarium Systems, Deutschland) aufgesalzen. Die verwendeten Messgeräte zur Aufnahme der jeweiligen abiotischen Parameter sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 1: Chemische Zusammensetzung des verwendeten Mineralmediums zur Kultivierung diverser Characeen (nach Wüstenberg et al. 2011).

	Reagenz	Ansatzkonzentration [g/l] nach Wüstenberg et al. (2011)	Einsatz [ml/l]
Spurenelemente	Manganchlorid Tetrahydrat ($MnCl_2 \times 4 H_2O$)	0,02	
	Zinksulfat Heptahydrat ($ZnSO_4 \times 7 H_2O$)	0,005	
	Kobalsulfat Heptahydrat ($CoSO_4 \times 7 H_2O$)	0,005	5
	Natriummolybdat Dihydrat ($Na_2MoO_4 \times 2 H_2O$)	0,005	
	Kupfersulfat Pentahydrat ($CuSO_4 \times 5 H_2O$)	0,0005	
Eisenzusatz	Eisenchlorid Hexahydrat ($FeCl_3 \times 6 H_2O$)	0,2	5
	Chelaplex III Dihydrat ($Na_2EDTA \times 2 H_2O$)	0,329	
Nitratzusatz	Kaliumnitrat (KNO_3)	60	5
Calciumchlorid-zusatz	Calciumchlorid Dihydrat ($CaCl_2 \times 2H_2O$)	88,218	5

Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Messgeräte zur Aufnahme standortspezifischer abiotischer Parameter.

Parameter	Messgerät
Temperatur [°C]	MultiLine P4 Universal Meter; WTW, Deutschland
pH	Portamess; Knick, Deutschland
Salinität	LF - 320 Conductivity Meter; WTW, Deutschland
Leitfähigkeit [mS/cm]	LF - 320 Conductivity Meter; WTW, Deutschland
Sauerstoffgehalt [mg/l]	LF - 320 Conductivity Meter; WTW, Deutschland

2.1.2 Aufnahme und Vermessung morphologischer Pflanzenmerkmale

Die Aufnahme morphologischer Pflanzenmerkmale erfolgte mittels Binokular (SZX-16, Olympus, Japan). Mit Hilfe des integrierten Standardprogramms „CellSens“ (Olympus, Japan) konnte die Vermessung direkt nach der Bildaufnahme erfolgen. Zu den erfassten morphologischen Merkmalen (Abbildung 3) zählen:

- die Länge des Gesamtthallus und des Rhizoids,
- die Länge des Köpfchens sowie der einzelnen Internodien,
- die Art der Berindung (haplostich, diplostich oder triplostich) sowie die Ausbildung und Breite primärer und sekundärer Rindenzellen (heterostich oder isostich),
- die Länge und Ausprägung der Stacheln, Stipularen, Quirlast – Endzellen und Blättchen.

Die morphologische Bestimmung erfolgte nach dem Schlüssel von Weyer & Schmidt (2011); die Nomenklatur folgt der AG Characeen Deutschlands (2016).

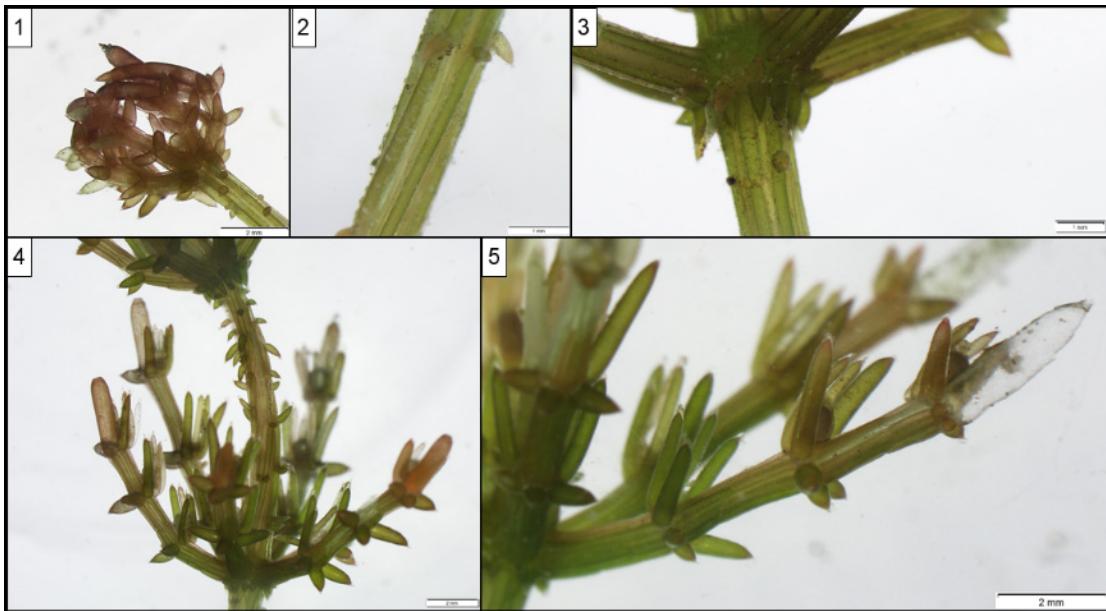


Abbildung 3: *Chara tomentosa* L. 1753 - morphologische Pflanzenmerkmale. (1) Köpfchen, (2) Art der Berindung, (3) Stipularen, (4) Wirtel und Bestachelung der Internodien sowie (5) Gametangien/Oosporen. Die abgebildete Pflanze wurde 2014 am Standort Michaelsdorf gesammelt.

2.1.3 Aufnahme und Vermessung morphologischer Oosporenmerkmale

Nach einer kurzen Kultivierungsphase zur Nachreifung bzw. direkt nach der Probennahme wurden vollständig gereifte Oosporen von den Pflanzen gesammelt. Im Fall äußerer Kalküberzüge wurden diese mit 25%-iger Essigsäure und/oder Ultraschallwellen (SINO Ultrasonic Cleaner Pinpoint. Model: PT-101; 220V/240V; 19W; 40KHz; Auto Timer 3min) entfernt. Diese Vorbehandlung wurde nur im Bedarfsfall zur besseren Erkennbarkeit der morphologischen Merkmale durchgeführt.

Die anschließenden Einzelaufnahmen der Oosporen erfolgten in lateraler, basaler und apikaler Stellung mittels Mikroskop (Olympus-BH2; Olympus Inc., Japan) und Artray-Kamera. Eine auf dem Objektträger fixierte Kleboberfläche ermöglichte das Aufstellen der Oosporen. Die Vermessung der Oosporenmerkmale erfolgte mittels ImageJ, MBF-Collection (MacBiophotonics). Folgende Oosporenmerkmale wurden im Rahmen dieser Studie erfasst:

- Oosporenlänge – und breite,
- Anzahl der Striae sowie deren Winkel zur Längsachse,
- Länge der Fossa, welche dem Abstand zwischen zwei Striae definiert (Soulié-Märsche & Garcia 2015)
- Längen des basalen Fünfeckes.

Die Auswertung der vermessenen morphometrischen Oosporenmerkmale erfolgte über multivariate Analysen mit Hilfe des PRIMER5-Packages (Version 5.0, PRIMER-e Ltd, Großbritannien, Clarke & Warwick 2001).

Die Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Populationen bzw. den Arten erfolgte über einen ANOSIM-Permutationstest. Der dabei ermittelte R-Wert, der zwischen 0 und 1 liegt, gibt an, in wie weit sich die Ähnlichkeit innerhalb der Gruppen von der Ähnlichkeit zwischen den Gruppen unterscheidet. Bei einem R-Wert von 0 sind die Ähnlichkeiten gleich, zwischen 0,5 und 0,75 bestehen Unterschiede zwischen den untersuchten Arten und über 0,75 bestehen signifikante Unterschiede, sodass sich mehr Ähnlichkeiten innerhalb der Gruppen ergeben als zu anderen Gruppen.

Die durchgeführten nicht-metrischen multidimensionalen Skalierungen (MDS, Kruskal & Wish 1978) basieren auf transformierten Daten und einer euklidische Distanzmatrix. Dabei werden die Objekte entsprechend ihrer Ähnlichkeitskoeffizienten räumlich dargestellt. Der sogenannte „Stress“ – Wert spiegelt hierbei die Anpassung der Darstellung an die Datenlage wider.

Hauptkomponentenanalysen (PCA, Kent & Coker 1992) zielen darauf ab, die Korrelationen der Merkmale zur Reduzierung der selbigen zu nutzen, sodass Hauptkomponenten heraus kristallisiert werden, die eine hohe gemeinsame Varianz zwischen den Merkmalen aufweisen und nach sinkendem Varianzanteil gegliedert werden (Eigenvektoren; PC1, PC2 etc.). Die Varianz wird durch den Eigenwert des Faktors (Eigenvalue) angegeben.

Die im Rahmen der morphologischen Untersuchungen verwendeten Arten sowie die aufgenommenen chemisch-physikalischen Wasserparameter sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Zusammenfassung der im Rahmen der Oosporenmorphologie untersuchten Characeen – Arten sowie der aufgenommenen standortspezifischen chemisch – physikalischen Wasserparameter. Die Nomenklatur der Arten folgt der AG Characeen Deutschlands (2016).

Art	Probenstandort	geographische Koordinaten	chemisch-physikalische Wasserparameter			
		Longitude / Latitude	T [°C]	pH	LF Salinität [mS/cm]	
<i>Chara baltica</i>	Hiddenseeblick bei Haide - Deutschland	54°28'35.94"N / 13°08'36.55"E	k.A.	k.A.	9,7*	k.A.
	Grabow / Zudar, Insel Rügen - Deutschland	54°13'46.08"N / 13°22'55.93"E	k.A.	k.A.	7,6*	k.A.
	Barth, Barther Bodden - Deutschland	54°22'16.22"N / 12°45'51.26"E	k.A.	k.A.	6,4*	k.A.
<i>Chara canescens</i>	Stinkergraben - untere Bucht, NSG Neusiedler See - Österreich	47°51'06.07"N / 16°48'44.33"E	15,8	9,65	5,19	8,71
	Weißsee, NSG Neusiedler See - Österreich	47°43'16.13"N / 16°49'26.67"E	18,5	8,63	1,32	2,27
	Stinkergraben - obere Bucht (NSG Neusiedler See - Österreich)	47°42'04.16"N / 16°47'10.16"E	15,7	9,57	4,6	6,96
	Fastensee, Insel Fehmarn - Deutschland	54°30'26.18"N / 11°02'08.74"E	7,9	8,3	15,9	20,12
	Kirchsee, Insel Poel - Deutschland	53°57'31.28"N / 11°26'51.24"E	k.A.	k.A.	13,5**	k.A.
	Angersdorf - Deutschland	51°27'57.09"N / 11°54'19.60"E	12,6	k.A.	7	6,24*10 ⁻²
<i>Chara contraria</i>	Hiddenseeblick bei Haide - Deutschland	54°28'35.94"N / 13°8'36.55"E	k.A.	k.A.	9,7*	k.A.
	Krüselinsee - Deutschland	53°16'14.22"N / 13°25'00.37"E	14,1	8,35	0,17	0,319
	Großer Goitzschsee - Deutschland	51°37'37.90"N / 12°20'47.26"E	6,8	8,03	0,5	k.A.
<i>Chara hispida</i>	Gummanz, Insel Rügen - Deutschland	54°33'33.44"N / 13°34'37.49"E	k.A.	7,26	0	0,171
	ehemaliger Storchenhof - Deutschland	47°45'17.48"N / 9°02'57.06"E	k.A.	7,56	0,32	6,63*10 ⁻⁴
	Mindelsee, NSG Mindelsee (Hinteres Ried) - Deutschland	47°45'28.19"N / 8°01'14.82"E	20,4	8,45	0,21	k.A.
<i>Chara baltica</i> var. <i>liljebladii</i>	Michaelsdorf - Deutschland	54°21'33.73"N / 12°33'09.85"E	8,2	8,81	5,36	k.A.
	Zudar, Außenküste Greifswalder Bodden - Deutschland	54°13'46.08"N / 13°22'55.93"E	k.A.	k.A.	3,8*	k.A.
	Zingst - Deutschland	54°26'26.14"N / 12°41'38.14"E	k.A.	k.A.	7	k.A.
<i>Chara papillosa</i>	Röblingen - Deutschland	51°28'3.84"N / 11°42'7.35"E	21,4	7,6	1,9	3,37
<i>Chara tomentosa</i>	Michaelsdorf, Saaler Bodden - Deutschland	54°21'33.73"N / 12°33'09.85"E	8,2	8,81	5,36	k.A.
<i>Chara vulgaris</i>	Tümpel nahe des Vogelpark Marlows - Deutschland	54°8'41.73"N / 12°34'27.92"E	18,6	8,65	0,31	k.A.
	Borkener See - Deutschland	51°13'39.25"N / 9°15'55.65"E	17,5	8,43	0,41	7,1*10 ⁻⁴
<i>Lamprothamnium papulosum</i>	NSG Donana, nördlich der Straße zur "Proa Sol" - Spanien	36°52'39."N / 6°18'33.8"E	26,8	6,81	84,2	125,4
<i>Lychnothamnus barbatus</i>	Lake Balsys, Vilnius - Litauen	54°47'09.0"N / 25°20'05.4"E	17,3	8,21	0,15	2,84*10 ⁻⁴
	Obersee bei Lanke - Deutschland	52°45'35.85"N / 13°33'23.49"E	14,2	8,11	k.A.	3,18*10 ⁻⁴
<i>Tolypella nidifica</i>	Fastensee, Insel Fehmarn, Deutschland	54°30'26"18"N / 11°02'08.72"E	7,9	8,3	15,9	20,12

2.2 Dormanz & Keimung von Oosporen

2.2.1 Dormanzbrechung

Untersuchungen zur Brechung der primären Dormanz von Oosporen setzen eine direkte Entnahme der Oosporen von der Mutterpflanze voraus (Crocker 1916; Hilhorst 1995; Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Oosporen der Arten *Chara hispida*, *Chara canescens*, *Chara baltica*, *Chara papillosa* sowie *Lychnothamnus barbatus* getestet. Dies erfolgte grundsätzlich in zwei Schritten: (1) die Vorbehandlung der Oosporen zur Brechung der primären Dormanz und (2) der Behandlung zur Induktion des Keimungsprozesses an sich. Wie Abbildung 4 zeigt, wurden die Oosporen durch Temperatur (A) und Austrocknung (C) vorbehandelt. Darüber hinaus wurde zusätzlich der Einfluss der Lagerung in einer mikrobiell aktiven Phase (B) getestet. Diese dient der Simulierung der Aktivität von Bodenorganismen und deren Einfluss auf den Samenzustand der Oosporen während der Lagerung in der Diasporenbank.

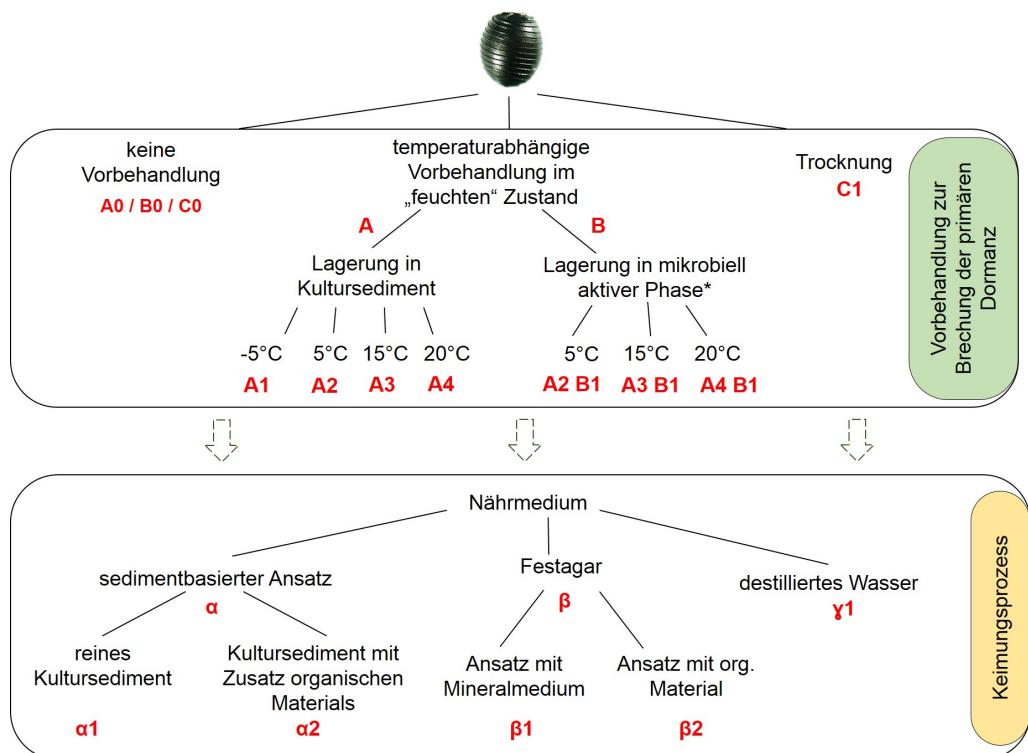


Abbildung 4: Versuchsschema zur Brechung der primären Dormanz (I) und anschließendem Keimungsprozess (II). Die Bezeichnungen der jeweiligen Ansätze (rot) werden ebenfalls in der Gesamtübersicht (Tabelle 4) sowie in der Zusammenfassung der Keimungsfähigkeit verwendet (Tabelle 15). *Lagerung der Oosporen in Habitatmedium mit Zugabe von E.coli und Glukose.

Im Anschluss an die Vorbehandlung der Oosporen erfolgte der Keimungsansatz. Hierbei wurde ausschließlich eine Variation des Nährmediums durchgeführt, um die notwendigen Voraussetzungen zur erfolgreichen Auskeimung der Oosporen zu identifizieren. Grundsätzlich können sedimentbasierte Ansätze (α), Ansätze auf Festagar (β) sowie in destilliertem Wasser (γ) unterschieden werden. Erstere erfolgten in Bechergläsern (DURAN Becherglas 600ml ISO 3819 DIN12331 HF), die in belüfteten, temperierten Keimungswannen (15°C) gehältert wurden. Sowohl die Verwendung des reinen Kultursedimentes als auch die Herstellung des Mineralmediums basieren dabei auf Wüstenberg et al. (2011). Ansätze unter Verwendung von Festagar erfolgten in sterilen Petrischalen, die unter Lichtreduzierung bei 15°C bzw. Raumtemperatur gelagert wurden. Hierbei erfolgte eine Vorbehandlung mit 30%-igem Wasserstoffperoxid zur Sterilisierung der Oosporen. Diese hat nach Sabbatini et al. (1996) keinerlei Einfluss auf das Keimungsverhalten der Oosporen.

Darüber hinaus erfolgte sowohl in Teilen der sedimentbasierten Ansätze als auch bei der Verwendung von Festagar ein Zusatz organischen Materials. Dieses entstammte sowohl dem Saaler Bodden (Michaelsdorf), dem Kringelgraben (Rostock) als auch einem Sumpf nahe Tessin (Entnahme durch P. Nowak). Die Sedimente wurden vor der Verwendung autoklaviert (Zirbus Sterimax 25). Im Gegensatz zum reinen Kultursediment, welches ausschließlich Phosphat enthält, wird durch den Zusatz von organischem Material das Nährstoffangebot für den anschließenden Keimungsprozess erweitert. Vor allem für die Aktivierung der Phytochromrezeptoren ist das Vorhandensein von Nitrat unabdingbar.

Tabelle 4: Gesamtübersicht der durchgeführten Ansätze zur Identifikation Dormanz brechender Faktoren der Arten *Chara baltica*, *Chara hispida*, *Chara papillosa*, *Chara canescens* und *Lychnothamnus barbatus*.

Ansatz-Nr.	Probename	Vorbehandlung				Keimungsprozess						Art_Standort						
		Temperatur	mit mikrobel aktive Phase	Trocknung	künstliches Sediment	Festagar [0,8%]	destilliertes Wasser											
		keine -5°C 5°C 15°C 20°C	ohne mikrobel durch mikrobel E. coli & Blaureide	ohne Trocknung Trocknung mit entwickelnder Fermentationsphase	ohne künstliches Sediment mit künstlichem Sediment mit künstlichem Sediment mit künstlichem Sediment mit künstlichem Sediment	Alpha Beta Gamma Delta Epsilon	Alpha Beta Gamma Delta Epsilon											
A0	A1	A2	A3	A4	B0	B1	C0	C1	a0	a1	a2	p0	p1	p2	y0	y1		
1	2008-05-14	X		X					X			X						<i>Chara baltica</i> <i>Mallada_Spanien</i>
2	2008-05-14		X	X					X			X						
3	2008-05-14		X	X					X			X						
4	2014-04-07	X		X					X			X						<i>Chara hispida</i> <i>Gummars_Deutschland</i>
5	2014-04-07	X		X	X				X			X						
6	2014-04-07	X		X	X				X			X						
7	2014-04-07	X		X	X				X			X						
8	2014-04-07	X		X	X				X			X						
9	2014-04-07	X		X	X				X			X						
10	2014-06-26	X		X	X				X			X						<i>Chara papillosa</i> <i>Rötlingen_Deutschland</i>
11	2014-06-26	X		X	X					X		X						
12	2014-06-26		X	X		X			X			X						
13	2014-06-26		X	X		X				X	X							
14	2014-06-26		X	X		X				X	X							<i>Chara canescens</i> <i>Neusiedler Seewinkel_Ostreich</i>
15	2014-06-02	X		X	X				X			X						
16	2014-06-02	X		X	X					X	X							
17	2014-06-02	X		X		X				X	X							
18	2014-06-02	X		X		X					X	X						<i>Chara canescens</i> <i>Ostsee_Deutschland</i>
19	2015-04-29	X		X	X				X			X						
20	2015-04-29	X			X	X				X	X							
21	2015-04-29	X		X		X			X			X						
22	2015-04-29	X		X		X				X	X							
23	2015-04-29	X		X		X				X	X							
24	2015-04-29	X		X		X			X				X	X				
25	2014-06-12	X		X	X				X			X						<i>Lychnothamnus barbatus</i> <i>Lake Balsys_Litauen</i>
26	2014-06-12	X		X		X			X			X			X			

2.2.2 Keimungsverhalten in Abhängigkeit der Lichtintensität

Für die Lichtabhängigkeitsuntersuchungen der Keimung wurden Teilsedimentproben verschiedenster Binnen- und Ostseestandorte verwendet. Diese Standorte können Tabelle 5 entnommen werden. Das folgende Schema gibt einen Überblick über die Entnahme, Behandlung und Ansatz der Proben:

- (1) Entnahme der oberen drei bis fünf Zentimeter des Sedimentes mittels eines Sedimentstechrohres (Durchmesser 5,5 cm) mit anschließender Vermengung des Probenmaterials.
- (2) Ansatzmengen unter Laborbedingungen:
 - Volumen (Sediment/Becherglas) = 100 ml (DURAN Becherglas 600 ml ISO 3819 DIN12331 HF)
 - n (Probenansatz) = 7 – 10
 - Medium = gefiltertes Habitatwasser (55µm)

- (3) Versuchsaufbau (Abbildung 5):
- Temperierung und Belüftung der Keimungswannen auf 15°C (Konstanz der äußeren Bedingungen, „Schwerekühler“ LFDNO 7; Titan 1500 Top. No.2)
 - Bestrahlung mittel Leuchtstoffröhren ($n = 7$; Phillips TLD 36W / 950)
- (4) Bestrahlungsintensitäten (LI-COR Model LI – 250 Light Meter) – Reduzierung der Bestrahlungsintensitäten durch handelsübliche Fliegengitter (Gaze):
- $110\text{-}130 \mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$
 - $30\text{-}40 \mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (2fach Gaze)
 - $15\text{-}20 \mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (4fach Gaze)

Durch die Stellung der Bechergläser in den Keimungswannen sowie dem Einfluss der Streuung des Lichtes ergeben sich Differenzen zwischen den Bestrahlungsintensitäten innerhalb einzelner Lichtreihen, die durch wöchentliches Randomisieren der Bechergläser minimiert wurden.

- (5) Versuchsdauer = 5 Monate
- Während dieser Versuchsdauer erfolgte ausschließlich die Resuspension der Sedimente bei Nicht – Keimen und die Reinigung der Wassersäule bei erhöhtem Algenwachstum.

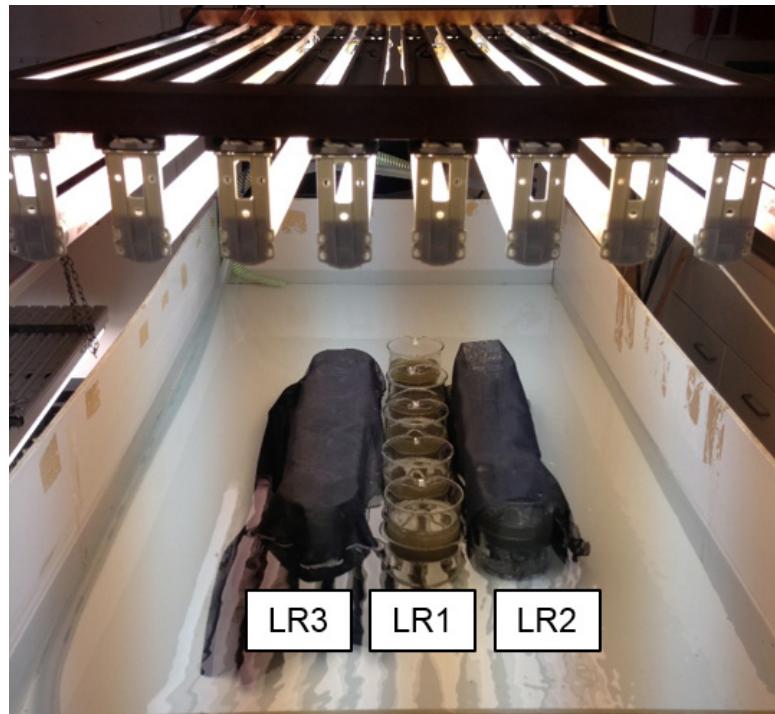


Abbildung 5: Keimungsanlage. Reproduktionsfähigkeit in Abhängigkeit der Lichtintensität. Lichtreihe 1 (LR1) = 110-130 $\mu\text{mol Photonen s}^{-1} \text{m}^{-2}$; Lichtreihe 2 (LR2) = 30-40 $\mu\text{mol Photonen s}^{-1} \text{m}^{-2}$ und Lichtreihe 3 (LR3) = 15-20 $\mu\text{mol Photonen s}^{-1} \text{m}^{-2}$.

Im Zuge der Auswertung wurden alle Bechergläser einer Lichtreihe zusammengefasst. Dies ist einerseits mit der kleinen Fläche pro Becherglas zu begründen, andererseits konnte trotz Vermengung der Sedimente keine vollständige Homogenisierung erreicht werden, sodass eine Einzelbetrachtung nicht sinnvoll erschien. Die Auswertung der einzelnen Lichtreihen umfasste die folgenden drei Punkte:

- (1) Erfassung und Vermessung der Keimlinge (Binokular, Olympus SZX16),
- (2) morphologische bzw. in Ausnahmefällen genetische Bestimmung der Keimlinge und
- (3) Bestimmung der Reproduktionsart der einzelnen Individuen. Dabei wird zwischen der Reproduktion durch Oosporen und der vegetative Reproduktion über Sprossknöllchen bzw. charakteristische Bulbillen unterschieden

Tabelle 5: Morphometrische Kenngrößen der untersuchten Oberflächengewässer (' Melzer (2006); " LUGV Brandenburg; " Korte et al. (2010); " Sinkevičienė (2010); " Muuß et al. (1973)).

Standort	Datum	geografische Koordinaten Longitude/ Latitude	Größe [ha]	max. Durchschnitts- tiefe [m]	Fassungs- volumen [10 ⁶ m ³]
Dabitz (Barther Bodden)	2013-04-26	54°21'46.15"N / 12°48'20.94"E	194	1,8	34,1
Großer Goitzschsee ^I	2014-04-11	51°37'37.90"N / 12°20'47.26"E	252	58	61
Obersee bei Lanke ^{II}	2014-08-28	52°45'35.85"N / 13°33'23.49"E	335	12	12,8
Stoßdorfer See ^{II}	2014-08-28	51°50'15.77"N / 13°48'57.15"E	79	9	2,7
Borkener See ^{III}	2014-08-29	51°1'39.25"N / 9°15'55.65"E	139	55,3	35
Lake Balsys_Litauen ^{IV}	2014-09-12	54°47'09.0"N / 25°20'05.4"E	55	15,2	8,33
Fastensee ^V	2014-12-14	54°30'26"18"N / 11°02'08.72"E	71	1,5	k.A.

2.3 Vitalität von Diasporenbanken

2.3.1 Erprobung des Vitalitätsnachweises von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)

Für die Erprobung der Methode zum Nachweis der Vitalität von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid wurden im ersten Schritt Oosporen der Arten *Chara canescens*, *Chara contraria*, *Chara globularis* und *Chara vulgaris* verwendet (Abbildung 6); Probenstandorte waren dabei der große Goitzschsee (51°37'37.90"N/12°20'47.26"E), der Kronwald bei Loitz (53°59'01.2"N/13°01'48.3"E), ein Teich im Vogelpark Marlow (54°8'41.73"N/12°34'27.92"E), die Lacken des Neusiedler Seewinkels (47°51'06.07"N/16°48'44.33"E) sowie die Kirr-Bucht (54°25'37"N/12°41'20"E). Für den Methodentest wurden sowohl frisch entnommene Oosporen als auch Oosporen aus Sedimenten verwendet. Ein Teil der Proben wurde vor der Testung luftgetrocknet.

Die internationalen Regeln der Testung von Samen (ISTA 2015) sehen die Verwendung einer 1%igen wässrigen Triphenyltetrazoliumlösung vor. Diverse Studien (Porter et al. 1947; Throneberry & Smith 1955; Gross 1990; Conacher et al. 1994; van der Valk et al. 1999; Sawma & Mohler 2002; Handley & Davy 2005; Santos et al. 2007) belegten, dass die Konzentration in einem recht breiten Bereich unkritisch ist, sowohl mit niedriger als auch mit höher konzentrierten TTC - Lösungen konnten gute Ergebnisse erzielt werden. Da die

im Mittelpunkt der Untersuchung stehenden Oosporen, verglichen mit Samen höherer Pflanzen, recht klein sind wurden daher neben der Standardkonzentration von $c = 1\%$ TTC – Lösung ebenfalls die Konzentrationen $c = 0,5\%$ und $c = 2\%$ getestet.

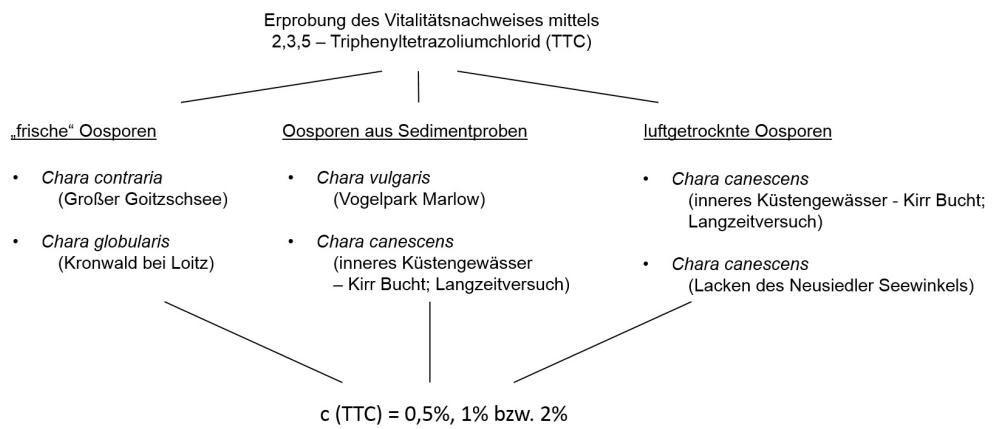


Abbildung 6: Zusammenfassende Übersicht der getesteten *Chara* Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid. Unterschieden wurde zwischen direkter Entnahme von der Mutterpflanze („frische“ Oosporen), luftgetrockneten Oosporen und solchen, die Sedimentproben entstammen.

Die Testung der Oosporen folgte dem nachstehenden Schema:

- (1) Inkubation der Oosporen in destilliertem Wasser (dieser Schritt entfiel bei der Verwendung luftgetrockneter Oosporen),
- (2) Vereinzeln der Oosporen in 24er-Mikrotiterplatten,
- (3) Öffnen der Oosporen mittels Glasstab (notwendig, um ein Eindringen der TTC – Lösung zu gewährleisten),
- (4) Überschichtung der Oosporen mit wässriger TTC-Lösung (Einwirkzeit zwischen 24 und 96h; Lagerung im Dunkeln) sowie
- (5) Auswertung mit Hilfe des Binokulars SZX-16 (Olympus, Japan).

Die Auswertung erfolgte nach der visuell bestimmten Farbänderung, wie im Standard vorgesehen. Hierbei wird zwischen eindeutig rot gefärbten Oosporen (vital) und Oosporen ohne Rotfärbung (nicht vital) unterschieden. Darüber hinaus ergab sich die Notwendigkeit der Einführung einer dritten Kategorie (teilweise gefärbt), da bei einigen Oosporen eine eindeutige Unterscheidung zwischen vital und nicht vital nicht möglich war.

2.3.2 Erprobung des Vitalitätsnachweises über den Masseverlust von Oosporen

Die chemische Vitalitätsbestimmung mittels TTC hat den Nachteil, dass eine direkte Überprüfung der Ergebnisse durch anschließende Keimungsexperimente nicht möglich ist. Daher wurde eine weitere Methode getestet, die eine derartige Überprüfung zulässt - die Bestimmung des Masseverlustes über die Zeit.

Diese Methode stützt sich auf die Hypothese, dass der Wasserverlust vitaler Oosporen in Trocknungsexperimenten sich nach einer Phase der „Abtrocknung“ auf einem stabilen Plateau einpegelt während nicht vitale Oosporen vollständig austrocknen.

Um ausschließlich die Masseänderung der Oosporen zu messen, wurden diese vorab mit HoAc (7,5%) und H₂O₂ (30%) behandelt. Dadurch kann ausgeschlossen werden, dass bakterieller Aufwuchs oder vorhandene Hüllzellen das Eigengewicht verfälschen. In Ausnahmefällen wurden mittels Ultraschall (SINO Ultrasonic Cleaner Pinpoint. Model: PT-101; 220V/240V; 19W; 40KHz; Auto Timer 3min) die anhaftenden Hüllzellen der Oosporen entfernt.

Im Anschluss an diese Vorbehandlung wurden Oosporen der Arten *Chara canescens*, *Chara contraria* sowie *Chara hispida* nach folgendem Schema getestet:

- (1) Wägung (CAHN C-30 MICROBALANCE Waage) und Vermessung der Oosporen mittels Bildanalyse
- (2) Inkubation über Silica-Gel (Roth GmbH)
- (3) Wägung in 10 - 30s Intervallen und abschließende Vermessung der Oosporen.

Die Aufnahme des Zeitverlaufes der Temperaturänderung sowie der Änderung der Luftfeuchtigkeit wurden mittels Datenlogger (EasyLog USB 03) dokumentiert.

3 Oosporenuntersuchungen

3.1 Oosporenmorphometrie

3.1.1 Motivation

Die Suche nach geeigneten und langfristig erfolgsversprechenden Restaurierungsmaßnahmen aquatischer Ökosysteme ist aufgrund der zunehmenden Degradierung dieser Systeme von besonderer Bedeutung. Die Einbindung von Diasporenbankanalysen zur Herleitung pristiner Umweltbedingungen sowie zur Ausnutzung des systemeigenen Wieder- und Neubesiedlungspotentials rückte dementsprechend in den vergangenen Jahren in den Vordergrund. Die Gesamtheit der Diasporen, sowohl generativer als auch vegetativer Art, die sich in den Sedimenten aquatischer Systeme befinden, wird definitionsgemäß als Diasporenbank bezeichnet (Bonis & Grillas 2002).

Characeen bilden, entsprechend dieser Definition, mehrere Formen von Diasporen aus (Sproßknoten, ein- und mehrzellige Bulbillen sowie Oosporen; Schubert et al. 2016), von denen hier nur die Oosporen als persistenteste Form betrachtet werden soll (Stobbe et al. 2014).

Persistente Diasporen, d.h. Diasporen, die über lange Zeiträume hinweg erhalten bleiben, nehmen eine Sonderstellung innerhalb der verbreitungsfördernden Elemente von Pflanzen ein. Sie erlauben eine Wiederbesiedelung von Habitaten auch nach langfristigen Störungen, die weit über die saisonale Rhythmisierung hinausgehen. Dies wird vor allem durch die hohe Resistenz gegen Umwelteinwirkungen ermöglicht, sodass sie eine hohe Wahrscheinlichkeit zur Fossilifizierung aufweisen. Fossile Diasporen können daher als Indikator für die Rekonstruktion pristiner Umweltbedingungen verwendet werden (u.a. Kröpelin & Soulié-Märsche 1991; Soulié-Märsche et al. 2002; Rodrigo et al. 2010). So zeigt beispielsweise die Studie an *Lamprothamnium papulosum* (Soulié-Märsche 2008), dass durch den Einbezug des gesamten Lebenszyklus dieser Art Rückschlüsse auf salzärmere Phasen in Nordafrika gezogen werden konnten. Sowohl die Ausbildung von Oosporen (unterhalb einer Salinität von 12) als auch die Bildung von Gyrogoniten (bei Salinitäten von 20-40) sind bei dieser Art vom Salzgehalt abhängig (Soulié-Märsche 1998).

Aber auch für die Erfassung der rezenten Gewässerflora stellen Oosporen eine Hilfe dar – bei Gewässeruntersuchungen, die im Regelfall in mehrjährigen Abständen erfolgen, ist durch Einbeziehung subrezenter Oosporen, die Erfassung annueller Arten mit kurzer Vegetationsperiode (z. B. *Tolypella*-Arten) ohne zusätzlichen Beprobungsaufwand möglich.

Darüber hinaus bieten Oosporen zumindest potentiell ein zusätzliches Hilfsmittel zur Identifikation von Arten, die anhand vegetativer Merkmale nicht sicher zu trennen sind – dieses Potential wurde bislang nur zu einem sehr geringen Maße ausgeschöpft.

Persistenz und hohe Fossilifizierungsrate ist vor allem im Fall von Gyrogoniten zu beobachten. Gyrogoniten sind kalzifizierte Oosporen; sie entstehen durch die Fähigkeit der Hüllzellen einiger Characeen-Arten, Calciumcarbonat einzulagern. Durch alternierende Schichtung kolloidaler organischer Substanz und Calciumcarbonat entstehen so Mikrofossilien, die über lange geologische Zeiträume erhalten bleiben (Horn af Rantzen 1959; Soulié-Märsche & Garcia 2015).

Die Verwendung von Oosporen zur Bestimmung der rezent vorkommenden Vegetation – auf Grundlage der Verwendung von morphometrischen Oosporenmerkmalen – gestaltet sich jedoch schwierig, da kein regional übergreifender einheitlicher Bestimmungsschlüssel existiert. Der entsprechenden Bestimmungsliteratur (Migula 1898; Groves & Bullock-Webster 1920; Corillion 1957; Wood & Imahori 1965; Krause 1997 und Blindow & Schubert 2004) können zwar viele Angaben über Oosporenmerkmale diverser Arten entnommen werden, problematisch dabei ist jedoch, dass häufig fehlende Angaben zur Herkunft und Lagerung der Oosporen sowie eine uneinheitliche Aufnahme von Merkmalen Datenlücken entstehen lassen (Tabelle 13). Darüber hinaus existieren nur eine geringe Anzahl regionaler Untersuchungen, in denen die Variabilität von Oosporenmerkmalen einzelner Arten in einem mehr oder weniger eng umgrenzten Gebiet gezielt erfasst sind (Haas 1994; Vedder 2004; de Winton et al. 2007). Die Anwendbarkeit der hier verwendeten Merkmalskriterien, über die Grenzen des jeweiligen Untersuchungsgebietes hinaus ist gegenwärtig noch ungeklärt. Ein weiteres Problem ergibt sich aus der eingeschränkten Anzahl von Arten, die berücksichtigt wurden – die Frage ob eine Abgrenzung von weiteren Arten mit Hilfe der verwendeten Merkmalskombinationen möglich ist, kann ggw. nicht entschieden werden.

Dementsprechend offenbaren sich bei einem Vergleich der vorhandenen Literaturdaten sofort zwei Probleme: I) auf Grund der hohen intraspezifischen Variabilität der bislang verwendeten Oosporenmerkmale ergeben sich Überschneidungen zwischen den Arten, die eine eindeutige Differenzierung anhand eines Merkmals unmöglich machen und II) die Oosporenmerkmale weisen deutliche regionale Größenunterschiede innerhalb einer Art auf, deren Ursachen bis dato nicht geklärt sind. Vor allem der letztere Punkt benötigt nicht nur eine Untersuchung des Einflusses von Umweltfaktoren auf die Ausbildung von Oosporenmerkmalen, hier sind ebenfalls populationsökologische Untersuchungen notwendig, um den taxonomischen Status lokaler Populationen zu klären.

Eine Lösung dieser Probleme erfordert eine erweiterte Datengrundlage. Neben der Grundvoraussetzung der Anwendung eines einheitlichen taxonomischen Konzeptes (Sawa & Frame 1974; Soulié-Märsche & García 2015) muss eine umfassendere geographische Abdeckung, die im Idealfall das gesamte Verbreitungsgebiet des jeweiligen Taxons umfasst, gewährleistet sein. Ebenfalls notwendig ist die Dokumentation detaillierter Angaben zu Herkunft, Lagerung und Vorbehandlung der Diasporen, nur so können Vergleiche zwischen rezenten, subrezenten und fossilen Oosporen erfolgen.

Um eine derartige Datengrundlage aufzubauen, wurden die im Rahmen dieser Studie erfassten Daten in der sogenannten ROCHAD – Rostocks Open access Charophyte Oospore Databank - gesichert, die die von Blindow et al. (2004) formulierten Anforderungen berücksichtigt. Diese Datenbank beinhaltet zum heutigen Zeitpunkt: (1) allgemeine Informationen zur Probennahme wie Probennahmeort, geographische Koordinaten und Angaben zum Wasserchemismus, (2) quantitative und qualitative Analysen der morphologischen Merkmale der Ursprungspflanzen der Oosporen sowie der Oosporen selbst, belegt mit Photographien und hinterlegtem Herbar- und Oosporenmaterial; (3) Dokumentation der Vorbehandlungsschritte sowie (4) Informationen über genetische Untersuchungen einschließlich Hinterlegung genetischen Materials. Die Herbarien der Ursprungspflanzen gewährleisten nicht nur nachfolgende Prüfungen, sondern erlauben auch die Anpassung der Datenbank an evtl. Veränderungen des taxonomischen Konzeptes. Mit Hilfe dieser Datenbank können beide oben angeführten Problemkreise bearbeitet werden: zum einen kann der Einfluss von Umwelteinwirkungen auf die morphologische Merkmalsausprägung von Oosporen analysiert werden; zum anderen können Fragen zur Verwendbarkeit von Oosporenmerkmalen für die Artabgrenzung rezenter Characeen-Arten, insbesondere zur Wichtigkeit der Relevanz der einzelnen morphologischer Merkmale, geklärt werden.

Für Characeen findet, wie generell in der Phykologie bzw. der Botanik, ein phenetisches Artkonzept Anwendung, das sich vorrangig an morphologischen Kriterien orientiert. Die Wichtigkeit der Merkmale, die hier zur Artabgrenzung verwendet werden, ist eine schwierige Aufgabe, da keine Blütenmerkmale, die zumindest mittelbar mit Reproduktionsvorgängen korreliert sind, zur Verfügung stehen. Daraus ergeben sich taxonomische „Unklarheiten“; die zu Diskussionen „auf breiter Front“ führten. Zwei dieser Brennpunkte stehen im Mittelpunkt dieser Arbeit, zum einen die diplostichen Arten des *Chara hispida*-Formenkreises sowie die einzige in Europa beschriebene haplostiche Art - *Chara canescens* Loisel. 1810. Das taxonomische Konzept, auf dem die gesamte gegenwärtige Bestimmungsliteratur der Characeen basiert, wurde als rein phenetisches Konzept entwickelt. Dass jedoch, wie so häufig, Theorie und Praxis auseinanderlaufen, und eine

alleinige Verwendung des phenetischen Artkonzeptes innerhalb der Characeen Probleme mit sich bringt, zeigt die parallele Entwicklung eines Makro- und Mikroartenkonzeptes. Ersteres, von Wood & Imahori (1965) beschrieben, unterscheidet nur eine geringe Anzahl an Makroarten, die jedoch auf Grund ihrer hohen Variabilität in Subspecies, Varietäten und Formen differenziert werden. Das Mikroartenkonzept hingegen, welches u.a. von Braun (1883) und Krause (1997) verwendet wird, unterscheidet zwischen einer Vielzahl von Arten, differenziert diese jedoch kaum in Varietäten und Formen. Die unterschiedliche Differenzierung der Arten kommt vor allem durch die stark variierende Wichtigkeit der taxonomisch relevanten morphologischen Merkmale zustande. So spielt die Häufigkeit im Makroartenkonzept von Wood & Imahori beispielsweise keine Rolle für die Unterscheidung von Arten, sodass sowohl monözische, diözische als auch parthenogenetisch vermehrende Taxa (letzteres z.B. im Fall von *Chara canescens*) in einer Art zusammengefasst werden (Wood, 1962).

Vorstellung der untersuchten Taxa

Chara canescens wurde von Jean Louis Auguste Loiseleur-Deslongchamps aus einem Fund bei Toulon (Südfrankreich) 1810 erstmals beschrieben und war zunächst, als einzige bekannte Art mit haplosticher Berindung, problemlos von allen anderen *Chara*-Arten abgrenzbar. Mit zunehmender Verfügbarkeit lokaler Sammlungen anderer Regionen unterschied Migula (1898) aufgrund der hohen morphologischen Variabilität die Formen *longispinae* und *brevispinae*; Unterscheidungskriterium war das Verhältnis von Stachellänge zu Sprossdurchmesser. Innerhalb dieser beiden Formen wurden weitere 16 bzw. 7 Unterformen unterschieden, die zumindest teilweise auf diverse Umwelteinflüsse zurückgeführt werden (z.B. *C. crinita* f. *brevispina* var. *thermalis*; Migula 1998 S. 86) und damit die Ökologie mit in das Artkonzept einbeziehen. Damit ergab sich eine klare Wichtigkeit – das Differenzmerkmal zur Artabgrenzung war die haplostiche Berindung, das Kriterium zur Formenabgrenzung die relative Stachellänge, weitere Variationen wurden als standortbedingte Ausprägungen angesehen. Als Lessing (1835) erstmals männliche Individuen beschrieb, wurden diese Funde zunächst als eigenständige Art (*Chara karelini*) beschrieben, eine Auffassung, die zunächst auch von anderen Autoren (z.B. Wallman 1853) geteilt wurde. Da aber A. Braun, die Autorität in dieser Periode, eine andere Auffassung vertrat, wurde die bisexuelle „Rasse“ nahezu umgehend (Braun 1857) in die damals *Chara crinita* genannte Art eingegliedert. Inwieweit Braun ein weiteres aus Asien stammendes diözisch-haplostisches Taxon als eigenständige Art oder als Form betrachtete ist unklar, da *Chara altaica* erst aus seinem Nachlass heraus publiziert wurde (Braun & Nordstedt 1883). Eine weitere Etablierung haplosticher *Chara*-Taxa auf Artebene erfolgte

durch T.F. Allen, der aus Amerika die monözischen Taxa *Chara hirsuta* und *Chara evoluta* gültig beschrieb. Durch Wood (1965) wurden alle diese haplostichen Taxa dann wieder in einer einzigen Art, *Chara canescens*, vereinigt. Trotz hoher Varianz werden von Wood (1965) keine Varietäten unterschieden, er führt lediglich zwei Formen von *Chara canescens* - *Chara canescens* f. *canescens* (*monözisch/diözisch*) und *Chara canescens* f. *hirsuta* (*monözisch*) – an, die nicht weiter unterteilt werden. Auch hier spielt die Häufigkeit nicht die Rolle des Differenzmerkmals; als Unterscheidungsmerkmal gibt er die Größe der Pflanzen an sowie – interessanterweise – die Anzahl der Striae (Oosporenrippen). Die Oosporen, die bei *Chara canescens* f. *hirsuta* durch eine größere Länge und eine höhere Rippenanzahl gekennzeichnet sind, liefern hier also das sekundäre Artabgrenzungsmerkmal zur monözischen Form von *Chara canescens* f. *canescens*. Krause (1997) unterscheidet in Europa ebenfalls keine weiteren haplostichen Arten, merkt jedoch an, dass die monözische Population, die unter anderem in den Lacken des österreichischen Seewinkels vorkommt (Schaible & Schubert 2008) und von Migula (1898) noch als *Chara canescens* f. *rarispina* aufgeführt wurde, in Flachgewässern auftritt, in denen ein geringerer Natriumchlorid-Gehalt sowie ein erhöhter Soda- und Sulfat-Gehalt vorhanden ist. Dies deutet zu mindestens darauf hin, dass sich durch den Einbezug ökologischer Faktoren die monözischen und diözischen Vorkommen unterscheiden lassen. Im Gegensatz dazu werden in einigen russischsprachigen Bestimmungsschlüsseln weitere haplostische Arten anhand der Häufigkeit unterschieden (z.B. Krasavina & Gollerbach 1983). Hierzu gehört u.a. *Chara canescensiformis*, die auf Grund ihrer Monözie eindeutig von der diözischen Art *Chara canescens* abgetrennt wird. Anders im Fall von *Chara altaica*, die als diözische Art in Asien verbreitet vorkommt und deren Abgrenzung gegen *Chara canescens* bislang vornehmlich anhand des Verbreitungsgebietes erfolgt. Inwieweit es notwendig ist auch in Europa eine Unterscheidung zwischen den monözischen und diözischen Populationen vorzunehmen, soll mit Hilfe ihrer Reproduktionseinheiten (Oosporen) geprüft werden, wie es von Wood & Imahori für die Trennung zwischen *Chara canescens* f. *canescens* und *Chara canescens* f. *hirsuta* ausgenutzt wurde.

Auch innerhalb der diplostichen Characeen sind die taxonomischen Stellungen der einzelnen Arten bis heute nicht eindeutig geklärt. Wood & Imahori (1965) unterscheiden drei diplostiche Makroarten - *Chara vulgaris* und *Chara tomentosa* in der „Subsection“ *Chara* L. sowie *Chara hispida*, welche die Makroart der „Subsection“ *Hartmania* R.D.W. ist. Innerhalb der „Subsections“ werden die Taxa weiter in Varietäten und Formen unterteilt, von denen der Mehrzahl, soweit in Europa vorkommend, von Krause (1997) Artstatus zugesprochen wird (Mikroartenkonzept). Im Mikroartenkonzept stellen beispielsweise die Taxa *Chara subspinosa* und *Chara papillosa* Arten dar, während Wood

& Imahori (1965) beide lediglich als Formen der Varietät *major* von *Chara hispida* (beantragt als *nom. cons.*: Gregor et al. 2014) ansehen. Tabelle 6 fasst die Nomenklatur der untersuchten Arten nach dem Mikro- und Makroartenkonzept zusammen. Darüber hinaus beinhaltet Tabelle 6 die derzeit verwendete Nomenklatur der AG Characeen Deutschlands (2016), die im Folgenden verwendet wird.

Tabelle 6: Zusammenfassung der Nomenklatur der verwendeten Arten nach dem Makroartenkonzept (Wood & Imahori 1965) und dem Mikroartenkonzept (Wood & Imahori 1965; Krause 1997) sowie der AG Characeen Deutschlands (2016).

Makroart (Wood & Imahori 1965)	Mikroart (Krause, 1997)	Mikroart (Wood & Imahori 1965)	AG Characeen Deutschlands (2016)
<i>Chara hispida</i> var. <i>baltica</i> f. <i>baltica</i>	<i>Chara baltica</i>	<i>Chara baltica</i>	<i>Chara baltica</i>
<i>Chara canescens</i> f. <i>canescens</i>	<i>Chara canescens</i>	<i>Chara canescens</i>	<i>Chara canescens</i>
<i>Chara vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> f. <i>contraria</i>	<i>Chara contraria</i>	<i>Chara contraria</i>	<i>Chara contraria</i>
<i>Chara hispida</i> var. <i>hispida</i> f. <i>hispida</i>	<i>Chara hispida</i>	<i>Chara hispida</i>	<i>Chara hispida</i>
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> f. <i>intermedia</i>	<i>Chara intermedia</i>	<i>Chara intermedia</i>	<i>Chara papillosa</i>
<i>Chara hispida</i> var. <i>baltica</i> f. <i>liljebladii</i>	-----	<i>Chara liljebladii</i>	<i>Chara baltica</i> var. <i>liljebladii</i>
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> f. <i>rudis</i>	<i>Chara rudis</i>	<i>Chara rudis</i>	<i>Chara subspinosa</i>
<i>Chara tomentosa</i> var. <i>tomentosa</i>	<i>Chara tomentosa</i>	<i>Chara tomentosa</i>	<i>Chara tomentosa</i>
<i>Chara vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> f. <i>vulgaris</i>	<i>Chara vulgaris</i>	<i>Chara vulgaris</i>	<i>Chara vulgaris</i>

Zur Lösung dieser taxonomischen Unklarheiten wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche genetische Analysen durchgeführt (Mannschreck 2003; Boegle et al. 2007; Boegle et al. 2010; Nowak et al. 2011; Schneider et al. 2015). Dabei ergab sich u.a., dass die Taxa *Chara baltica* und *Chara baltica* var. *liljebladii*; *Chara subspinosa* und *Chara hispida* sowie *Chara filiformis* und *Chara contraria* genetisch bis dato nicht voneinander getrennt werden können (Nowak 2011; Schubert 2014). Auf Grund der Habitatunterschiede wird daher vermutet, dass es sich bei diesen Taxa jeweils um standortbezogene Anpassungen handelt. Diese zu unterscheiden würde die Einbeziehung des ökologischen Artkonzeptes erfordern – eine durchaus zulässige Vorgehensweise, die aber zumindest den Nachweis einer geographischen Trennung voraussetzt, um akzeptiert zu werden. Seitens der „Anwender“, hier vor allem diejenigen, die sich mit Bioindikation beschäftigen, ist ein Erhalt dieser Taxa auf Artebene von großem Interesse. Gerade durch ihren Bezug zu bestimmten Standortparametern lassen sich aus ihrem Vorkommen Rückschlüsse auf den

Gewässerzustand ziehen. Ein Verlust des Artstatus würde bedeuten, dass sie in den Fundmeldungen nicht mehr auftreten. Die Einbeziehung von Elementen des ökologischen Artkonzeptes dagegen wird in der Botanik, im Gegensatz zur Zoologie, meist sehr kritisch gesehen sofern keine zusätzlichen Kriterien (v.a. molekulargenetische) zur Verfügung stehen. In der vorliegenden Arbeit wird daher der Versuch unternommen anhand der Morphologie der Reproduktionseinheiten (Oosporen) Kriterien zur Abgrenzung der einzelnen Taxa zu entwickeln.

Der Einbezug der Arten *Tolypella nidifica*, *Lamprothamnium papulosum* und *Lychnothamnus barbatus* dient ausschließlich der Prüfung der Verwendbarkeit der Methodik; die Gattungen der Characeen werden in der Literatur übereinstimmend voneinander getrennt, hier liegen ausreichend sichere vegetative Merkmale zur Unterscheidung vor, Oosporenmerkmale werden daher bestenfalls als unterstützende Kriterien verwendet.

3.1.2 Ergebnisse

3.1.2.1 Identifikation gattungsspezifischer Oosporenmerkmale innerhalb der Characeae

Die Ergebnisse der Vermessung der morphometrischen Merkmale von Oosporen der Arten *Lamprothamnium papulosum*, *Lychnothamnus barbatus*, *Tolypella nidifica* und *Chara tomentosa* sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Es zeigt sich, dass kein einziger quantitativer Parameter für sich allein in der Lage ist, die Gattungen signifikant voneinander zu trennen, da durch intraspezifische Variabilität in den Merkmalen Überschneidungen entstehen, die jeweils mindestens zwei Gattungen in einem Cluster gruppieren (Abbildung 7; Abbildung 8). Beispielsweise kann für die Oosporenlänge zwischen kleinen (*Tolypella nidifica*), mittleren (*Lamprothamnium papulosum* und *Lychnothamnus barbatus*) und großen Oosporen (*Chara tomentosa*) unterschieden werden. Eine signifikante Trennung zwischen *Lamprothamnium papulosum* und *Lychnothamnus barbatus* anhand der Oosporenlänge ist jedoch nicht möglich. Die übrigen Merkmale – die Oosporenbreite, die Länge der Fossa und der basalen Impressionen - zeigen deutlich weniger intraspezifische Variabilität, können einzeln jedoch ebenfalls nicht zur signifikanten Trennung genutzt werden. Interessanterweise scheint die Anzahl der Striae bei diesen Arten das relevanteste Merkmal zu sein, auch wenn diese intraspezifisch um bis zu drei Striae variiert. Bei Auswertung eines größeren Probenumfangs kann somit durch die Verwendung der gemittelten Rippenanzahlen eine Trennung erfolgen; das Auftreten seltener Arten bzw. die sichere Identifikation einzelner Oosporen kann jedoch so nicht gewährleistet werden. So hat *Tolypella nidifica* mit 6 Rippen die geringste Anzahl, gefolgt von *Lychnothamnus*

barbatus (7), *Lamprothamnium papulosum* (8) und *Chara tomentosa* mit 11. Das ins Verhältnis setzen der quantitativen Merkmale, wie beispielsweise das Verhältnis der Oosporenlänge zur Oosporenbreite führt zu keiner signifikanten Trennung der Gattungen.

<u>Oosporenlänge</u>	
➤ <i>Tolypella</i>	320-430µm
➤ <i>Lamprothamnium / Lychnothamnus</i>	510-690µm
➤ <i>Chara(diplostich)</i>	720-920µm
<u>Oosporenbreite</u>	
➤ <i>Lamprothamnium / Tolypella</i>	250-370µm
➤ <i>Lychnothamnus</i>	390-500µm
➤ <i>Chara(diplostich)</i>	520-630µm
<u>Fossa</u>	
➤ <i>Chara / Lamprothamnium / Tolypella</i>	50-65µm
➤ <i>Lychnothamnus</i>	70-85µm
<u>Striae</u>	
<i>Tolypella</i>	5-7
<i>Lychnothamnus</i>	6-8
<i>Lamprothamnium</i>	7-9
<i>Chara</i>	10-12
<u>basale Impressionen</u>	
➤ <i>Lamprothamnium / Tolypella</i>	50-66µm
➤ <i>Chara / Lychnothamnus</i>	78-115µm

Abbildung 7: Zusammenfassender Vergleich der untersuchten Gattungen *Chara*, *Tolypella*, *Lamprothamnium* und *Lychnothamnus*.

Tabelle 7: Zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der untersuchten Arten *Chara tomentosa*, *Lamprothamnium papulosum*, *Lychnothamnus barbatus* und *Tolypella nidifica*. (MW – Mittelwert; SD – Standardabweichung).

Parameter	<i>Chara tomentosa</i>	<i>Lamprothamnium papulosum</i>	<i>Lychnothamnus barbatus</i>	<i>Tolypella nidifica</i>
Oosporenlänge (µm)	MW (SD)	810,83 (51,77)	588,81 (38,55)	618,08 (41,84)
	Median	809,86	592,38	622,73
	Min - Max	724-916	438-661	517-688
Oosporenbreite (µm)	MW (SD)	561,05 (27,76)	316,59 (20,17)	466,99 (32,16)
	Median	555,57	315,54	475,87
	Min - Max	524-624	258-351	390-506
Fossa (µm)	MW (SD)	60,03 (3,8)	57,98 (1,9)	77,07 (4,56)
	Median	60,36	58,34	76,24
	Min - Max	52-66	55-61	70-85
Winkel (°)	MW (SD)	79,18 (5,64)	71,93 (4)	76,91 (5,86)
	Median	78,8	71,97	76,23
	Min - Max	64-90	64-83	66-85
Anzahl Striae	MW (SD)	11,03 (1)	8,2 (1)	7 (0)
	Median	11	8	7
	Min - Max	10-12	7-9	6-8
basale Impression (µm)	MW (SD)	89,97 (5,38)	62,93 (1,89)	101,57 (6,68)
	Median	89,81	63,08	103,67
	Min - Max	78-100	60-66	84-116

Die Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse, deren ermittelte R-Werte in allen möglichen Vergleichspaaren zwischen 0,995 und 1 liegen (Global R = 0,997), implizieren, dass zwischen den morphologischen Merkmalen der einzelnen Arten signifikante Unterschiede bestehen. Die Hauptkomponentenanalyse, deren Ergebnisse in Tabelle 8 zusammengefasst sind und in Abbildung 9 graphisch dargestellt sind, ermöglicht die Identifikation der für die Trennung entscheidenden Merkmale. Die erste Hauptkomponente erklärt in diesem Fall allerdings nur 57% der totalen Varianz. Innerhalb der PC1 ist der Beitrag (Eigenvektor) von zwei quantitativen Parametern (Oosporenlänge und Winkel der Striae zur Längsachse) bestimend, sodass schlussendlich die erste Hauptkomponente nicht eindeutig identifiziert werden kann. Mit Hinzunahme der zweiten und dritten Hauptkomponente lassen sich zwar 98,2% der totalen Varianz erklären, aber auch diese werden durch mindestens zwei entscheidende Eigenvektoren (PC2: Oosporenbreite, basale Impression (Basal), Länge/Basal; PC3: Fossa und Breite/Fossa) bestimmt, sodass die Identifizierung eines einzelnen Merkmals bzw. eines einheitlichen Merkmalskomplexes, welches für die Trennung verantwortlich ist, nicht möglich ist. Für die Trennung der einzelnen hier untersuchten Spezies (z.B. in Form eines Schlüssels) muss daher eine schrittweise Abtrennung erfolgen, bei der nacheinander spezifische Merkmalskombinationen zur Anwendung kommen.

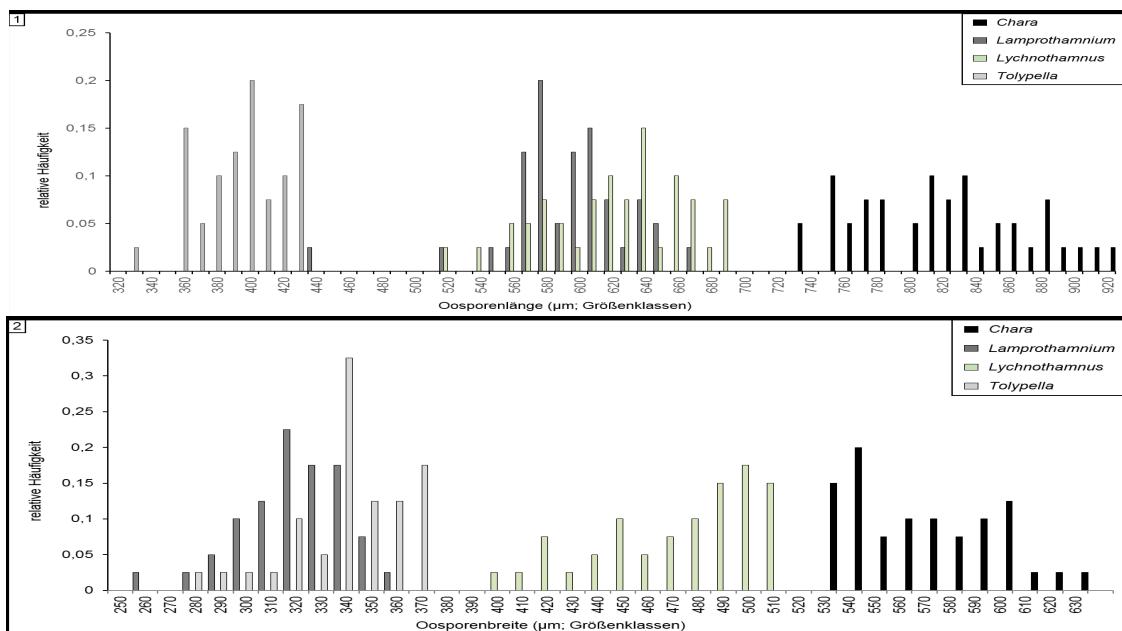


Abbildung 8: Darstellung der Verteilung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen und -breiten (µm; Größenklassen) der untersuchten Arten *Chara tomentosa* (n=40), *Lamprothamnium papulosum* (n=40), *Lychnothamnus barbatus* (n=40) und *Tolypella nidifica* (n=40). Die Messdaten wurden zu 10 µm-Größenklassen zusammengefasst.

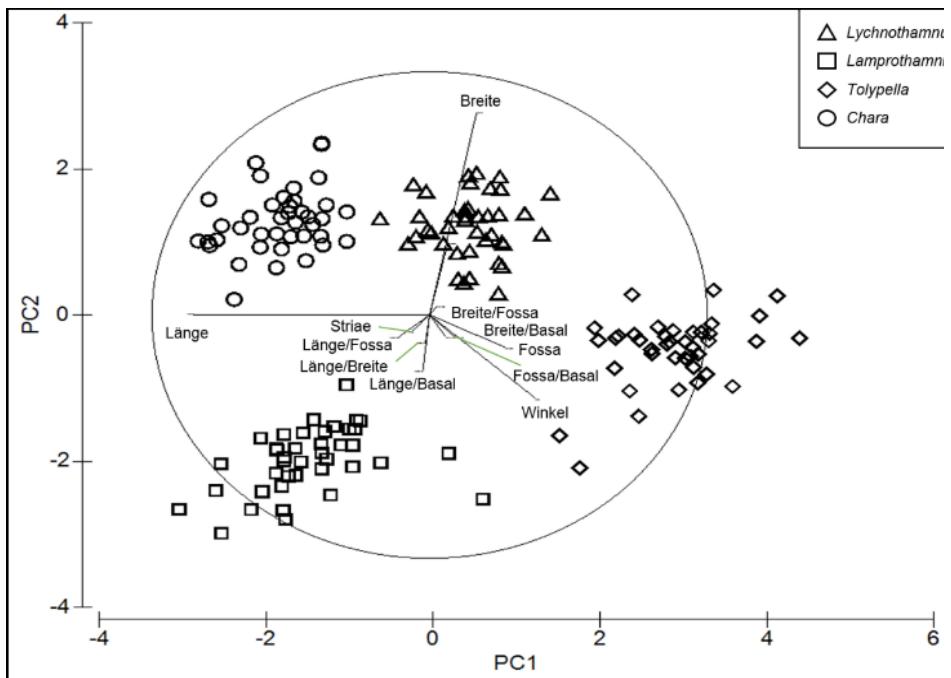


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Arten *Chara tomentosa*, *Lamprothamnium papulosum*, *Lychnothamnus barbatus* und *Tolypella nidifica*. Die dargestellten Vektoren (schwarz) repräsentieren die zur Trennung entscheidenden Oosporenmerkmale. Die grünen Linien dienen ausschließlich der Übersichtlichkeit.

Tabelle 8: Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der Hauptkomponentenanalyse (siehe Material & Methoden) der untersuchten Arten *Chara tomentosa*, *Lamprothamnium papulosum*, *Lychnothamnus barbatus* und *Tolypella nidifica*.

Eigenvalue			
PC	Eigenvalue	% Varianz	Cum % Varianz
1	3,9	57,0	57,0
2	2,0	29,9	86,9
3	0,8	11,3	98,2
Eigenvektoren			
Parameter	PC1	PC2	PC3
Länge (μm)	0,848	0	0,107
Breite (μm)	-0,169	-0,829	-0,292
Striae	0,062	0,066	-0,127
Winkel ($^{\circ}$)	-0,381	0,343	-0,148
Fossa (μm)	-0,272	0,133	0,537
Basal (μm)	-0,065	-0,291	0,658
Länge/Breite	0,015	0,112	0,03
Länge/Fossa	0,11	0,089	-0,184
Länge/Basal	0,024	0,228	-0,163
Breite/Fossa	-0,023	-0,031	-0,211
Breite/Basal	-0,092	0,091	-0,198
Fossa/Basal	-0,058	0,089	-0,009

3.1.2.2 Identifikation artspezifischer Oosporenmerkmale innerhalb des diplostichen *Chara* – Artenclusters

Die vermessenen morphometrischen Daten der untersuchten diplostichen Arten sind in Tabelle 9 zusammengefasst und zeigen sowohl, dass eine signifikante Trennung anhand quantitativer Einzelmerkmale nicht möglich ist als auch die hohe intraspezifische Variabilität; vor allem bezüglich Oosporenlänge und –breite. Die Oosporenlänge, obwohl nur vollständig gereifte Oosporen verwendet wurden, variiert beispielsweise bei *Chara baltica* von 612 µm bis 844 µm und weist damit die höchste intraspezifische Varianz aller untersuchten Arten auf. Die Oosporenlängen von *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa* und *Chara contraria* liegen vollständig innerhalb dieser Grenzen, mit den übrigen Arten kommt es zu Überschneidungen an der unteren bzw. oberen Grenze. Dies ist ebenfalls der Fall für das Merkmal der Oosporenbreite sowie die Anzahl der Striae. Die mittlere Länge der Fossa sowie der basalen Impression überschneiden sich bei allen Arten und liefern somit ebenfalls keinen Ansatzpunkt zur Unterscheidung der Arten anhand eines Einzelkriteriums.

Darüber hinaus ergeben sich innerhalb einer Art Hinweise auf regionale bzw. populationsspezifische Unterschiede. So ist z.B. die *Chara hispida* Population aus Gummanz bezüglich Oosporenlänge (675 – 760 µm) ohne Überlappung von der Population des Mindelsee (790 – 970 µm) getrennt. Die Population vom ehemaligen Storchenhof stellt in diesem Fall ein Verbindungsglied dar (Abbildung 10) und belegt damit die Bedeutung großräumiger Probenahmen zur Abbildung der Varianzbreiten – nicht allein die Anzahl analysierter Proben, sondern auch die Abdeckung eines möglichst großen Anteils der Populationen ist hier entscheidend, um Fehleinschätzungen zu vermeiden.

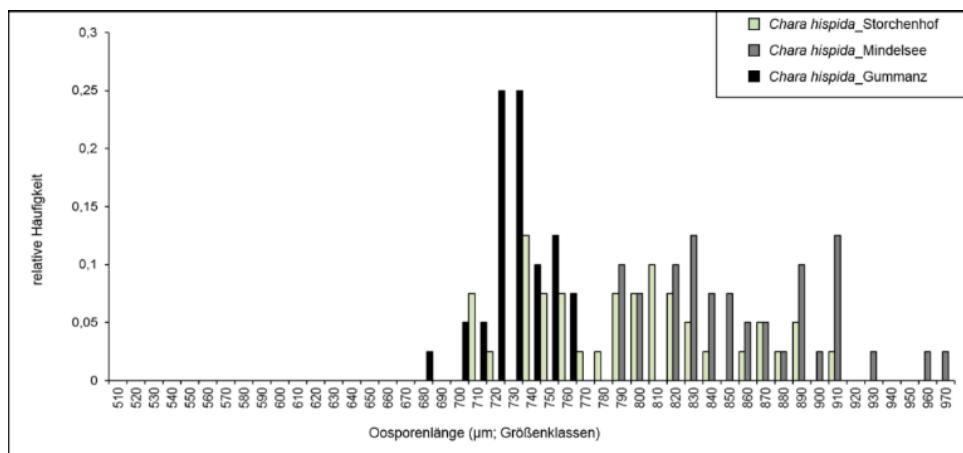


Abbildung 10: Darstellung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen von *Chara hispida* – Populationen, entnommen in Gummanz (n=40, schwarz); am Mindelsee (n=40, grau) und am ehemaligen Storchenhof (n=40; hellgrün). Die Messdaten wurden zu 10 µm-Größenklassen zusammengefasst.

Die Gesamtsignifikanzanalyse der betrachteten diplostichen Arten ergibt einen globalen R-Wert von 0,558, welcher definitionsgemäß zumindest auf Unterschiede zwischen den Populationen/Arten hindeutet. Einzeln betrachtet, kann *Chara vulgaris* signifikant von den Arten *Chara baltica* var. *liljebladii* ($R = 0,922$), *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) ($R = 0,813$), *Chara hispida* ($R = 0,914$ - $0,98$), *Chara papillosa* ($R = 0,916$) und *Chara tomentosa* ($R = 0,988$) getrennt werden. Zwischen den Arten *Chara tomentosa* und *Chara contraria* bestehen ebenfalls eindeutige Unterschiede ($R = 0,869$). Darüber hinaus gibt es bei einigen Artvergleichen zumindest Hinweise auf morphologische Unterschiede zwischen den untersuchten Arten ($0,5 \leq R \leq 0,75$). *Chara contraria* beispielsweise kann von *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa*, *Chara hispida* und *Chara vulgaris* mir R-Werten zwischen 0,503 und 0,727 getrennt werden. *Chara papillosa* zeigt im Vergleich mit *Chara tomentosa* ($R = 0,715$) mehr Ähnlichkeiten innerhalb der Population, als zwischen ihnen. Keine Unterschiede ergeben sich im Vergleich der Arten *Chara baltica*, *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa* und *Chara hispida*. Die Vergleiche von *Chara baltica* mit *Chara hispida* (Storchenhof; $R = 0,269$) und *Chara baltica* var. *liljebladii* ($R = 0,298$) liefern die geringsten R-Werte und kennzeichnen somit die großen Ähnlichkeiten in der Oosporenmorphologie dieser Arten.

Tabelle 9: zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der untersuchten Arten *Chara baltica*, *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa*, *Chara hispida*, *Chara vulgaris*, *Chara tomentosa* und *Chara contraria*. (MW – Mittelwert; SD – Standardabweichung).

Parameter	<i>Chara baltica</i>	<i>Chara liljebladii</i>	<i>Chara papillosa</i> 2010*	<i>Chara papillosa</i> 2014	<i>Chara hispida</i> Storchenhof	<i>Chara hispida</i> Mindelsee	<i>Chara hispida</i> Gummanz	<i>Chara vulgaris</i>	<i>Chara tomentosa</i>	<i>Chara contraria</i>	
Oosporenlänge (μm)	MW (SD)	457,83 (24,85)	774,72 (32,93)	647,74 (45,51)	703,05 (51,23)	789,39 (54,97)	851,36 (47,22)	725 (17,84)	570,84 (26,78)	812,83 (49,24)	669,27 (25,95)
	Median	714,79	775,12	644,75	699,32	789,31	842,37	842,37	577,47	809,86	670,07
	Min - Max	612 - 843	688 - 847	552 - 770	599 - 816	701 - 902	783 - 969	675 - 760	518 - 616	741 - 916	621 - 726
Oosporenbreite (μm)	MW (SD)	240,57 (15,67)	496,32 (23,46)	433,45 (25,21)	484,85 (29,55)	475,67 (49,51)	509,01 (48,36)	443,28 (23,8)	371,87 (23,17)	557,08 (33,60)	382,95 (28,38)
	Median	436,66	496,03	433,34	492,00	483,44	512,23	512,23	369,03	555,57	384,61
	Min - Max	370 - 510	439 - 541	370 - 509	423 - 521	345 - 612	426 - 601	381 - 485	318 - 413	481 - 624	318 - 428
Fossa (μm)	MW (SD)	56,87 (8,19)	60,38 (4,58)	62,33 (5,52)	63,99 (4,98)	60,41 (6,06)	61,74 (7,36)	66,97 (3,81)	44,79 (4,42)	60,71 (4,73)	58 (3,75)
	Median	54,46	60,02	61,16	63,92	61,12	62,22	62,22	44,78	60,36	58,58
	Min - Max	46 - 77	53 - 71	51 - 76	50 - 73	49 - 75	47 - 78	59 - 78	37 - 56	52 - 70	49 - 65
Winkel ($^{\circ}$)	MW (SD)	80,29 (3,54)	80,58 (3,36)	78,44 (5,67)	75,98 (4,74)	78,52 (4,96)	79,90 (3,99)	74,80 (5,36)	79,16 (3,95)	79,18 (5,64)	77,07 (5,95)
	Median	79,97	80,63	78,71	76,54	78,13	79,52	79,52	78,46	78,80	77,45
	Min - Max	72 - 89	68 - 87	68 - 88	66 - 83	67 - 87	70 - 90	63 - 86	71 - 87	64 - 90	62 - 89
Anzahl Striae	MW (SD)	12,68 (1,99)	12,15 (1)	9,08 (0,83)	8,58 (0,55)	9,25 (0,59)	10,83 (0,45)	10,59 (0,87)	10,68 (0,94)	11,03 (0,62)	9,93 (0,66)
	Median	13	12	9	9	9	11	11	11,00	11	10
	Min - Max	9 - 16	10 - 14	7 - 11	8 - 10	8 - 11	10 - 12	9 - 12	8 - 12	10 - 12	9 - 11
basale Impression (μm)	MW (SD)	77,71 (7,69)	87,31 (6,34)	84,12 (6,8)	73,46 (99,16)	92,03 (7,41)	102,08 (7,45)	91,31 (7,23)	63,40 (5,62)	89,870 (5,38)	70,17 (10,94)
	Median	76,74	87,65	83,89	88,65	92,26	101,25	101,25	63,22	89,81	68,64
	Min - Max	53 - 93	73 - 100	72 - 107	73 - 99	76 - 105	86 - 116	79 - 112	49 - 73	78 - 100	46 - 92

* Zum Zeitpunkt der Probennahme (2010) *Chara intermedia*; AG Characeen Deutschlands (2016) *Chara papillosa*.

Die MDS-Analyse, die sämtliche Parameter einbezieht, liefert ebenfalls keine signifikante Trennung dieser Arten. Die Hauptkomponentenanalyse kann jedoch zeigen, dass einige Arten, wie *Chara baltica*, *Chara contraria* und *Chara vulgaris* innerhalb dieses „gemeinsamen Clusters“ eine artspezifische Stellung einnehmen, die nur in wenigen Fällen durch innerartliche Variabilität durchbrochen wird (Abbildung 11; Tabelle 10). Die Arten *Chara hispida*, *Chara papillosa*, *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara intermedia* und *Chara tomentosa* bilden hingegen einen in sich geschlossenen, vollständig überlappenden Bereich.

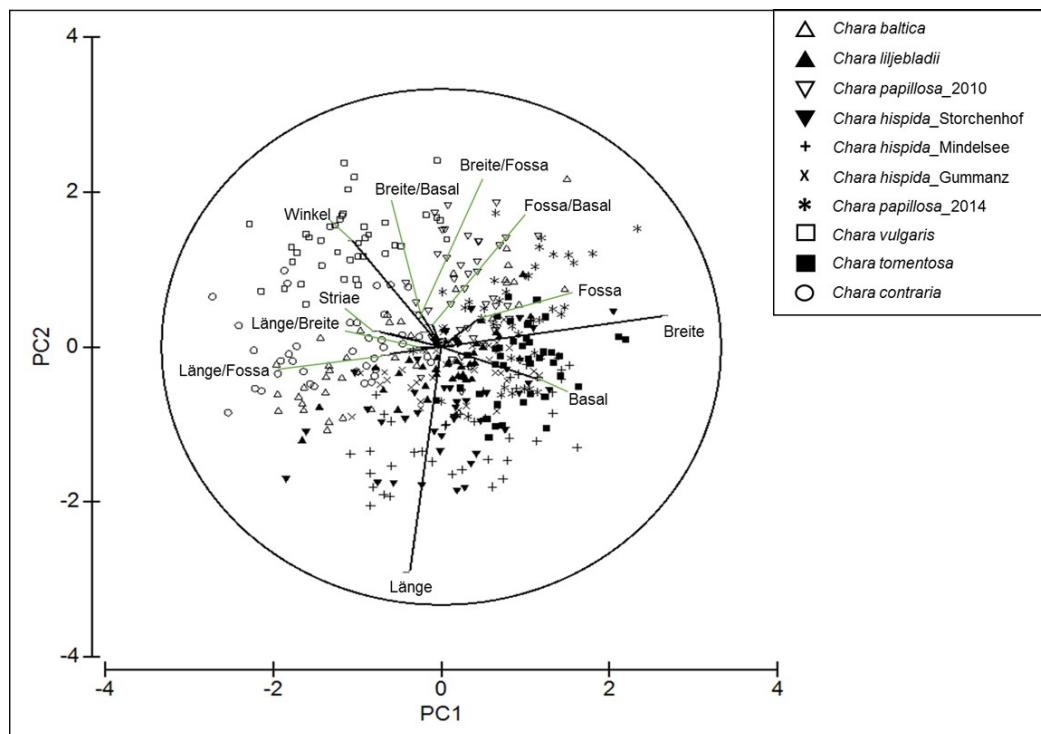


Abbildung 11: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Arten *Chara baltica*, *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa*, *Chara hispida*, *Chara vulgaris*, *Chara tomentosa* und *Chara contraria*. Die dargestellten Vektoren (schwarz) repräsentieren die zur Trennung entscheidenden Oosporenmerkmale (Eigenvalues). Die grünen Linien dienen ausschließlich der Übersichtlichkeit.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der Hauptkomponentenanalyse (siehe Material & Methoden) der untersuchten Arten *Chara baltica*, *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara papillosa*, *Chara hispida*, *Chara vulgaris*, *Chara tomentosa* und *Chara contraria*.

Eigenvalue			
PC	Eigenvalue	% Varianz	Cum % Varianz
1	0,92	38,7	38,7
2	0,751	31,6	70,2
3	0,412	17,3	87,5
Eigenvektoren			
Parameter	PC1	PC2	PC3
Länge (μm)	-0,112	-0,869	0,047
Breite (μm)	0,788	0,119	0,409
Striae	-0,186	0,052	0,116
Winkel ($^{\circ}$)	-0,317	0,411	-0,073
Fossa (μm)	0,131	0,107	-0,678
Basal (μm)	0,339	-0,123	-0,446
Länge/Breite	-0,09	-0,001	-0,044
Länge/Fossa	-0,183	-0,027	0,252
Länge/Basal	-0,219	0,058	0,098
Breite/Fossa	-0,031	0,085	0,249
Breite/Basal	-0,076	0,134	0,118
Fossa/Basal	-0,044	0,054	-0,048

3.1.2.3 Identifikation artspezifischer Oosporenmerkmale der parthenogenetisch und sexuell vermehrenden haplostichen Art *Chara canescens*

Vergleicht man zunächst ausschließlich die sich parthenogenetisch vermehrenden Populationen (Angersdorf, Weißsee, Haide, Insel Poel und Insel Fehmarn), wird ersichtlich, dass regionale Unterschiede in der Ausprägung der Oosporenmerkmale bestehen (Tabelle 11). Die Oosporen der Binnensalzstandorte Angersdorf und Weißsee sind mit einer Länge von 355-444 μm deutlich kürzer, als die der Ostsee (518-611 μm). Diese regionale Unterscheidung, wird auch anhand der quantitativen Merkmale Oosporenbreite (160-310 μm für Binnensalzstandorte; 350-450 μm für Ostseestandorte) und durchschnittlicher Fossa-Abstand (28-48 μm ; 50-85 μm) deutlich. Die Anzahl der Rippen ist im Vergleich dazu kein geeignetes Merkmal, obwohl die (deutlich größeren) Oosporen der Ostsee mit 6 bis 10 Windungen eine geringere Rippenanzahl als die (kleineren) Oosporen der Binnensalzstandorte (7-11 Umgänge) aufweisen.

Ein Bindeglied zwischen den Populationen der Binnensalzstandorte und der Ostsee stellen die Oosporen des Fastensees, eines Strandsees auf Fehmarn, dar. Sowohl die Oosporenlänge (440-540µm) als auch die Oosporenbreite (275-375µm) und der Fossa-Abstand (43-60µm) liegen zwischen den Werten, die an Oosporen der Binnensalzstandorte und der Ostsee gemessen wurden (Abbildung 12-1 und Abbildung 12-2, rot gekennzeichnet). Im Gegensatz zu den übrigen Populationen, zeigen diese Oosporen jedoch eine deutlich geringere intraspezifische Varianz ihrer Rippenanzahl.

Die Einbeziehung der bisexuellen Population aus dem Naturschutzgebiet des Neusiedler Sees verändert dieses Ergebnis nicht signifikant. Es zeigt sich, dass kaum morphologische Unterschiede zu den Oosporen der Binnensalzstandorte (Angersdorf und Weißsee) bestehen. Die Oosporen der bisexuellen Population sind zwar mit einer Oosporenlänge von über 400µm und einer Oosporenbreite von über 200µm geringfügig größer als die aus Angersdorf und vom Weißsee, lassen sich aber auf Grund der intraspezifischen Variabilität aller 3 Standorte problemlos in das Cluster „Binnensalzstandorte“ einordnen.

Tabelle 11: Zusammenfassende Datenübersicht der Vermessung morphometrischer Oosporenmerkmale der parthenogenetisch vermehrenden *Chara canescens* Populationen vom Weißsee (NSG Neusiedler See, Österreich), Angersdorfer Freibad, Fastensee, Insel Poel und aus Haide (Ostsee) sowie der bissexuell vermehrenden Population aus den Lacken des österreichischen Seewinkels (Stinkergraben). (MW – Mittelwert; SD – Standardabweichung).

Parameter		Chara canescens							
		bissexuell vermehrende Population			parthenogenetisch vermehrende Populationen				
		Stinkergraben untere Bucht	Stinkergraben obere Bucht	Stinkergraben untere Bucht Laborkeimung	Weißsee	Angersdorf	Fastensee	Insel Poel	Ostsee
Oosporenlänge (µm)	MW (SD)	457,83 (24,85)	465,84 (26,03)	449,33 (28,83)	402,27 (26,3)	410 (14,61)	495,51 (26,18)	571,05 (23,11)	546,25 (10,53)
	Median (SD)	457	463,07	445,91	403	409,05	499,58	567,06	547,38
	Min - Max	403 - 505	402 - 508	375 - 548	356 - 444	376 - 437	440 - 540	526 - 612	519 - 562
Oosporenbreite (µm)	MW (SD)	240,57 (15,67)	284,8 (22,91)	221,04 (15,73)	224,6 (31,68)	219,01 (18,91)	322,81 (22,53)	407,76 (24,37)	405,50 (12,67)
	Median (SD)	241,43	249,20	220,22	217,78	220,07	319,60	408,39	405,73
	Min - Max	201 - 277	201 - 286	193 - 257	168 - 307	175 - 247	277 - 376	348 - 446	380 - 432
Fossa (µm)	MW (SD)	39,3 (4,1)	38,91 (3,93)	40,20 (4,83)	37,49 (4,83)	41,90 (3,65)	49,75 (3,6)	56,35 (4,2)	64,09 (84,22)
	Median (SD)	38,67	39	39,08	37,96	41,08	49,21	55,99	63,54
	Min - Max	31 - 49	28 - 47	31 - 52	28 - 85	35 - 48	43 - 59	50 - 68	55 - 84
Winkel (°)	MW (SD)	71,93 (3,62)	72,58 (4,52)	71,09 (4,52)	74,19 (3,64)	73,13 (4,59)	74,84 (4,22)	76,83 (4,74)	79,93 (4,14)
	Median (SD)	72,05	71,87	71,23	74,22	72,66	75,14	76,61	79,51
	Min - Max	65 - 77	63 - 83	58 - 83	66 - 85	64 - 83	64 - 83	68 - 85	71 - 90
Anzahl Striae	MW (SD)	8 (1)	8,48 (1)	8,05 (0,81)	9 (1)	9 (0,72)	7,9 (0,3)	7,83 (0,68)	8,83 (0,59)
	Median (SD)	8	8	8	9	9	8	8	9
	Min - Max	7 - 10	7 - 10	7 - 10	8 - 11	7 - 11	7 - 8	6 - 9	8 - 10
basale Impression (µm)	MW (SD)	44,37 (4,33)	47,6 (5,12)	48,73 (3,93)	42,98 (5,06)	45,86 (3,86)	69,82 (4,74)	85,05 (8,39)	77,53 (4,31)
	Median (SD)	44,96	48,73	47,14	42,24	46,06	69,84	86,25	78,39
	Min - Max	34 - 50	36 - 55	42 - 60	31 - 52	37 - 56	60 - 81	59 - 101	65 - 85

Diese Ergebnisse werden ebenfalls durch die ANOSIM-Signifikanzanalyse (Global R: 0,735) bestätigt. Die Binnensalzstandorte (Stinkergraben untere und obere Bucht, Weißsee sowie Angersdorf) unterscheiden sich signifikant von den Ostsee-Standorten Haide und Poel ($R > 0,942$). Die Oosporen des Strandsees Fastensee sind von denen der Binnensalzstandorte mit R-Werten von 0,779 – 0,96 signifikant verschieden; selbst zu den Ostsee-Standorten sind signifikante Unterschiede nachweisbar (Haide: $R = 0,81$; Poel: $R = 0,611$). Auffallend ist hier, dass die Oosporen der Insel Poel denen des Fastensees ähnlicher zu sein scheinen als die des Standortes Haide. Eine Prüfung in wie weit hier die Distanz zwischen den Standorten bzw. eine Salinitätsabhängigkeit vorliegt, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgenommen werden.

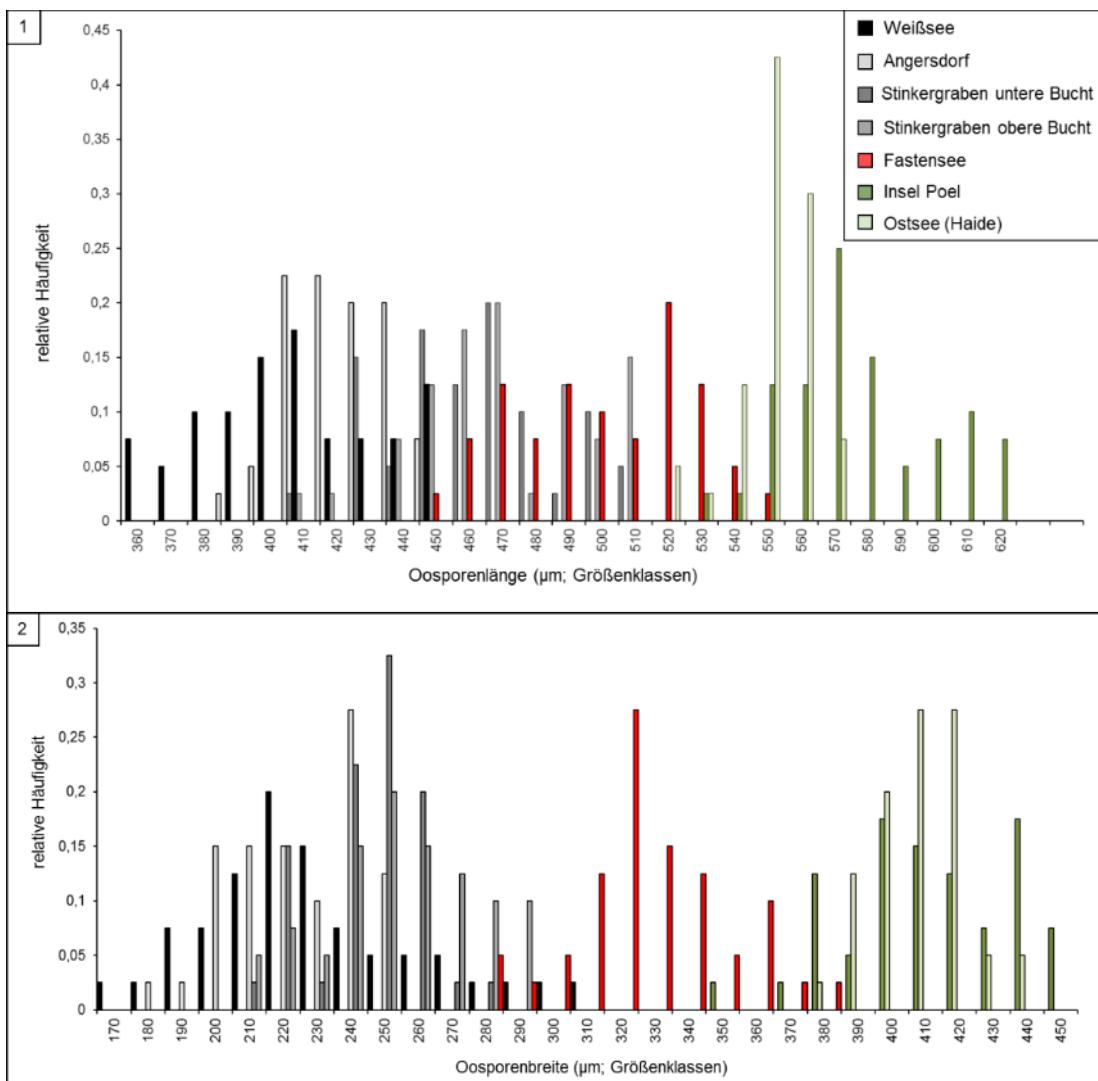


Abbildung 12: Darstellung der relativen Häufigkeiten der Oosporenlängen (1) und –breiten (2) der bisexuell (Stinkergraben, Neusiedler Seewinkel) und parthenogenetisch vermehrenden Populationen *Chara canescens* (Weißsee, Angersdorfer Freibad, Fastensee, Insel Poel und Haide (Ostsee)). Probenumfang pro Standort: n=40. Die Messdaten wurden zu 10µm-Größenklassen zusammengefasst.

Die Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse in Tabelle 12 zeigen, dass mit Hilfe der ersten Komponente bereits 80% der Varianz erklärt werden kann. Diese wird hauptsächlich durch die Eigenvektoren der Oosporenbreite und der basalen Impression bestimmt. Mit Hilfe der zweiten Hauptkomponente, die durch den Absolutwert der Oosporenlänge und des Winkels der Striae zur Längsachse bestimmt wird, sowie der dritten Hauptkomponente (Fossa und Länge/Basal) können bereits 94,3% der Varianz erklärt werden. Die Ergebnisse der Einzelvektoren verdeutlichen, dass eine Identifizierung eines einzelnen entscheidenden Parameters für die sichere Trennung der beiden Cluster nicht möglich ist (Abbildung 13). Die vier Merkmale Länge, Breite, Winkel, Fossa und basale Impression sind zwar bezüglich

der Unterscheidung dominierend; jedoch ist keiner dieser Merkmale für sich allein genommen ausreichend, um eine sichere Trennung zu gewährleisten.

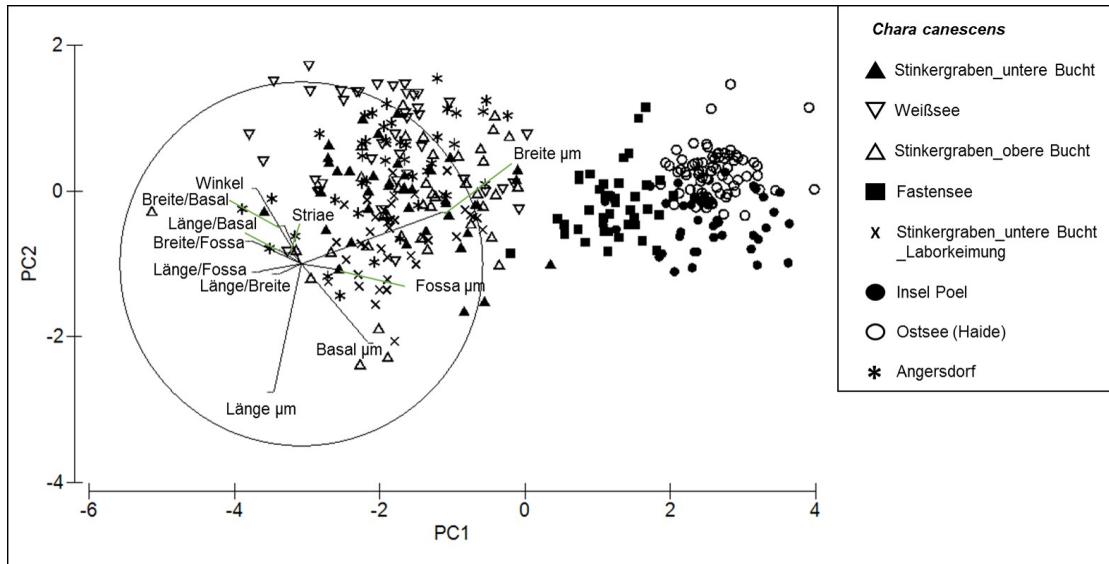


Abbildung 13: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse der bisexuell und parthenogenetisch vermehrenden *Chara canescens* Populationen. Die dargestellten Vektoren (schwarz) repräsentieren die zur Trennung entscheidenden Oosporenmerkmale (Eigenvalues). Die grünen Linien dienen ausschließlich der Übersichtlichkeit.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Eigenvalues und Eigenvektoren der PCA (siehe Material & Methoden) der untersuchten Populationen *Chara canescens*.

Eigenvalue			
PC	Eigenvalue	% Varianz	Cum % Varianz
1	4,54	80	80
2	0,466	8,2	88,3
3	0,344	6,1	94,3
Eigenvektoren			
Parameter	PC1	PC2	PC3
Länge (µm)	-0,15	-0,698	0,405
Breite (µm)	0,764	0,279	0,417
Striae	-0,128	0,08	-0,051
Winkel (°)	-0,245	0,412	-0,378
Fossa (µm)	0,19	-0,03	-0,294
Basal (µm)	0,365	-0,429	-0,586
Länge/Breite	-0,113	-0,052	-0,059
Länge/Fossa	-0,227	-0,04	0,089
Länge/Basal	-0,266	0,123	0,205
Breite/Fossa	-0,048	0,09	0,083
Breite/Basal	-0,091	0,204	0,164
Fossa/Basal	-0,051	0,06	0,002

3.1.3 Diskussion

Die Identifizierung rezenter Characeen Arten anhand ihrer morphometrischen Oosporenmerkmale ist auf Grund eines fehlenden einheitlichen Bestimmungsschlüssels deutlich erschwert. Hinzukommend führt die hohe intraspezifische sowie regionale Variabilität zu Überschneidungen zwischen den Arten, sodass eine eindeutige Bestimmung kaum möglich ist. Trotz allem können zahlreichen Bestimmungsschlüsseln (Migula 1898; Groves & Bullock-Webster 1920; Corillion 1957; Wood & Imahori 1965 & Krause 1997) Oosporen-morphometrische Angaben entnommen werden (Tabelle 13). Vergleicht man die darin enthaltenen Angaben zeigen sich die oben erwähnten „Schwierigkeiten“; eine Verwendung rezenter Oosporen als Hilfsmittel zur Bestimmung „kritischer Arten“ ist damit gegenwärtig nur eingeschränkt möglich. Vor allem die Oosporen der Gattung *Chara* weisen große Differenzen zwischen den Angaben der einzelnen Autoren auf, die zu Überschneidungen zwischen den Arten führen und schlussendlich die Artidentifizierung unmöglich machen. Des Weiteren bedingt die uneinheitliche Aufnahme morphometrischer Merkmale, dass sich mehr oder weniger große Datenlücken für einzelne Arten ergeben. Selbst bei einfachen quantitativen Merkmalen wie Oosporenlänge und -breite oder Anzahl der Striae treten große Varianzen in der Ausprägung auf – so treten beispielsweise für *Chara canescens* bis zu 360µm Differenz in der Oosporenlängen auf (im Vergleich: Wood & Imahori 1965 & Krause 1997). Auch für die Anzahl der Striae ergibt sich hier ein sehr weiter Bereich von acht bis dreizehn (Groves & Bullock-Webster 1920 & Horn af Rantzen 1959), sodass Überschneidungen mit beispielsweise *Chara aspera*, *Chara baltica* oder *Chara contraria* (Tabelle 13) die Folge sind. Diese sind besonders problematisch für Habitate, in denen in der rezenten Vegetation, und damit auch meist in der Diasporenbank, ein gemeinsames Vorkommen der Arten gegeben ist. Das ist beispielsweise in der Ostsee der Fall; hier treten *Chara canescens*, *Chara aspera* und *Chara baltica* gemeinsam auf. Die im Rahmen der vorliegenden Studie erhobenen Daten sind ebenfalls in Tabelle 13 enthalten (Spalte „2015“) und erlauben einen Vergleich mit den Literaturangaben.

Tabelle 13: Vergleich der Literaturangaben der morphologischen Oosporenmerkmale Länge, Breite und Anzahl der Striae mit den Ergebnissen dieser Studie (2015). Symbolik: Kreis – Ergebnisse befinden sich innerhalb der Literaturangaben; Dreieck grün – Ergebnisse liegen unterhalb der unteren Literaturangaben; Dreieck orange (Spitze nach unten gerichtet) - unterhalb der oberen Grenze und Dreieck orange (Spitze nach oben gerichtet) - die Ergebnisse liegen oberhalb der Literaturangaben.

Art	Merkmal	Migula (1898)	Groves & Bullock-Webster (1920)	Corillion (1957)	Horn af Rantzien (1959)	Wood & Imahori (1965)	Krause (1997)	Blindow & Schubert (2004)	2015
<i>Chara aspera</i>	Länge [µm]	500-650	400-600	400-550	k.A.	400-650	400-650	600-700	442-580 ●
	Breite [µm]	280-400	250-375	250-400	k.A.	250-400	250-400	400-450	271-354 ●
	Striae	11-13	12-14	12-14	k.A.	12-14	12-14	k.A.	9-13 ▼
<i>Chara baltica</i>	Länge [µm]	700-800	700	700	k.A.	645-705	700-950	800	612-843 ▲
	Breite [µm]	450-500	500	500	k.A.	420-500	500-700	520	370-510 ▼
	Striae	11-14	13-14	13-14	k.A.	13-14	11-13	(11) 12-14 (15)	9-16 ▲
<i>Chara canescens</i>	Länge [µm]	360-600	450-625	450-625	410-510	(360-) 580-720	400-700	k.A.	355-612 ▼
	Breite [µm]	200-400	275-400	275-400	250-340	210-400	200-400	k.A.	167-446 ▲
	Striae	11-12	10-13	10-13	8-10	10-13	10-13	k.A.	6-11 ▼
<i>Chara contraria</i>	Länge [µm]	550-670	525-725	525-725	450-550	525-725	550-700	k.A.	621-726 ●
	Breite [µm]	350-420	375-425	350-490	230-360	285-425 (-490)	300-450	k.A.	318-428 ●
	Striae	11-14	11-14	10-14	12-14	(10-) 11-14	12-14	k.A.	9-11 ▼
<i>Chara hispida</i>	Länge [µm]	700-800	700-750	675-800	k.A.	675-750	700-900	k.A.	675-969 ▲
	Breite [µm]	600-700	500	425-600	k.A.	390-435	450-650	k.A.	345-612 ▼
	Striae	13-15	12-13	12-13	k.A.	12-14	12-13	k.A.	8-12 ▼
<i>Chara papillosa</i> (<i>Chara intermedia</i>)	Länge [µm]	660-820	k.A.	k.A.	k.A.	660-820	700-850	700-850	552-770 ▼
	Breite [µm]	440-500	k.A.	k.A.	k.A.	435-500	450-500	450-500	370-509 ▼
	Striae	11	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	11-13	11-13	7-11 ▼
<i>Chara liujebladii</i>	Länge [µm]	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	950	k.A.	k.A.	688-847 ▲
	Breite [µm]	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	480	k.A.	k.A.	439-541 ▲
	Striae	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	(10-14)-15-16	k.A.	k.A.	10-14 ●
<i>Chara tomentosa</i>	Länge [µm]	900-1050	800-875	800-875	k.A.	765-900	850-1050	765-1050	724-915 ▼
	Breite [µm]	600-700	525-600	525-600	k.A.	525-645	600-700	525-700	524-624 ●
	Striae	14-16	14	14	k.A.	13-14	14-16	13-16	10-12 ▲
<i>Chara vulgaris</i>	Länge [µm]	420-550	425-675	425-675	k.A.	425-675	420-650	420-675	518-616 ▼
	Breite [µm]	280-350	225-400	225-400	k.A.	225-400	250-350	250-400	318-413 ▲
	Striae	11(-12-14)	12-15	12-15	k.A.	12-15	11-14	11-15	8-12 ▼
<i>Lamprothamnium papulosum</i>	Länge [µm]	k.A.	600-750	600-750	530-670	600-750	600-700	600-660	438-661 ▼
	Breite [µm]	k.A.	275-375	275-375	320-340	275-430	275-450	k.A.	258-351 ▼
	Striae	k.A.	11	k.A.	8-11	11-12	10-12	k.A.	7-9 ▼
<i>Lychnothamnus barbatus</i>	Länge [µm]	660-720	k.A.	660-720	570-620	660-735	600-800	k.A.	517-688 ▼
	Breite [µm]	460-500	k.A.	460-500	360-420	465-495	500-700	k.A.	391-551 ▼
	Striae	7-8	k.A.	7-8	9-11	8-10	7-8	k.A.	6-8 ▼
<i>Tolypella nidifica</i>	Länge [µm]	390-480	400-475	400-475	k.A.	400-475	400-500	400-500	328-426 ▼
	Breite [µm]	340-450	350-450	350-450	k.A.	350-450	350-450	350-450	276-376 ▼
	Striae	7-8	9	8	k.A.	7-8 (-9)	7-9	k.A.	5-7 ▼

Oosporenlänge und -breite

In einem Vergleich der hier erhobenen Daten mit Literaturangaben (Tabelle 13) wird zunächst deutlich, dass nahezu durchgängig kleinere Werte als in der Literatur angegeben, gemessen wurden. Die Differenzierung zwischen den Gattungen *Lamprothamnium*, *Lychnothamnus* und *Tolypella* wird davon jedoch nicht beeinflusst. Deren Trennung erfolgt ohnehin hauptsächlich auf qualitativen Merkmalen, so zeichnen sich die Oosporen der Gattung *Tolypella* durch eine charakteristische kreisrunde Form aus, die sowohl in apikale als auch basale Polrichtung abflacht (Krause 1997). Im Vergleich dazu zeichnen sich die Oosporen von *Lamprothamnium papulosum* durch „kleine dornige Fortsätze an Apikal und Basis“ (Vedder 2004) aus, während *Lychnothamnus barbatus* breite, elliptische Oosporen ausbildet, die in Richtung Basis verschmälert sind (Krause 1997). Diese qualitativen Merkmale spiegeln sich ebenfalls in den Ergebnissen der hier aufgenommenen quantitativen Merkmale der Oosporenlänge und –breite wieder. Beispielsweise bildet *Tolypella nidifica* im Rahmen dieser Studie die kürzesten Oosporen aus und ist somit anhand der Oosporenlänge signifikant abtrennbar. Im Fall von *Lamprothamnium papulosum* und *Lychnothamnus barbatus* ist die Oosporenlänge – übereinstimmend mit den Literaturangaben (Krause 1997; Vedder 2004) – kein relevantes Merkmal zur Gattungstrennung. Hier stellt die Oosporenbreite von *Lychnothamnus barbatus*, die die Werte von *Lamprothamnium papulosum* deutlich übersteigt, ein Unterscheidungsmerkmal dar. Zusammenfassend zeigt sich, dass die in der Literatur beschriebene Unterscheidung der Gattungen *Tolypella*, *Lychnothamnus* und *Lamprothamnium* anhand qualitativer Merkmale mit Hilfe der quantitativen Merkmale der Oosporenlänge bzw. –breite bestätigt werden konnten. Die Einbeziehung des gesamten Parameterkomplexes bestätigt diese Trennung zwischen den Oosporen der Gattungen. Eine Generalisierung in Bezug auf die Gattung *Chara* ist hingegen aufgrund der hohen Variabilität innerhalb dieser artenreichen Gattung nicht möglich, auch wenn die hier verwendete Art – *Chara tomentosa* – eindeutig von den Vertretern der anderen Gattungen getrennt werden konnte. Im Falle von *Chara*-Arten die kleinere Oosporen ausbilden, würden sich in der mittleren Gruppe um *Lamprothamnium papulosum* und *Lychnothamnus barbatus* Überschneidungen ergeben. Den Einzelbetrachtungen ist darüber hinaus zu entnehmen, dass sowohl die haplostiche Art *Chara canescens* als auch die diplostichen Arten *Chara hispida* und *Chara baltica* besonders hohe intraspezifische Varianzen in der Ausprägung ihrer Oosporenmorphologie aufweisen. Die übrigen diplostichen Arten – mit Ausnahme von *Chara contraria* und *Chara vulgaris* – zeigen vor allem in der Oosporenlänge hohe Varianzen. Demnach ist kein Absolutwert für sich allein genommen in der Lage, eine signifikante Trennung zwischen den diplostichen Characeen-Arten *Chara baltica*, *Chara contraria*, *Chara hispida*, *Chara*

papillosa (*Chara intermedia*) und *Chara baltica* var. *liljebladii* zu ermöglichen. Die Art *Chara vulgaris* dagegen kann vom oben angeführten Cluster diplosticher Characeen anhand eines Einzelparameters abgetrennt werden. Im Falle von *Chara vulgaris* ist eine signifikante Trennung anhand der Oosporenänge (518-616µm) von den diplostichen Arten *Chara contraria* (621-726µm), *Chara hispida* (675-969µm), *Chara baltica* var. *liljebladii* (688-847µm) und *Chara tomentosa* (724-915µm) möglich. Für die Abtrennung von *Chara tomentosa* ist eine Abtrennung ebenfalls möglich, allerdings ist hier die Einbeziehung mehrere Parameter notwendig. Mittels multivariater Verfahren ist die Berücksichtigung eines ganzen Parameterkomplexes möglich und resultiert in einer sicheren Artunterscheidung. Eine signifikante Unterscheidung zwischen *Chara tomentosa* und *Chara vulgaris* ist bereits an Hand der Absolutwerte der Oosporenänge (724-915µm) bzw. Oosporenbreite (524-624µm) möglich. Um *Chara tomentosa* auch von den diplostischen Arten *Chara baltica*, *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) und *Chara hispida* abzugrenzen ist dagegen die Einbeziehung aller Oosporen-Parameter notwendig.

Die hier vorgenommene multivariate Analyse hat sich damit als nützliches Hilfsmittel zur Unterscheidung von Oosporen erwiesen.

Trotzdem muss geschlussfolgert werden, dass die Verwendung morphologischer Oosporenmerkmale nicht ausreichend ist, um den gesamten diplostichen Artkomplex sicher voneinander trennen zu können. Eine Begrenzung auf morphometrische Merkmale der Oosporen stellte sich im Falle der diplostichen Characeen als unzureichend für die Artbestimmung heraus. Eine Erweiterung des Datensatzes um weitere Characeenarten kann dieses Problem nicht lösen, da es die Variationsbreiten – weder relativ noch absolut – der bereits analysierten Arten nicht verändern würde, daher wurde dieser Weg auch nicht weiter verfolgt. Ein möglicher Ausweg wäre eine gezielte Untersuchung sowohl der umweltbedingten als auch der ontogenetisch bedingten Veränderungen in der Ausprägung der Oosporenmorphologie; beide bislang noch nicht ausreichend untersucht (Casanova, 1997). Die Zielstellung der vorliegenden Arbeit – die sichere Bestimmung von Diasporen – wäre damit aber nicht erreichbar. Für die Anwendung, der so gewonnenen Erkenntnisse, auf subrezente Diasporenbanken müssten die Bedingungen zum Zeitpunkt der Diasporenbildung bekannt sein; eben diese Bedingungen sollen aber anhand der Diasporenanalyse rekonstruiert werden – der klassische Fall eines „*circulus vitiosus*“.

Auf der anderen Seite stimmen die hier vorgestellten Ergebnisse morphologischer Analysen gut mit den Ergebnissen genetischer Analysen überein. Zur Lösung der eingangs vorgestellten „taxonomischen Unklarheiten“ in der Gruppe diplosticher Characeen wurden in den vergangenen Jahren diverse genetische Methoden getestet. Hierzu zählen u.a.

AFLP-Analysen (Mannschreck 2003; Boegle et al. 2007; 2010a, b), DNA-Barcoding (Schneider et al. 2015) sowie die Analyse von Gensequenzen mit Hilfe der Marker *atpB*, *rbcL*, *matK*, ITS1 und 18S rRNA (Nowak 2015). Alle diese molekulargenetischen Analysen zeigten, dass sich zahlreiche diploistische Characeen nicht klar trennen lassen. Für die schwer unterscheidbaren diploistischen „Taxapaare“ *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara hispida*/*Chara subspinosa* (*Chara rudis*) sowie *Chara contraria*/*Chara filiformis* konnten bis dato keine genetischen Unterschiede festgestellt werden (Boegle et al. 2010a; Nowak 2015); wohingegen die Arten *Chara vulgaris* und *Chara tomentosa* eindeutig von allen anderen untersuchten Arten getrennt werden konnten (Mannschreck 2003; Schneider et al. 2015; Nowak 2015). Damit ergibt sich eine vollständige Übereinstimmung der molekulargenetischen Ergebnisse mit den hier vorgestellten Ergebnissen der Oosporenmorphologischen Untersuchungen bezüglich der Taxa *Chara vulgaris*, *Chara tomentosa* sowie des Taxapaars *Chara baltica*/*Chara baltica* var. *liljebladii*.

Dass eine Abtrennung der Arten *Chara hispida*, *Chara contraria* und *Chara baltica* mittels molekulargenetischen Methoden möglich war, die Oosporenmorphologie diese Unterschiede jedoch nicht widerspiegelt, überrascht nicht, zeigt aber gleichzeitig die Limitationen des morphologischen Artkonzeptes, die in der Literatur unter dem Begriff der „kryptischen Arten“ ausführlich behandelt werden.

Die AFLP-Analysen (amplified fragment length polymorphism) von Mannschreck (2003) & Boegle et al. (2007; 2010a, b) sowie die Untersuchungen der Gensequenzen von Nowak (2015) konnten darüber hinaus Hinweise auf genetische Unterschiede regional getrennter Populationen liefern, die einen umweltbedingten Einfluss vermuten lassen. So ließen sich beispielsweise bei *Chara aspera* (Mannschreck 2003) genetische Unterschiede regional getrennter Populationen Deutschlands feststellen. Auch Boegle et al. (2010a, b) und Nowak (2015) konnten genetische Unterschiede zwischen regional getrennten *Chara baltica* und *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) Populationen feststellen. Dabei ergab sich zwar eine klare Trennung zwischen *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) des Süßwassers und aus der Ostsee stammenden *Chara baltica*- Individuen, jedoch bildeten *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) Individuen aus Inlandsbrackwassern (Salziger See) und eine aus Frankreich stammende, vorläufig ebenfalls „*Chara baltica*“ genannte („french baltica“) Population ein intermediäres Cluster aus, welches die beiden klar getrennten Gruppen miteinander verbindet. Boegle et al. (2010a) schlussfolgerten daraus, dass es sich bei der dadurch ergebenden *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) – *Chara baltica* – Gruppe um ein sogenanntes „Continuum“ handelt. Die Variabilität innerhalb dieses Kontinuums stellt das Ergebnis des langanhaltenden Einflusses der Habitat-spezifischen Bedingungen dar; die Häufigkeitsverteilung das Resultat der jeweils zur Verfügung stehenden Fläche bzw. Anzahl

der jeweiligen Habitate. Neben genetischen Anpassungen, die sich im Laufe der Evolution auf Grund von ändernden Umweltbedingungen ergaben, stellen ebenfalls die Hybridbildung und die Aufspaltung von einem gemeinsamen Vorfahren mögliche Gründe für die genetischen Ähnlichkeiten dar. Inwieweit es sich bei den Oosporenmerkmalen um genetisch fixierte Merkmale handelt, kann an dieser Stelle nicht beurteilt werden. Dennoch geben die regionalen Unterschiede der *Chara hispida*- Populationen erste Hinweise darauf, dass es sich hierbei auch um umweltbedingte Anpassungen bzw. Ausprägungen der Merkmale in Abhängigkeit ihrer Habitatbedingungen handeln könnte, die jedoch auf Grund des begrenzten Probenumfangs nicht näher betrachtet werden sollen. Auf jeden Fall belegt dieses Beispiel wie wichtig es ist, die Standortvielfalt und das Verbreitungsgebiet der Arten – sowohl bei molekulargenetischen als auch bei morphologischen Analysen möglichst vollständig zu berücksichtigen. Eine Begrenzung der Untersuchungen auf Deutschland bzw. Nordeuropa hätte zu einem völlig anderen Resultat geführt; die Einbeziehung der Binnensalzstelle, die mittlerweile erloschen ist, erfolgte erst im Nachhinein und entsprang dem Wunsch, den *locus classicus* mit einzubeziehen, da schwerwiegende taxonomische und nomenklatorische Probleme zu diesem Zeitpunkt nicht gelöst werden konnten (Schubert et al. 2016).

Die Graue Armleuchteralge *Chara canescens*, als einzige beschriebene haplostiche Characee Europas (Krause 1997) ist hauptsächlich auf der Nordhemisphäre weit verbreitet (Olsen 1944; Winter & Kirst 1991; Korte et al. 2010), kann aber ebenfalls auf der Südhemisphäre vorkommen, wie neue Belege aus Australien beweisen (Casanova & Nicol 2009). Durch die strikte Bindung an Gewässer mit (moderat) erhöhtem Salzgehalt ist ihr Vorkommen in Deutschland auf die Küstengebiete vor allem der Ostsee sowie einige wenige Binnensalzstellen beschränkt. Interessanterweise kommt die Art in der Nordsee selbst nicht vor, vollmarine Bedingungen werden von ihr nicht toleriert. Dabei ist sie in der Lage einen breiten Bereich von Ionenzusammensetzungen zu tolerieren (Tabelle 14). Die Betrachtung der Oosporenmorphologie der regional getrennten Populationen von *Chara canescens* zeigten signifikante Unterschiede in der Ausprägung der Oosporenmerkmale in Abhängigkeit des Habitattyps (Abbildung 14). Obwohl sich in der zusammenfassenden Betrachtung aller untersuchten Populationen ein ähnlich großer Varianzbereich für die Oosporenlängen (355-612µm) ergibt wie in der Literatur beschrieben (Migula 1898; Wood & Imahori 1965) und auf intraspezifische Varianz zurückgeführt wird, lassen sich durch den Einbezug der Habitat-Spezifität zumindest zwei Größenklassen unterscheiden.

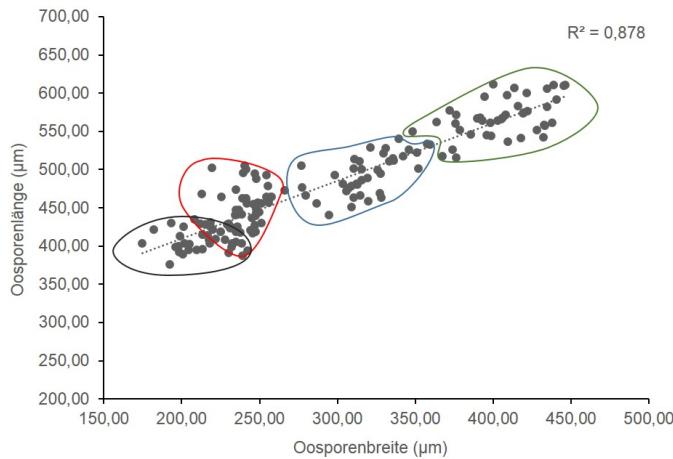


Abbildung 14: Korrelation der Oosporenlängen und –breiten der *Chara canescens* Populationen Angersdorfer Freibad (schwarz), Neusiedler Seewinkel (rot), Fastensee (blau) und Insel Poel (grün).

Oosporen der parthenogenetisch und bisexuell vermehrenden Populationen aus Inlandsbrackwassern sind mit einer Oosporenlänge von 355-500µm kürzer und signifikant getrennt von Oosporen der Ostseestandorte (520-615µm). Aus dieser Aufspaltung in zwei Größenklassen resultiert zumindest für die Oosporen der Inlandsbrackwasser die Möglichkeit einer Abgrenzung zu *Chara baltica*, *Chara papillosa* (*Chara intermedia*) und *Chara vulgaris*. Dies ist vor allem in Systemen von Vorteil, in denen die Arten gemeinsam in der rezenten Vegetation vorkommen und somit Bestandteil der Diasporenbank sind. Inwieweit die Variabilitäten innerhalb von Populationen mit umweltbedingten Einflüssen in Zusammenhang stehen, kann auf Grund weniger Literaturnachweise an dieser Stelle nur vermutet werden. Doch sowohl die Untersuchungen von Soulié-Märsche (1979) an *Chara aspera* sowie von Casanova (1997) an *Chara australis*, *Chara fibrosa* und *Chara muelleri* als auch Untersuchungen an *Chara globularis* (Boszke & Pelechaty 2006), *Chara tomentosa* (Hutorowicz 2008) und *Chara subspinosa* (*Chara rudis*) (Boszke & Boćiąg 2008) implizieren, dass zwischen der Oosporenvariabilität und den jeweils gegebenen Umweltbedingungen ein Zusammenhang besteht. Casanova (1997) kam allerdings zu dem Schluss, dass darüber hinaus auch genetisch bedingte Veränderungen als mögliche Ursachen der Variabilität in Betracht kommen könnten. Sowohl die unterschiedlichen Oosporengrößen von *Chara aspera* in Süß- und Brackwasser (Soulié-Märsche 1991) als auch die von *Chara globularis* je nachdem, ob die Parentalpflanzen aus Seen, Teichen oder Flüssen stammen (Boszke & Pelechaty 2006) implizieren einen hydrologischen Einfluss auf die Oosporenmorphologie. Die hier vorgestellten Ergebnisse von *Chara canescens* entsprechen diesem Schema und ordnen sich damit in die Reihe der Belege für einen Umwelteinfluss auf die Oosporenmorphologie ein.

Im Fall von *Chara canescens* liegt nach den hier vorgestellten Ergebnissen der Verdacht nahe, dass es sich bei diesem Umwelteinfluss vor allem um den Einfluss der Salinität handelt. Im Vergleich mit den Binnensalzstellen liegen die Salinitäten der Ostseestandorte deutlich höher. Fluktuationen der Salinität bedeuten für viele Organismen zusätzlichen Stress. Salzstress bewirkt zunächst vor allem eine Veränderung des Wasserpotentials (Ψ) von Organismen, das sich aus der Summe von osmotischen Potential, Druckpotential, Matrixpotential sowie dem Gravitationspotential ergibt – letzteres ist für submerse aquatische Organismen bedeutungslos; auch das Matrixpotential wird bei Pflanzen aquatischer Systeme meist nicht berücksichtigt; hier wird das Wasserpotential meist nur aus der Differenz des hydrostatischen Druckes P und dem osmotischen Druck Π ermittelt. Organismen, die in Habitaten mit schwankenden Salzgehalten vorkommen, benötigen Kompensationsmechanismen, um die aus diesen Schwankungen resultierenden Potentialdifferenzschwankungen ausgleichen zu können. Während zellwandlose Organismen bei Veränderungen des äußeren Wasserpotentials zunächst an- bzw. abschwellen, führt eine Veränderung des äußeren Wasserpotentials bei Pflanzen zunächst nur zu einer Veränderung des Turgor. Liegt der osmotische Wert innerhalb der Zelle höher als außerhalb dieser, tritt Wasser in die Zelle ein und führt zu einer Erhöhung des Turgors; im Extremfall zum Platzen der Zelle. Im umgekehrten Fall kommt es zur Erniedrigung des Turgors, resultierend in Beeinträchtigung des Streckungswachstums und, im Extremfall, zur Ablösung der Zellmembran (Plasmolyse). Die Regulierung des Turgors erfolgt vor allem über die Akkumulation der einwertigen anorganischen Osmolyte Na^+ , K^+ und Cl^- sowie den zweiwertigen Mg^{2+} , Ca^{2+} und SO_4^{2-} . Darüber hinaus können marine Algen durch Akkumulation organischer Osmolyte die Ionenkonzentration im Inneren der Zelle senken und somit Spielraum für Veränderungen des osmotischen Potentials ohne Beeinflussung von Ionenkonzentrationen bzw. – verhältnissen gewinnen. Zu den häufig anzutreffenden Osmolyten zählen sowohl Zucker wie Saccharose oder Trehalose, Polyole wie Glycerin, Mannit oder Sorbit oder auch Heteroside (Floridoside und Isofloridoside) (Bisson & Kirst 1995). Die Anhäufung des Polyols Mannitol ist beispielsweise bei den Fucaceen (Phaeophyceae) nachgewiesen (Munda & Zavodnik 1967; Munda & Kremer 1977). Der Vergleich der marinen Art *Fucus serratus* und der hauptsächlich in Küstenregionen vorkommenden Art *Fucus vesiculosus* zeigen, dass Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung bestehen. Eine erhöhte Salinität führt u.a. zu einer erniedrigten Mannitolsynthese (Munda & Zavodnik 1967; Munda & Kremer 1977). Unter den Rhodophyceaen ist die Akkumulation von Heterosiden weit verbreitet, *Porphyra perforata* und *Porphyra purpurea* akkumulieren α -Galactosyl – Glycerol (Floridosid) sowie Isofloridoside (Majak et al. 1966; Reed et al. 1980). Anfänglich wurde angenommen, dass sowohl Floridoside als auch Isofloridoside an der Osmoregulation beteiligt sind (Kauss

1969; Hellebust 1976). Weiterführende Studien an *Porphyra purpurea* machten jedoch deutlich, dass ausschließlich die Floridoside osmoregulatorische Funktion wahrnehmen (Reed et al. 1980). Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass mittlerweile vermutet wird, dass die primäre Funktion der Floridoside vor allem im Schutz von Membranen und Enzyme besteht (Bisson & Kirst 1995), da eine effektive Turgorregulierung mit den bislang gemessenen geringen Floridosidkonzentrationen nicht möglich ist.

Bei salztoleranten Characeen konnte die Synthese des Disaccharids Saccharose in Zusammenhang mit der Turgorregulation gebracht werden (Kirst & Bisson 1979). Das gilt vor allem für die Arten *Lamprothamnium papulosum* (Wichmann & Kirst 1989), *Chara aspera* (Winter & Kirst 1992) und *Chara vulgaris* (Winter et al. 1987, Kirst et al. 1988). Bei *Chara canescens* wurde ebenfalls ein geringer Anstieg der Saccharose-Konzentration mit steigender Salinität nachgewiesen (Winter & Kirst, 1990), im Vergleich zu den übrigen Arten fällt dieser jedoch deutlich geringer aus, sodass die Beteiligung von Saccharose an der Turgorregulation ausgeschlossen wurde.

Winter & Kirst (1992) unterscheiden in Abhängigkeit der Salinität für *Chara canescens* folgende Arten der Turgorregulation:

- (1) 0 - 4PSU Konstanthaltung der K⁺ - Konzentration; unvollständige Turgorregulation über die einwertigen Ionen Na⁺ und Cl⁻
- (2) > 4PSU Turgorregulation sowohl über die einwertigen Ionen K⁺ als auch Na⁺
- (3) >13PSU erhöhter Na⁺ Einstrom bei konstanter K⁺-Konzentration

Reine Süßwasserarten, bei denen der innere osmotische Druck über dem äußeren liegt, führen ausschließlich eine Konstanz über K⁺ - Ionen durch. Arten der Gattung *Nitella* sowie *Chara corallina* führen keine Turgorregulation durch, da Änderungen des osmotischen Potentials nur einen geringen Einfluss auf den Turgor ausüben (Bisson & Bartholomew 1984). *Chara canescens* mit Vorkommen bei Salinitäten zwischen 0,5 und 16 (selten bis 21; Olsen 1944) steht in Bezug auf ihre Salztoleranz zwischen *Chara vulgaris* und der euryhalinen Art *Lamprothamnium papulosum* und führt, wie *Chara aspera*, ebenfalls eine unvollständige Turgorregulation aus (Winter & Kirst 1991; Blindow et al. 2003). Auf Grund der unterschiedlichen Ergebnisse bei *Chara canescens* im Freiland und unter Laborbedingungen ist die Beteiligung von Saccharose nicht ganz eindeutig geklärt. Dennoch implizieren die Freilanduntersuchungen einen Anstieg der Saccharose-Konzentration zu Beginn der Gametangienbildung (Winter & Kirst 1991). Dies ist ebenfalls der Zeitpunkt für den Anstieg der Saccharose-Konzentration bei *Chara aspera*, *Chara*

vulgaris und *Lamprothamnium papulosum*, sodass ein Zusammenhang möglich wäre, da ebenfalls ein Abfall der Konzentration nach Reifung der Oosporen nachgewiesen ist. Die Vermutung der Beteiligung der Saccharose am Einlagerungsprozess des Reservestoffs Stärke stützt sich auf folgende ontogenetische Aspekte:

- (1) Die Einlagerung von Stärke in das zunächst gebildete Oogonium verläuft parallel zur Entwicklung der Hüllschläuche. (De Bary 1871; Sachs 1874; Groves & Bullock-Webster 1920).
- (2) Erst nach vollständiger Reifung des Oogoniums beginnt die Entwicklung der äußeren gefärbten, aus Sporopollenin bestehenden Membran. (Groves & Bullock-Webster 1920; John & Moore 1987).
- (3) Die Einlagerung der notwendigen Stärke in das Oogonium kann nicht ausschließlich aus eigenen assimilatorischen Prozessen erfolgen, d.h. es muss ebenfalls eine direkte Einlagerung stattfinden (Goebel 1902).
- (4) Mit der Erhöhung des Salzgehaltes geht bei der Art *Chara canescens* eine erhöhte Reproduktionsrate einher (Bonis et al. 1993).

Darüber hinaus spielen folgende physiologische Aspekte eine Rolle:

- (1) Untersuchungen zufolge ist der Stofftransport innerhalb der Characeen sowohl durch die Internodalzellen als auch die Knotenzellen möglich. Dieses erfolgt nach dem Source-Sink-Prinzip (Dale et al. 1983; Andrews et al. 1984; Zawadzki & Fensom 1986). Dies gilt als unabdingbare Voraussetzung für die Nutzbarkeit der Saccharose zur Stärkeeinlagerung. Bei den Characeen konnte nachgewiesen werden, dass die Quirläste den Regionen der höchsten Bildung von Photosynthaten entsprechen, sodass diese der Source-Region (Quelle) entspricht, während der Apex die Sink-Region darstellt, in dessen Richtung der Zuckertransport verläuft.
- (2) Saccharose kann u.a. als Transportmetabolit den aktiven Stofftransport, d.h. die Lieferung von Stärke in Richtung Oogonien, unterstützen.
- (3) Studien zufolge, besitzt *Chara canescens* ihr Wachstumsoptimum bei einer Salinität zwischen 6 und 12. Salinitäten unterhalb dieser Grenzen führen in Kombination mit niedriger Sonneneinstrahlung zu einer geringeren Photosyntheserate (Schaible et al. 2012).

Aus der Kombination dieser Aspekte ergibt sich somit folgendes Bild. Eine erhöhte Verfügbarkeit an Saccharose zur Bildung der Gametangien und während des Reifeprozesses der Oospore könnte die Zunahme des Oosporenvolumens an Ostseestandorten erklären. Dies setzt voraus, dass Saccharose als Vorstufe von Stärke in die Oosporen transportiert werden kann. Nach Schaible et al. (2012) besitzt *Chara canescens* ihr Wachstumsoptimum bei einer Salinität von 6-12, d.h. die unter diesen Bedingungen gegenüber niedrigsalinen Bedingungen erhöhte Verfügbarkeit von Saccharose kann zu einem verstärkten Einbau von Stärke in die Oosporen führen und damit die Oosporenabmessungen beeinflussen.

Im Rahmen der Turgoruntersuchungen an *Chara canescens* wurden auch Oosporenuntersuchungen durchgeführt. Eine Volumenzunahme wurde nur bis zu einer Salinität von 7,3 beobachtet, höhere Salinitäten führten zu Volumenabnahmen – letztlich eine klassische Normalverteilung, die sich aus der Unter- bzw. Überschreitung eines Optimumsbereiches ergibt. Auch dieses Ergebnis stimmt gut mit den hier vorgestellten Ergebnissen überein – die Oosporen, die von der Population Fastensee (Salinität ~ 16) gebildet wurden, sind deutlich kleiner als die der Ostseepopulationen. Es kann somit angenommen werden, dass die erhöhte Salinität des Fastensees, die über dem Wachstumsoptimum der Art liegt, eine hemmende Wirkung ausübt. Inwieweit sich dies in der Saccharose-Konzentration widerspiegelt, kann an dieser Stelle nicht beurteilt werden, entsprechende Messungen wurden nicht vorgenommen. Die quantitativen Merkmale der Oosporenlänge und –breite scheinen, wie in dieser Studie ersichtlich, dem Einfluss abiotischer Umweltfaktoren – in diesem Fall speziell der Salinität – zu unterliegen.

Neben der Regulierung der Änderung des Gesamtsalzgehaltes, spielt die genaue Ionenzusammensetzung des Außenmediums ebenfalls eine bedeutende Rolle.

Wie bereits erwähnt, bestehen zwischen Inlandsbrackwasser und der Ostsee Unterschiede in der Ionenzusammensetzung; Tabelle 14 fasst die Ergebnisse der Wasseranalysen ausgewählter *Chara canescens* Standorte zusammen. Der Vergleich der elektrischen Leitfähigkeiten zeigt einerseits die charakteristischen Unterschiede zwischen Brackwasser und Binnensalzstandorten an, offenbart andererseits jedoch auch hohe Differenzen zwischen den Binnensalzstandorten Angersdorf ($6,24 \cdot 10^{-2}$ mS/cm), Borkener See ($7 \cdot 10^{-4}$ mS/cm) und Weißsee (2,27 mS/cm) sowie zum Standort der diözischen Population, den sogenannten Lacken des österreichischen Burgenlandes (8,71 mS/cm). Trotz ionaler Unterschiede in den einzelnen Gewässern, zeigt die Berechnung des Kalium/Natrium - Verhältnisses, außer für den Weißsee, keine Unterschiede zwischen den Inlandsbrackwassern und der Ostsee – diese liegen mit Werten um 0,04 sehr gering. Auf

Grund des deutlich niedrigeren Natrium-Gehaltes des Weißsees ergibt sich ein doppelt so hohes Verhältnis. Die Calcium/Magnesium – Verhältnisse der einzelnen Standorte variieren jedoch sehr stark. Vor allem der hohe Calcium – Gehalt der Angersdorfer Gipsgrube führt dazu, dass sich ein Verhältnis von 1,54 ergibt. Obwohl Characeen Vorkommen in kalkreichen Gewässern beschrieben sind, liegt dieser Wert an der oberen Grenze der Vorkommen von *Chara canescens*. Kalkreiche Gewässer werden vorrangig durch Vertreter der großen diplostichen *Chara*-Arten besiedelt; bei moderatem Salzeinfluss sind es vor allem *Chara tomentosa* bzw. der salztolerante Teil des diplostichen „*Chara-hispida*“-Clusters, die Dominanzbestände bis hin zu Einartbeständen ausbilden. Das Vorkommen von *Chara canescens* in Angersdorf lässt vermuten, dass die Abwesenheit bei hohen Calcium-Konzentrationen vor allem auf Konkurrenz, nicht jedoch auf Limitation durch Calcium-Konzentration zurückzuführen ist.

Die Abwesenheit dieser diplostichen Arten in der Angersdorfer Gipsgrube, die letztlich erst den konkurrenzarmen Standort bietet, in den *Chara canescens* hier eindringen kann, ist möglicherweise elektrophysiologisch zu erklären. Salzstress ist für Pflanzenzellen vor allem mit dem Einstrom von Natrium durch Ionenkanäle verbunden. Neben den „IRCs“ („inward rectifying channel“) und den „ORCs“ („outward rectifying channel“) gehören ebenfalls nicht selektive Kationenkanäle zu den Membrankanälen der Characeen (Amtmann & Beilby 2010). Während die ersten beiden Typen selektiv für Kalium gegenüber Natrium sind, tragen die nicht selektiven Kationenkanäle trotz geringer Anzahl hauptsächlich zum Einstrom von Natrium bei, welches bei hohen Salinitäten die Zellen depolarisiert. Eine Hemmung dieser nicht selektiven Kationenkanäle ist über eine erhöhte Calcium Konzentration im Medium möglich, wie es beispielsweise für *Chara longifolia* nachgewiesen ist (Beilby 2015). Am betreffenden Standort tritt jedoch gleichzeitig eine stark erhöhte Magnesiumkonzentration auf, die diese Hemmung zusätzlich beeinflusst. Weitere Untersuchungen zum Einfluss von Magnesium auf die Ionenregulation von Characeen wären hier notwendig, um zu einer ursächlichen Analyse zu gelangen. Die betreffenden diplostichen Characeen-Arten sind in unmittelbarer Umgebung der Gipsgrube reichlich vorhanden, sodass eine geographische Isolation des Standortes sehr unwahrscheinlich ist.

Tabelle 14: Übersicht über die standortspezifischen chemisch-physikalischen Wasserparameter pH und Leitfähigkeit (mS/cm) sowie der Massenkonzentrationen (mg/L) der Kationen Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium und der daraus berechneten Ionenverhältnisse. Die Untersuchungen der Ionenzusammensetzung erfolgten durch das UfZ Magdeburg (Margarethe Marlies).

Standort	Angersdorfer Gipsgrube	Weissee	Grabow	NSG Neusiedler See - Stinkergraben
Salinität	7	8,63	13,5	9,65
Leitfähigkeit [mS/cm]	$6,24 \cdot 10^{-2}$	2,27	k.A.	8,71
Ca [mg/L]	588	32,1	139	13,1
K [mg/L]	67	35,7	102	82,4
Mg [mg/L]	382	105	258	41,2
Na [mg/L]	1530	454	2983	2070
Ca/Mg	1,54	0,31	0,54	0,32
K/Na	0,04	0,08	0,03	0,04

Oosporenmerkmal Striae

Bei der Betrachtung des quantitativen Merkmals der Anzahl der Striae ist ebenfalls sofort eine hohe Variabilität ersichtlich (Tabelle 13). Die Anzahl der Striae von *Chara baltica* variiert beispielsweise in dieser Studie in einem Bereich von 9 – 16, sodass neben einer hohen intraspezifischen Variabilität eine Überschneidung mit allen in dieser Studie untersuchten *Chara*-Arten vorliegt. Vor allem die diplostichen Arten *Chara contraria*, *Chara hispida*, *Chara papillosa* (*Chara intermedia*), *Chara baltica* var. *liljebladii*, *Chara tomentosa* und *Chara vulgaris* überlappen im Bereich von 8-12 Striae, ungeachtet der Tatsache, dass einzelne Arten weit über diesen Zentralbereich herausgehen (*Chara baltica*: bis 16 Striae; *Chara baltica* var. *liljebladii*: bis 14 Striae). Zwischen den hier untersuchten Gattungen kann dagegen mit Hilfe dieses Merkmals zumindest eine signifikante Abtrennung von *Tolypella* (6 Striae) und *Lychnothamnus* (7 Striae) vorgenommen werden. Während in älteren Literaturnachweisen sowohl die Anzahl als auch die Beschaffenheit der Striae als bedeutendes Art-Charakteristikum angesehen wurde (Nordstedt 1890), findet es in der aktuelleren Literatur auf Grund der hohen intraspezifischen Variabilität, die sich auch in dieser Untersuchung bestätigt hat, weniger Anwendung. Zur Beantwortung der Frage nach der Relevanz und der Verwendbarkeit dieses morphologischen Merkmals zur

Artabgrenzung muss jedoch erneut die ontogenetische Entwicklung der Gametangien herangezogen werden (Schubert et al. 2016). Dabei wird zunächst ersichtlich, dass eine Beeinflussung im ersten Teil der Entwicklung – dem Reifeprozess des Oogoniums bis zur Befruchtung – nicht vorliegen kann. Zu diesem Zeitpunkt der Ontogenese sind die spiraligen Hüllschläuche und die Krönchenzellen zwar bereits vollständig ausgebildet, die Entwicklung der charakteristischen äußeren gefärbten Oosporenmembran setzt aber erst im Anschluss an die Befruchtung ein (Wille 1897; Groves & Bullock-Webster 1920).

Sowohl über die genaue Entwicklung der äußeren gefärbten Schicht (Groves & Bullock-Webster 1920) als auch über die Anzahl der abgeschiedenen inneren Membranschichten besteht in der Literatur keinerlei Einigkeit. Groves & Bullock-Webster (1920) beschreiben beispielsweise die Ausbildung von zwei gefärbten und zwei farblosen inneren Schichten, wohingegen John et al. (1990) und Leitch (1989) bereits acht unterschiedliche Schichten beschreiben, die ihren Ursprung alle aus der Oospore bzw. den umliegenden sterilen Schichten haben. In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls die Verwendung des Begriffs der Oosporenmembran – wie es beispielsweise bei Wood (1965) sowie Sawa & Frame (1974) erfolgt – kritisch bewertet, da diese nicht der ontogenetischen Herkunft entspricht. Im Gegensatz dazu werden Bezeichnungen wie „compound oosporangial wall (COW)“ (Leitch 1989) oder „multilayered structure“ (Horn af Rantzen 1956) bevorzugt. Ungeachtet dessen herrscht weitgehend Einigkeit über den Mechanismus, der zur Ausprägung der charakteristischen Striae führt. Die Windung der Hüllzellen wird demnach durch Abscheidungen der oben erwähnten sekundären Membranen gegen die inneren Seitenwände der Hüllzellen verursacht. Durch unterschiedliche Geschwindigkeiten in den Ablagerungsprozessen der sekundären Membranen wird die Ausprägung der Windung beeinflusst, hier ergibt sich ein Ansatzpunkt für umweltbedingte Einflüsse, die eine Variabilität der Anzahl der Striae zur Folge haben. Detaillierte Untersuchungen dazu liegen bislang nicht vor; es kann aber an dieser Stelle mit Sicherheit festgestellt werden, dass das Merkmal der Anzahl der Striae für die Artabtrennung von *Chara*-Arten nicht geeignet ist.

Zusammenfassung

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen Oosporen-morphologischen Untersuchungen, dass zunächst regionale Datenerhebungen notwendig sind, um das volle Ausmaß der Beeinflussung und Variabilität der Oosporenmorphologie abschätzen zu können, ehe diese für Diasporenuntersuchungen genutzt werden können. Inwieweit die hier hypothetisierte Saccharose Konzentration in Abhängigkeit der Salinität tatsächlich einen Einfluss auf die Oosporenmorphologie hat, kann nur durch physiologische Untersuchungen an *Chara canescens* geklärt werden. Darüber hinaus kann auf Grund der hohen Variabilität innerhalb der Arten geschlussfolgert werden, dass die alleinige Nutzung des phenetischen Artkonzeptes nicht ausreichend ist, um eine Artabgrenzung innerhalb der Characeen (vor allem innerhalb der diplostichen Characeen) vorzunehmen. Die Größenunterschiede der *Chara canescens* Populationen, die sich auf Grund ihrer Habitat-spezifität ergeben, verdeutlichen vielmehr die Notwendigkeit des Einbezuges der Ökologie.

3.2 Dormanz & Keimung von Oosporen

3.2.1 Motivation

Standgewässer, der bevorzugte Lebensraum von Characeen, stellen geologisch kurzlebige Gebilde dar, die darüber hinaus voneinander weitgehend isoliert sind. In diesem Zusammenhang analysierte Keddy (1976) die Eigenschaften, die für eine erfolgreiche (Neu-) Besiedelung von Habitaten wichtig sind und verweist dabei vor allem auf den Fakt, dass neben den physiologischen Eigenschaften der Organismen selbst auch Konkurrenzbeziehungen mit berücksichtigt werden müssen. Diese „Abgeschlossenheit“ limnischer Systemen (Seen) bedingt, dass die Neubesiedelung vor allem über Zoochorie erfolgt; für die Verbreitung von Oosporen der Characeen wurde Zoochorie durch Wasservögel als Vektor mehrfach nachgewiesen (Proctor 1962; Wade 1990; Charalambidou & Santamaria 2002; Green et al. 2002). Im Gegensatz dazu spielen bei Characeen Ausbreitungen über Anemochorie oder Hydrochorie eine untergeordnete Rolle. Für Anemochorie wäre eine Akkumulation der Oosporen an der Wasseroberfläche oder den Seeufern Voraussetzung. Characeen-Oosporen weisen jedoch eine höhere Dichte als Wasser auf; Anemochorie kommt daher nur im Fall von temporären Gewässern in Betracht. Hydrochorie gewährleistet im limnischen Bereich vor allem die Ausbreitung innerhalb eines bereits eroberten Habitats (Ridley 1930; Barrat-Segretain 1996); für die Neubesiedelung sind dagegen Zoochorie und Anemochorie die entscheidenden Mechanismen. Viele aquatische Arten verfügen neben der geschlechtlichen Vermehrung auch über Mechanismen der vegetativen Verbreitung über Pflanzenteile bzw. die Bildung von spezialisierten Pflanzenteilen wie z.B. reservestoffreiche Wurzel- oder Stängelabschnitte (Barrat-Segretain 1996). Im Fall von Characeen handelt es sich hierbei vor allem um Spross- und Rhizoidbulbillen sowie Nodalabschnitte, die verglichen mit den Oosporen nur eine geringe Resistenz gegen Umwelteinflüsse aufweisen. Ihre Überlebenszeit ist begrenzt, als Mechanismus zur Verbreitung über die Habitatgrenzen hinweg, spielen sie eine untergeordnete Rolle. Für Oosporen hingegen sind Überlebenszeiten im Bereich von Jahrzehnten bis Jahrhunderte beschrieben (Rodrigo et al. 2010; Stobbe et al. 2014), wodurch sie eine Wiederbesiedelung auch nach langanhaltenden Störungen des Habitats gewährleisten. Auf Grund ihrer hohen Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen können sie ebenfalls den Verdauungstrakt von Tieren unbeschadet passieren, sodass ein Ferntransport möglich wird.

Sowohl eine erfolgreiche Wiederbesiedelung nach Störungen als auch eine Neubesiedelung von Habitaten nach Ferntransport setzt jedoch voraus, dass die Oospore den Keimungsprozess zu einem geeigneten Zeitpunkt beginnt. Bezuglich Temperatur, Lichtverfügbarkeit oder Hydratationszustand ist das über entsprechende Sensorsysteme

realisierbar. Die bestehenden Konkurrenzverhältnisse im Gewässer dagegen sind so nicht detektierbar, hier ist ein „try-and-error“ - Verhalten zu beobachten: Die Oosporen keimen nicht alle zur gleichen Zeit, sondern gestreckt über einen langen Zeitraum, um die Chance auf eine konkurrenzarme Periode zur Etablierung der eigenen Population zu erhöhen.

Das erklärt warum die Mehrzahl der nicht - vegetativen Diasporen von Pflanzen außerhalb der tropischen Gebiete nicht unmittelbar auskeimt, sondern eine mehr oder weniger lange Ruhephase durchläuft, die mit dem Begriff „Dormanz“ beschrieben wird.

Eine einheitliche Definition dieses Begriffs existiert in der Literatur nicht (Bewley & Black 1982). Allgemein betrachtet stellt die Dormanz eine Ruheperiode des Samens dar, die nicht nur das Überleben beim Vorhandensein von nicht optimalen Keimungsbedingungen sichert, sondern vielmehr eine Samenkeimung bei Bedingungen verhindert, die zwar ein Auskeimen ermöglichen, ein anschließendes Erreichen der Fortpflanzungsfähigkeit jedoch nicht garantieren können (Casanova & Brock 1990; Vleeshouwers et al. 1995). Dies impliziert, dass sowohl dormanzbrechende als auch keimungsinduzierende Bedingungen gegeben sein müssen, um den physiologischen Vorgang der Keimung in Gang zu setzen. Eine klare Trennung der Prozesse der Dormanz und der Keimung ist demnach unumgänglich. Thompson & Ooi (2010) brachten dies bereits im Titel ihrer Arbeit „To germinate or not to germinate: more than just a question of dormancy“ zum Ausdruck und wurden von vielen Autoren in dieser Auffassung unterstützt (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006; Penfield & King 2009).

Die Unterscheidung zwischen Dormanzbrechung und Keimungsinduktion wurde in der Literatur jedoch nicht immer vorgenommen. Anfangs wurde unter Dormanz das Ausbleiben der Samenkeimung trotz des Vorhandenseins optimaler Keimungsbedingungen (Temperatur, Wasser, Licht etc.) verstanden (Harper 1959). Obwohl dies eher die Unfähigkeit des Samens zum Auskeimen beschreibt, wurde diese Definition von zahlreichen Autoren übernommen (Vincent & Roberts 1977; Bewley & Black 1982). Vor allem an höheren Pflanzen wurden zahlreiche Studien zur Dormanz durchgeführt (Crocker 1916; Vegis 1964; Venable & Brown 1988): Diese Studien implizierten, dass Veränderungen des Dormanzzustandes vor allem zu einer Veränderung des Temperaturbereiches, innerhalb dessen eine Keimung erfolgt, führen. Eine Dormanzinduktion engt den Temperaturbereich der Keimungsinduktion ein, eine Dormanzbrechung weitet ihn aus.

Erst diverse weitere Untersuchungen sowie die Weiterentwicklung von Harper's Modell durch Simpson (1990) definierten die Samendormanz als adaptive Sameneigenschaft, die einen zeitlichen Verlust der Keimungsfähigkeit lebensfähiger Samen beinhaltet. Damit soll sichergestellt werden, dass das Auskeimen in einem Zeitraum erfolgt, der ein erfolgreiches Überleben bis zur Reproduktionsfähigkeit gewährleistet (Simpson 1990; Vleeshouwers et al.

1995). Die Dормanz stellt somit eine Zeitperiode dar, in der innerhalb des Samens verschiedene physiologische Prozesse ablaufen wie z.B. die Mobilisierung von Nahrungsressourcen oder Aktivierung/Deaktivierung von Genen, deren morphologischen Konsequenzen (z.B. Wachstum des Embryos) Voraussetzung für eine Keimungsinduktion sind (Baskin & Baskin 2014). Daraus folgt, dass Keimungsexperimente, die diese physiologischen Prozesse während der Dормanz nicht berücksichtigen, Gefahr laufen, ausschließlich den Dормanzzustand widerzuspiegeln, der z.B. durch vorangehende Lagerungsbedingungen beeinflusst wurde (Vleeshouwers et al. 1995).

Um Aussagen zur Samenkeimung treffen zu können, müssen demnach mehrere Faktoren in Betracht gezogen werden. Nach Baskin & Baskin (2014) muss vor allem der physiologische, morphologische und physikalische Samenzustand (a) zum Zeitpunkt der Samenreife und (b) zum Zeitpunkt der erfolgreichen Keimung berücksichtigt werden. Darüber hinaus ist die Berücksichtigung der Umweltbedingungen, die (c) für Änderungen des Samenzustandes verantwortlich sind und (d) während des Reife- und Keimungsprozesses im Habitat vorlagen, unabdingbar.

Zahlreiche Klassifizierungen der Dормanz können der Literatur entnommen werden. Die einfachste und abgrenzbarste Variante stellt dabei die Unterscheidung der Dормanz in Abhängigkeit des Entwicklungszeitpunktes dar. Zahlreiche Autoren unterscheiden hierbei eine primäre, die während der Samenentwicklung und –reifung induziert wird und eine sekundäre Samendormanz (Crocker 1916; Hilhorst & Karsson 1982; Hilhorst 1995; 1998; Kucera 2005; Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Die sekundäre Dормanz wird erst nach Verlassen der Mutterpflanze bei nicht optimalen Keimungsbedingungen induziert und setzt einen vorherigen Verlust der primären Dормanz voraus, wie Abbildung 15 (nach Hilhorst & Karsson 1982) impliziert.

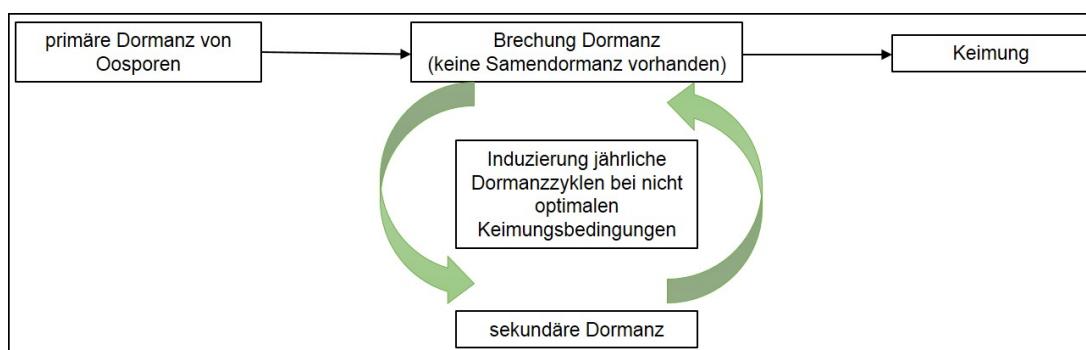


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Dормanzinduzierung in Abhängigkeit des Zeitpunktes der Auslösung (verändert nach Hilhorst & Karsson 1982).

Die bislang publizierten Untersuchungen konzentrieren sich vor allem auf die sekundäre Dormanz, zur primären Dormanz, vor allem von Oosporen, liegen nur sehr wenige Untersuchungen vor.

Das „physiologische Dormanz-Modell“ von Hilhorst (1993) stellt ein kombiniertes Modell zur Regulierung der sekundären Dormanz sowie der Keimungsinduktion dar. Es verknüpft Temperatur als dormanzbrechenden Faktor mit dem keimungsinduzierenden Einfluss der Verfügbarkeit von Nitrat und Licht. Der Grad der Dormanz sowie die Keimungsinduktion sind nach diesem Modell direkt abhängig von der verfügbaren Menge des Phytochrom-Rezeptors, der seinerseits die Reaktionsfähigkeit des Samens sowohl auf Licht und Nitrat beeinflusst als auch den Temperaturbereich, innerhalb dessen eine Keimung erfolgt, bestimmt. Phytochrom, ein Chromoprotein, das als Lichtsensor in vielen Pflanzen nachgewiesen wurde, kann durch eine lichtabhängige *cis/trans* - Isomerisierung des Chromophors von der physiologisch inaktiven P_r - Form in die aktive P_{fr} – Form umgewandelt werden. Die P_{fr} – Form ist Ausgangspunkt für eine anschließende Signaltransduktion (Vleeshouwers et al. 1995; Penfield & King 2009).

Wachstum, Reproduktion und damit auch die Tiefenverbreitung aquatischer Pflanzen ist abhängig von der Lichtverfügbarkeit (Barko & Filbin 1983; Canfield et al. 1985; Blindow 1992; Middelboe & Markager 1997; Schwarz et al. 2002). Es überrascht daher nicht, dass Licht auch für die Induktion der Keimung vieler Arten eine entscheidende Rolle spielt (Forsberg 1965; 1966; Vleeshouwers et al. 1995). Inwieweit sowohl die Lichtquantität als auch die Lichtqualität einen Einfluss auf die Keimung ausübt, ist von mehreren Faktoren abhängig. Hierzu zählen neben den genetischen Voraussetzungen auch die Position des Samens im Boden, die Absorptionsfähigkeit der Samenhülle, die Samengröße sowie der Dormanzzustand des Samens (Grime et al. 1981; Pons 2000). Auf Grund der zahlreichen Interaktionen des Lichtes mit weiteren ökologischen Aspekten, wie beispielsweise der Temperatur ist die Betrachtung des Einzelfaktors Licht deutlich erschwert. Dazu kommt, dass der Faktor „Licht“ auf verschiedene Weise wirksam werden kann – sowohl die Photonenflussdichte als auch die Spektralzusammensetzung des Lichtes sowie die Dauer der Lichteinwirkung besitzen potentiellen Signalcharakter. Untersuchungen ergaben, dass die Mehrzahl der terrestrischen Pflanzen Lichtkeimer sind. Hierzu zählt beispielsweise der Kopfsalat (*Latuca sativa*), an dem auch das Phytochromsystem entdeckt wurde (Borthwick et al. 1952; Reynolds & Thompson 1972; Pons 2000). Dem gegenüber stehen Pflanzenarten wie beispielsweise Lupinen (Kopyra & Gwóźdź 2003; Karaguzel et al. 2004) und Mais (Lambers & Posthumus 1980; Ogbogohodo et al. 2003), deren Samenkeimung durch Lichteinfall gehemmt wird (Dunkelkeimer; Lütte et al. 1989; Mohr & Schopfer 1992). Das Phänomen der Dunkelkeimer wird erklärbar, wenn die Wirkung der Wasserverfügbarkeit berücksichtigt wird. Gute Lichtverfügbarkeit signalisiert eine

Lage an der Oberfläche, die bei einsetzender Trockenheit schnell ein Absterben des Keimlings zur Folge haben kann. Bei aquatischen Makrophyten ist es eher die Position im Tiefengradienten, die über eine derartige Lichtabhängigkeit regulierbar wäre – in Gewässern mit stark schwankendem Wasserstand könnten so die austrocknungsgefährdeten oberen Bereiche vermieden werden bzw. gezielt Bereiche mit geringer Konkurrenzgefahr besiedelt werden.

Zum Keimungsverhalten aquatischer Makrophyten in Abhängigkeit des Lichtes und dem Dormanzzustand wurden bereits zahlreiche Untersuchungen publiziert. Hierzu zählen u.a. die Studien an *Stuckenia pectinata* (Syn. *Potamogeton pectinatus*; Kaplan 2008), *Potamogeton crispus* & *Potamogeton lucens* (Forsberg 1966; Steinhardt & Selig 2011), *Najas marina* (Forsberg 1965; 1966; Handley & Davy 2005) sowie zahlreichen Characeen-Arten (Forsberg 1965; Shen 1966; Proctor 1967; Takatori & Imahori 1971; Sokol & Stross 1986; Sabbatini et al. 1987; Casanova & Brock 1990; 1996; de Winton et al. 2000; 2004; Kalin & Smith 2007; Sederias & Coleman 2007; 2009).

Die Arbeiten stimmen darin überein, dass auch bei aquatischen Makrophyten ein artspezifisches Reaktionsverhalten auf dormanzbrechende und keimungsinduzierende Bedingungen vorliegt. Leider wird nicht in allen Fällen eine klare Trennung zwischen Dormanzbrechung und Keimungsinduktion vorgenommen. Darüber hinaus befasst sich die Mehrzahl der bezüglich Characeen publizierten Arbeiten mit Arten der Zonobiome II – IV (Walter & Breckle 1983), der Kenntnisstand über die hierzulande vorkommenden Arten ist gering. Eine artspezifische Aufklärung sowohl dormanzbrechender Faktoren als auch keimungsinduzierender Bedingungen von Characeen-Arten ist jedoch notwendig, um die Voraussagbarkeit der erfolgreichen Anwendung von Restaurierungsmaßnahmen, die den Aufbau von Makrophytenvegetationen in aquatischen Ökosystemen aus der existierenden ruhenden Diasporenbank miteinbeziehen, zu erhöhen. Nur so kann die Erfolgsaussicht und benötigte Zeitdauer von Restaurierungsmaßnahmen, die auf die Verwendung von Diasporenbanken setzen, abgeschätzt werden.

Das vorliegende Kapitel setzt sich daher die Identifizierung dormanzbrechender Faktoren für Oosporen ausgewählter Characeen Norddeutschlands zum Ziel. Neben der Untersuchung des Temperatureinflusses auf die primäre Dormanze von Oosporen soll ebenfalls die vorherige Austrocknung, wie es für Arten der Zonobiome II – IV angewendet wird, als Dormanzbrecher untersucht werden. Da der Erfolg der Dormanzbrechung über Keimungsexperimente repräsentiert wird, stellt sich darüber hinaus die Frage nach dem Einfluss keimungsinduzierender Bedingungen, um eine klare Abgrenzung zwischen den Prozessen der Keimung und der Dormanzbrechung zu gewährleisten. Neben dem Einfluss des verwendeten

Substrates wird im zweiten Teil des Kapitels speziell der Einfluss des Lichtes (in Abhängigkeit der Lichtintensität) auf das Auskeimen von Oosporen aus Sedimentproben geprüft.

3.2.2 Ergebnisse

3.2.2.1 Dormanzbrechung

Für die Untersuchung der Faktoren, die zur Brechung der primären Dormanz von Oosporen führen, erfolgte eine Vorbehandlung mittels Temperatur (A) und Austrocknung (C), ggf. in Kombination mit einer mikrobiell aktiven Phase (B). Im Anschluss daran wurde die Keimungsfähigkeit untersucht. Die Ergebnisse dieses mehrdimensionalen Ansatzes sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Die Untersuchung konzentrierte sich dabei auf die in Norddeutschland vorkommenden Arten *Chara baltica*, *Chara canescens*, *Chara hispida*, *Chara papillosa* und *Lychnothamnus barbatus*.

Vorbehandlung zur Brechung der primären Dormanz

Die Anwendung einer alleinigen Vorbehandlung der Oosporen durch den Faktor der Temperatur (A) zeigte bei den untersuchten Arten *Chara baltica*, *Chara hispida* und *Chara papillosa* kaum Auswirkung auf die Keimungsfähigkeit der Oosporen. Sowohl die Einwirkung von Frost (-5°C) als auch der Einfluss höherer Temperaturen (5°C und 15°C) bewirkten keine Keimungsinduktion der Oosporen von *Chara baltica* und *Chara hispida*. Im Gegensatz dazu keimten zumindest 12% der Oosporen von *Chara papillosa* nach mehrmonatiger Temperatureinwirkung von 5°C.

Neben dem Faktor der Temperatur stellt die Austrocknung von Oosporen ebenfalls eine Möglichkeit zur Brechung der primären Dormanz dar. Dies wurde im Rahmen dieser Studie an den Arten *Chara papillosa*, *Chara canescens* und *Lychnothamnus barbatus* untersucht. Grundsätzlich kann festgestellt werden, dass das Keimungsverhalten der untersuchten Arten unterschiedlich durch vorherige Austrocknung beeinflusst wird. *Chara papillosa* keimte nach vorheriger Austrocknung der Oosporen nicht aus während Oosporen von *Chara canescens* (48% Keimungserfolg) und *Lychnothamnus barbatus* (66% Keimungserfolg) nach dieser Vorbehandlung auskeimten.

Eine Kombination aus Temperaturbehandlung und mikrobiell aktiver Phase (B) - Lagerung der Oosporen mit Hüllmaterial in Habitatwasser, ergänzt durch Zugabe von *E.coli* & Glukose – hatte auf die Keimung von Oosporen der Art *Chara hispida* keinerlei Einfluss (0% Keimungserfolg) während für *Chara canescens* hier eine Keimungsrate von 20% erreicht wurde.

Keimungsprozess

Die erfolgreiche Dormanzbrechung von Oosporen kann über deren Keimungsfähigkeit dargestellt werden. Hierbei wurde ausschließlich die Art des Nährmediums variiert (Abbildung 4), um notwendige Bedingungen für den Keimungsprozess zu identifizieren. Es wurde zwischen sedimentbasierten Ansätzen (α_1), Ansätzen auf Festagar (β) und in destilliertem Wasser (γ) unterschieden. Hinzukommend wurde eine Erweiterung des Nährstoffangebots durch Zusatz organischen Materials in Teilen der sedimentbasierten Ansätze durchgeführt (α_2).

Grundsätzlich zeigte sich, dass sedimentbasierte Ansätze (α_1), die ausschließlich aus einer Kombination von reinem Seesand und Phosphat bestehen, keinerlei Keimung der Oosporen hervorrufen. Sowohl die Arten *Chara baltica*, *Chara hispida* und *Chara papillosa* als auch *Chara canescens* und *Lychnothamnus barbatus* zeigten in den jeweiligen Ansätzen eine Keimungsfähigkeit von 0%. Hierbei spielte es keine Rolle, ob die Oosporen zuvor durch Temperatureinfluss oder durch Austrocknung vorbehandelt wurden.

Der Zusatz von natürlichem organischem Material zum Kultursediment resultiert in einer Erweiterung des Nährstoffangebots, was sich positiv auf die Keimungsfähigkeit der Oosporen auswirken sollte. Sowohl für *Chara papillosa* als auch für *Chara canescens* konnten durch diese Ergänzung Keimungsraten von bis zu 60% erzielt werden. Hierbei ist es jedoch erforderlich, eine Differenzierung nach der Art der Vorbehandlung vorzunehmen. Sowohl für *Chara papillosa* als auch für *Chara canescens* liegt die Keimungsfähigkeit nach Austrocknung der Oosporen höher als nach alleiniger Temperaturvorbehandlung. Oosporen der Art *Chara papillosa* keimten zu 12% nach Temperaturbehandlung und zu 44-60% nach Austrocknung; für *Chara canescens* wurde ein Keimungserfolg von 20-32% nach Temperaturvorbehandlung und von 33-48% nach Austrocknung erzielt.

Auf Festagar keimten Oosporen von *Chara canescens* prinzipiell nicht; dabei spielte es keine Rolle, ob der Agar mittels Mineralmedium nach Wüstenberg et al. (2011) oder mittels organischem Material angesetzt wurde.

Interessanterweise keimten die stark verkalkten Oosporen der Art *Lychnothamnus barbatus*, nach vorheriger Trocknung, bei Lagerung in destilliertem Wasser und unter Reduzierung der Lichtintensität bei Raumtemperatur (20°C) aus und bildeten innerhalb des Eppendorf-Gefäßes zahlreiche kleine Keimlinge. Insgesamt ergibt sich bei 33/50 keimenden Oosporen eine Keimfähigkeit von 66%. Dieses Phänomen konnte bei keiner anderen Art beobachtet werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass unabhängig von der Art der Vorbehandlung eine Keimfähigkeit der Oosporen ausschließlich durch Erweiterung des Nährstoffangebots (Zusatz von organischem Material) erzielt werden konnte. Die Keimungsraten der vorab getrockneten Oosporen liegen dabei grundsätzlich höher als die der temperaturbehandelten Oosporen. Keimungsansätze vorab behandelter Oosporen auf reinem Kultursediment (ohne organischen Zusatz) und Festagar ergaben im Gegensatz hierzu keinerlei Keimung. Grundsätzlich zeigt sich auch, dass eine alleinige Vorbehandlung der Oosporen durch Temperatureinfluss keine Auswirkung auf die Keimfähigkeit der untersuchten Arten hat; die alleinige Vorbehandlung durch Austrocknung der Oosporen zeigt zu mindestens im Falle von *Chara papillosa* und *Lychnothamnus barbatus* positive Effekte auf die Keimungsverhalten. Schlussfolgernd zeigt sich, dass sowohl dormanzbrechende Faktoren als auch Bedingungen, die den Keimungsprozess induzieren von entscheidender Bedeutung für das Auskeimen von Oosporen sind.

Tabelle 15: Zusammenfassung der Ergebnisse der Keimungsfähigkeit [%] als Repräsentation der Brechung der primären Dormanz. Die Buchstabenkombinationen der jeweiligen Vorbehandlung & Keimungsbedingungen entsprechen dem Versuchsschema in Abbildung 4. * Stravinskas (2014)

Art_Standort	Vorbehandlung	Keimungsprozess n (Oosporen)	Keimungsfähigkeit [%]
<i>Chara baltica</i> _Mallada_Spanien	A1 B0 C0	α1 β0 γ0	10
	A2 B0 C0	α1 β0 γ0	10
	A3 B0 C0	α1 β0 γ0	10
<i>Chara hispida</i> _Gummanz*_Deutschland	A0 B0 C0	α1 β0 γ0	30
	A0 B1 C0	α1 β0 γ0	30
	A1 B0 C0	α1 β0 γ0	30
	A1 B1 C0	α1 β0 γ0	30
<i>Chara hispida</i> _Gummanz_Deutschland	A2 B0 C0	α1 β0 γ0	15
	A2 B1 C0	α1 β0 γ0	15
<i>Chara papillosa</i> _Röblingen_Deutschland	A2 B0 C0	α1 β0 γ0	25
	A2 B0 C0	α2 β0 γ0	25
	A4 B0 C1	α1 β0 γ0	25
	A4 B0 C1	α2 β0 γ0	25
	A4 B0 C1	α2 β0 γ0	44
	A2 B1 C0	α1 β0 γ0	0
<i>Chara canescens</i> _Neusiedler Seewinkel _Österreich	A2 B0 C0	α2 β0 γ0	25
	A2 B0 C1	α2 β0 γ0	25
	A2 B0 C1	α0 β1 γ0	40
	A2 B0 C1	α0 β1 γ0	0
<i>Chara canescens</i> _Ostsee_Deutschland	A3 B0 C0	α1 β0 γ0	15
	A3 B1 C0	α2 β0 γ0	15
	A3 B0 C1	α1 β0 γ0	15
	A3 B1 C1	α2 β0 γ0	15
	A3 B1 C1	α2 β0 γ0	40
	A3 B1 C1	α0 β1 γ0	33,33
	A3 B1 C1	α0 β1 γ0	0
<i>Lychnothamnus barbatus</i> _Lake Balsys_Litauen	A2 B0 C0	α1 β0 γ0	25
	A2 B0 C1	α0 β0 γ1	50
			66

3.2.2.2 Keimungsverhalten in Abhängigkeit der Lichtintensität

Für die Untersuchungen der Lichtabhängigkeit der Oosporenkeimung kamen Sedimentproben von sechs verschiedenen Standorten zum Einsatz. Insgesamt entwickelten sich 1546 Individuen (Abbildung 16-1). *Chara contraria* wies mit 32,28% den höchsten Anteil an diesen Individuen auf, gefolgt von *Chara canescens* (17,27%), *Chara baltica* / var. *liljebladii* (16,17%) *Chara globularis* (11,32%), *Nitella mucronata* (7,37%), *Nitellopsis obtusa* (5,17%), *Nitella flexilis/opaca* (3,95%), *Chara filiformis* (2,20%), *Lychnothamnus barbatus* (1,75%), *Tolypella glomerata* (1,55%), *Chara vulgaris* (0,65%) und *Chara aspera* mit 0,32% (Tabelle 16).

Da diese Untersuchungen mit natürlichen Diasporenbanken durchgeführt wurden, können aus diesen Zahlen keine Rückschlüsse zur generellen Keimungsfähigkeit gezogen werden. Die Zahlen ergeben sich aus einer Kombination von Diasporenzahl im Sediment und deren Vitalität, Aussagen sind daher an dieser Stelle nur im Vergleich zwischen den einzelnen Lichtstufen, denen die Sedimente ausgesetzt wurden, möglich.

Auf Grund des Vorhandenseins von generativen (Oosporen) als auch vegetativen Diasporen (Bulbillen und Sprossknoten) in den Diasporenbanken, wird ebenfalls eine Unterscheidung zwischen der Reproduktionsart durchgeführt, die in Tabelle 16 in den Spalten generativ (Oosporen) und vegetativ (Bulbillen & Sprossknoten) dargestellt ist.

Die relativen Häufigkeiten, dargestellt in Abbildung 16-2, belegen artspezifische Lichtreaktionen in Bezug auf das Keimungsverhalten. Eine klare Lichtabhängigkeit ist bei *Lychnothamnus barbatus*, *Nitella flexilis/opaca*, *Nitella mucronata*, *Tolypella glomerata* sowie *Chara filiformis* und *Chara aspera* zu beobachten. Im Gegensatz dazu zeigen *Chara canescens*, *Chara contraria*, *Chara vulgaris* und *Chara globularis* keine Anzeichen einer Lichtabhängigkeit.

Nitellopsis obtusa entwickelte sich ebenfalls unter allen drei Lichtintensitäten und ist damit der Gruppe der „Lichtunabhängigen“ zuzuordnen. Im Gegensatz zu den *Chara*-Arten erfolgte hier aber die Keimung ausschließlich aus Bulbillen, eine Oosporenkeimung wurde nicht beobachtet.

Tabelle 16: Übersicht der Gesamtreproduktion der einzelnen Arten in Abhängigkeit der Lichtintensität von 15-20µmol Photonen s⁻¹ m⁻², 30-40µmol Photonen s⁻¹ m⁻² und 110-130µmol Photonen s⁻¹ m⁻², sowie ausschließlich die Reproduktion aus Oosporen. Dargestellt sind jeweils die absoluten Individuenzahlen sowie deren relative Häufigkeiten in %.

Art	Gesamtreproduktion		Reproduktionsweise				Lichtintensität [µmol Photonen s ⁻¹ m ⁻²]	
	absolute Anzahl (n = 1546)	rel. Häufigkeit [%]	generativ (Oosporen)		vegetativ (Bulbillen & Sprossknoten)			
			absolute Anzahl (n = 780)	rel. Häufigkeit [%]	absolute Anzahl (n = 511)	rel. Häufigkeit [%]		
<i>Chara aspera</i> (n=5)	0	0	0	0	0	0	15-20	
	4	80	2	40	2	40	30-40	
	1	20	0	0	1	20	110-130	
<i>Chara baltica /</i> <i>liljebladii</i> (n=250)	75	30	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	15-20	
	175	70	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	30-40	
	0	0	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	110-130	
<i>Chara canescens</i> (n=267)	76	28,46	75	30,99	0	0	15-20	
	116	43,45	114	47,11	0	0	30-40	
	75	28,09	53	21,90	0	0	110-130	
<i>Chara contraria</i> (n=499)	180	36,07	157	31,48	23	4,61	15-20	
	153	30,66	81	16,23	72	1,40	30-40	
	166	33,27	102	20,44	64	12,83	110-130	
<i>Chara filiformis</i> (n=34)	34	100	34	100	0	0	15-20	
	0	0	0	0	0	0	30-40	
	0	0	0	0	0	0	110-130	
<i>Chara globularis</i> (n=175)	103	58,86	43	24,57	60	34,29	15-20	
	37	21,14	28	16	9	5,14	30-40	
	35	20	13	7,43	22	12,57	110-130	
<i>Chara vulgaris</i> (n=10)	3	30	3	30	0	0	15-20	
	4	40	4	40	0	0	30-40	
	3	30	3	30	0	0	110-130	
<i>Lychnothamnus</i> <i>barbatus</i> (n=27)	0	0	0	0	0	0	15-20	
	27	100	17	62,96	10	37,04	30-40	
	0	0	0	0	0	0	110-130	
<i>Nitella flexilis / opaca</i> (n=81)	0	0	0	0	0	0	15-20	
	5	8,2	0	0	5	8,2	30-40	
	56	91,8	0	0	56	91,8	110-130	
<i>Nitella mucronata</i> (n=114)	0	0	0	0	0	0	15-20	
	0	0	0	0	0	0	30-40	
	114	100	30	26,32	84	73,68	110-130	
<i>Nitellopsis obtusa</i> (n=80)	20	25	0	0	20	25	15-20	
	7	8,75	0	0	7	8,75	30-40	
	53	66,25	1	1,25	52	65	110-130	
<i>Tolympella glomerata</i> (n=24)	0	0	0	0	0	0	15-20	
	0	0	0	0	0	0	30-40	
	24	100	0	0	24	100	110-130	

Innerhalb der Gruppe der „Lichtabhängigen“ ergaben sich Unterschiede bezüglich des Präferenzbereiches. *Tolypella glomerata*, *Nitella mucronata* und *Nitella flexilis/opaca* keimten ausschließlich bei der höchsten Lichtintensität ($110\text{-}130\mu\text{mol Photonen s}^{-1}\text{ m}^{-2}$).

Lychnothamnus barbatus hingegen keimte ausschließlich bei einer Lichtintensität von $30\text{-}40\mu\text{mol Photonen s}^{-1}\text{ m}^{-2}$. Mit 80% zeigt auch *Chara aspera* eine Präferenz für diesen Intensitätsbereich, die absolute Individuenanzahl ist allerdings sehr gering und erlaubt keine belastbaren Aussagen.

Chara filiformis keimte nur unter der geringsten Lichtintensität ($15\mu\text{mol Photonen s}^{-1}\text{ m}^{-2}$), bei beiden Stufen höherer Intensität wurde keine Keimung beobachtet.

Chara globularis und *Nitellopsis obtusa* keimten bei allen 3 angebotenen Lichtintensitäten. Beide Arten wiesen allerdings „Präferenzbereiche“ auf, in dem eine erhöhte Keimungsrate zu beobachten war. Für *Chara globularis* liegt dieser Präferenzbereich, bei dem ca. 60% der Keimlinge auftraten, bei $15\text{-}20\mu\text{mol Photonen s}^{-1}\text{ m}^{-2}$. Nur je 20% der Keimlinge verteilen sich auf höhere Lichtintensitäten. Wird die Reproduktionsart (geschlechtlich vs. vegetativ) berücksichtigt, zeigt sich ein weiteres Muster (Tabelle 16): bei der niedrigsten Lichtintensität stammen 25% der Keimlinge aus Oosporen, wohingegen bei der mittleren Lichtintensität 16% und bei der höchsten lediglich 7% der Individuen aus Oosporen entstanden.

Für *Nitellopsis obtusa* ist mit 66% eine Präferenz für die höchste Lichtintensität erkennbar; Aussagen zur Reproduktionsart können nicht getroffen werden, da alle Keimlinge aus vegetativen Diasporen stammten.

Chara contraria zeigt bei der Betrachtung des gesamten Keimungspotentials eine annähernd gleichmäßige Verteilung auf alle Lichtintensitäten, was eine lichtunabhängige Reaktion impliziert. Die Untersuchungen der Reproduktionsart zeigen jedoch, dass hier Unterschiede bestehen. Keimlinge aus generativen Diasporen dominieren in allen Lichtstufen mit einem klaren Maximum bei niedrigster Lichtintensität. Während bei der mittleren und höchsten Intensität zwischen 17% und 20% der gekeimten Individuen aus Oosporen entstanden, steigt dieser Wert bei der niedrigsten Intensität auf 31% an. Im Gegensatz dazu liegen die Werte der vegetativen Reproduktion insgesamt niedriger; ein Maximum von 13% der gekeimten Individuen aus vegetativen Diasporen wird bei höchster Lichtintensität erzielt.

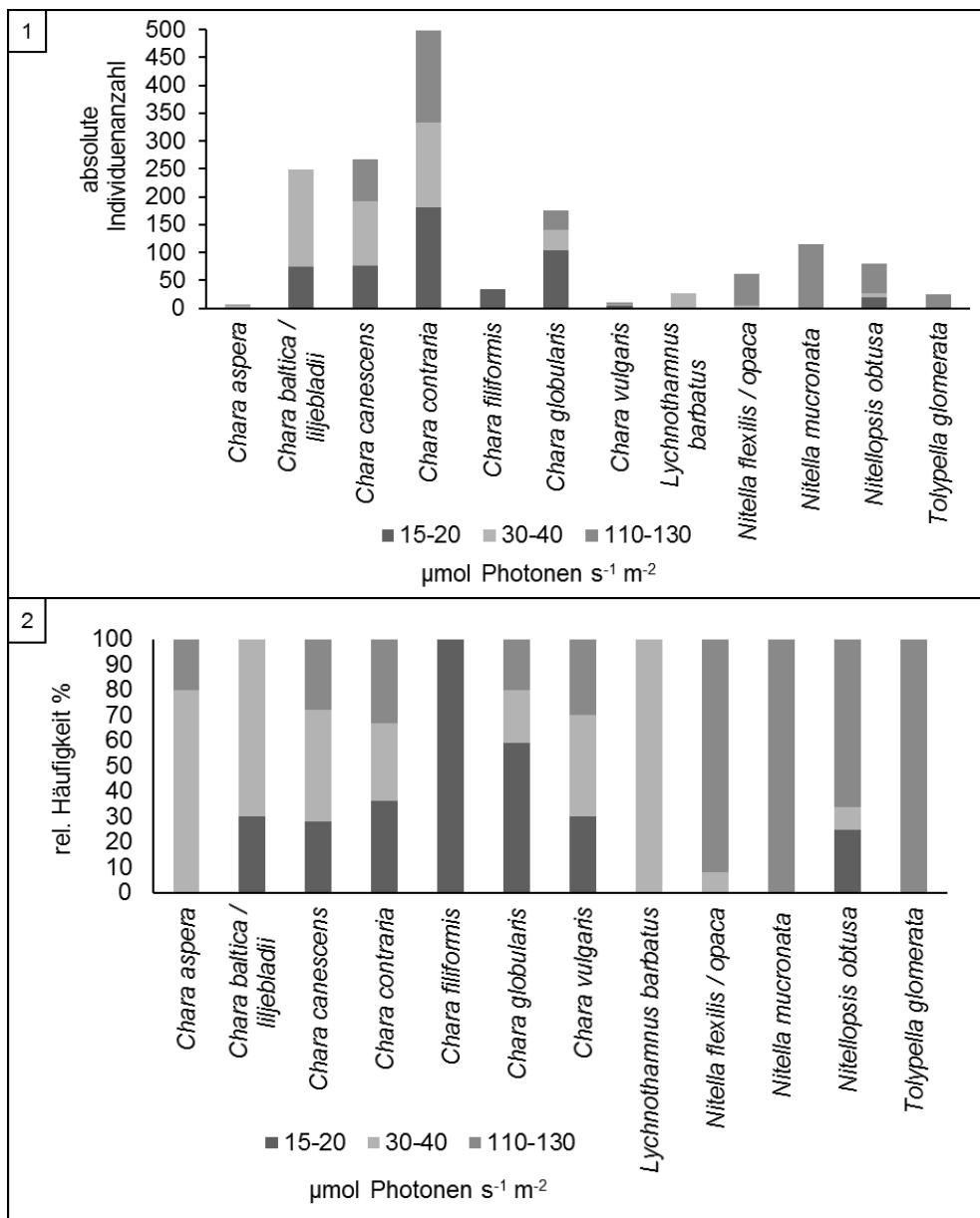


Abbildung 16: Keimungspotential in Abhängigkeit der Lichtintensität (standortunabhängig). (1) Darstellung der absolut gekeimten Individuenzahlen pro Art bei 15-20 $\mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (dunkelgrau); 30-40 $\mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (hellgrau) und 110-130 $\mu\text{mol Photon s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (mittelgrau) sowie (2) deren relative Häufigkeiten [%] in Abhängigkeit der Lichtintensität.

Für die Arten *Chara filiformis*, *Lychnothamnus barbatus*, *Tolympella glomerata*, *Nitella mucronata* und *Nitella flexilis/opaca* sind auf Grund der Eindeutigkeit des Keimungsverhaltens in Abhängigkeit der Lichtintensität keine weiteren standortabhängigen Einzelbetrachtungen notwendig. Diese Arten keimen mit Werten von 92% bis 100% unter den jeweiligen Lichtintensitäten aus (Abbildung 16-2).

Für die Arten *Chara canescens*, *Chara aspera* und *Chara vulgaris* können keine standortabhängigen Einzelbetrachtungen durchgeführt werden, da sie nur in Sedimenten jeweils eines Standortes auftraten.

Für *Chara contraria*, *Chara globularis* und *Nitellopsis obtusa* dagegen kann ein Vergleich des Keimungsverhaltens zwischen den Standorten vorgenommen werden; die nachfolgenden Betrachtungen sollen evtl. vorhandene populationsspezifische Unterschiede im Keimungsverhalten analysieren.

Chara contraria

Wie in Tabelle 16 ersichtlich, zeigt *Chara contraria* als Art eine leichte Präferenz für die geringste Lichtintensität, was vor allem durch die Ergebnisse der Standorte Lake Balsys und Obersee bedingt ist. Dieses Ergebnis lässt sich aber nicht auf die beiden anderen Standorte anwenden; im Borkener See und im Großen Goitzschsee ist keine klare Präferenz erkennbar (Abbildung 17). Hier ist eine klare Standortabhängigkeit des Keimungsverhaltens in Abhängigkeit vom Lichtangebot zu erkennen.

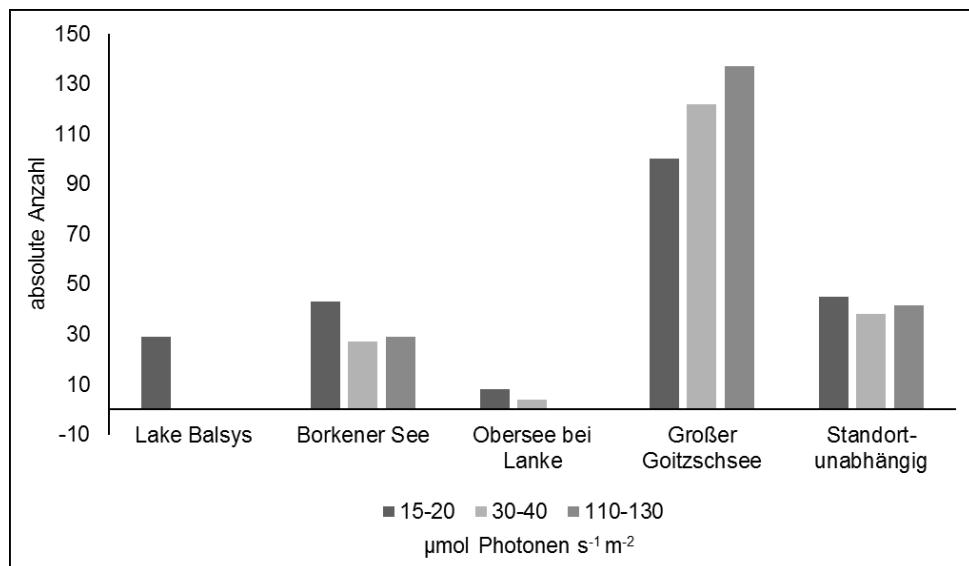


Abbildung 17: Anzahl an *Chara contraria*-Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. Dargestellt ist die absolute Anzahl an Keimlingen pro Standort sowie die mittlere Häufigkeit der Gesamtanzahl an Keimlingen (Standort-unabhängig).

Chara globularis

Für *Chara globularis* ist eine klare Präferenz der geringsten Lichtintensität erkennbar, an allen Standorten ist der Keimungserfolg bei mittlerer und höherer Lichtintensität deutlich geringer.

Bei der geringsten Lichtintensität wurden zwischen 56% (Obersee) und 80% (Lake Balsys) der Keimlinge ausgebildet (Abbildung 18). Die Standortabhängigkeit ist nur gering ausgeprägt. Im Obersee, der mit 56% die am geringsten ausgeprägte Präferenz aufweist, ist nur in der unmittelbar anschließenden Lichtstufe ein Keimungserfolg zu beobachten.

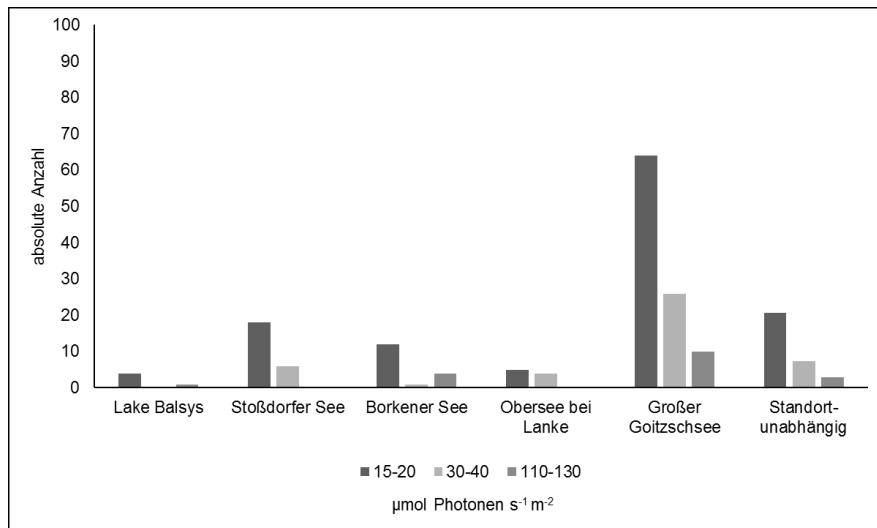


Abbildung 18: Anzahl an *Chara globularis*-Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. Dargestellt ist die absolute Anzahl an Keimlingen pro Standort sowie die mittlere Häufigkeit der Gesamtanzahl an Keimlingen (Standort-unabhängig).

Nitellopsis obtusa

Für *Nitellopsis obtusa* liegen nur Daten von 2 Standorten vor. Da nur 2 Individuen aus der Sedimentprobe des Lake Balsys auskeimten, ist keine belastbare Aussage zu Standortabhängigen möglich.

Das Keimungsverhalten der Oosporen vom Stoßdorfer See zeigt eine Präferenz hoher Lichtintensität ($110\text{-}130 \mu\text{mol Photonen s}^{-1} \text{m}^{-2}$); bei dieser Lichtintensität entwickelten sich 53% der insgesamt ausgetriebenen Pflanzen ($n=28$), während sich bei der mittleren Lichtintensität ($30 - 40 \mu\text{mol Photonen s}^{-1} \text{m}^{-2}$) nur 9% ($n=5$) der Individuen entwickelten (Abbildung 19). Die Keimung von *Nitellopsis obtusa* erfolgte in beiden Proben ausschließlich aus Bulbillen; eine Entwicklung aus Oosporen wurde nicht beobachtet.

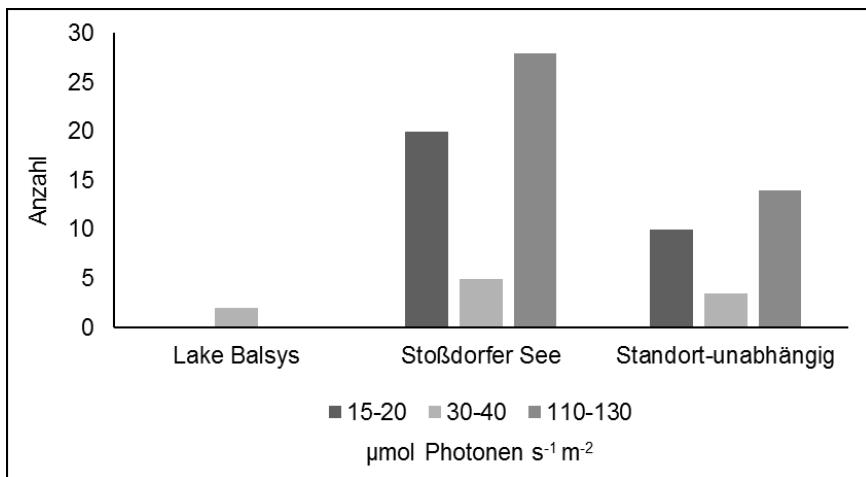


Abbildung 19: Anzahl an *Nitellopsis obtusa*-Keimlingen aus Sedimentproben in Abhängigkeit der Lichtintensität. Dargestellt ist die absolute Anzahl an Keimlingen pro Standort sowie die mittlere Häufigkeit der Gesamtanzahl an Keimlingen (Standort-unabhängig).

3.2.3 Diskussion

Die bislang publizierten Untersuchungen (sowohl an höheren Pflanzen als auch an aquatischen Makrophyten) stimmen darin überein, dass der Dormanzzustand von Diasporen durch Temperaturbehandlung beeinflussbar ist (Vegis 1964; Forsberg 1965; 1966; Bewley & Black 1882; Penfield & King 2009). Allerdings ist Temperatur nicht der einzige Faktor, der hier berücksichtigt werden muss; die Debatte um das Modell von Vegis (1964), der ausschließlich den abiotischen Faktor der Temperatur betrachtete, führte zu einer Erweiterung des betrachteten Faktorenkomplexes durch Hilhorst (1993). Das von Hilhorst (1993) entwickelte „physiologische Dormanzmodell“ stellt eine Verbindung zwischen sekundärer Dormanz und Keimungsinduktion her. Es wird hierbei davon ausgegangen, dass der Zustand der Dormanz in direkter Verbindung zur vorhandenen Menge von Phytochromrezeptoren steht. Es bezieht dadurch den Einfluss von Temperatur, Licht- und Nitratverfügbarkeit mit ein. Abbildung 20 zeigt den schematischen Ablauf der physiologischen Prozesse innerhalb der Diaspore. Tiefe Temperaturen bedingen zunächst ein Absenken des Dormanzlevels und initiieren damit die Bildung zunächst inaktiver Phytochromrezeptoren, die in die Plasmamembran eingelagert werden (Dormanzbrechung). Dieser Synthese-Prozess ist noch reversibel; hohe Anfangstemperaturen können in dieser Phase auch zu beschleunigtem Abbau des Rezeptors führen, sodass die Dormanz erhalten bliebe. Erfolgt nach Brechung der Dormanz jedoch ein moderater Temperaturanstieg, akkumulieren sich die Phytochromrezeptoren an der Oberfläche der Plasmamembran. Diese Verschiebung der Rezeptoren stellt in diesem Modell die Voraussetzung für den Prozess der Keimungsstimulierung dar, da ansonsten keine

Aktivierung der Rezeptoren möglich wäre. Die Aktivierung der Photorezeptoren findet durch Einfluss langwelligen Lichtes statt; welches die inaktive P_r – Form in die physiologisch aktive P_{fr} – Form, die die Signaltransformationskette in Gang setzt, umwandelt. Über Giberellinsynthese wird dann die Keimung induziert (Hilhorst 1993; Vleeshouwers et al. 1995; Penfield & King 2009).

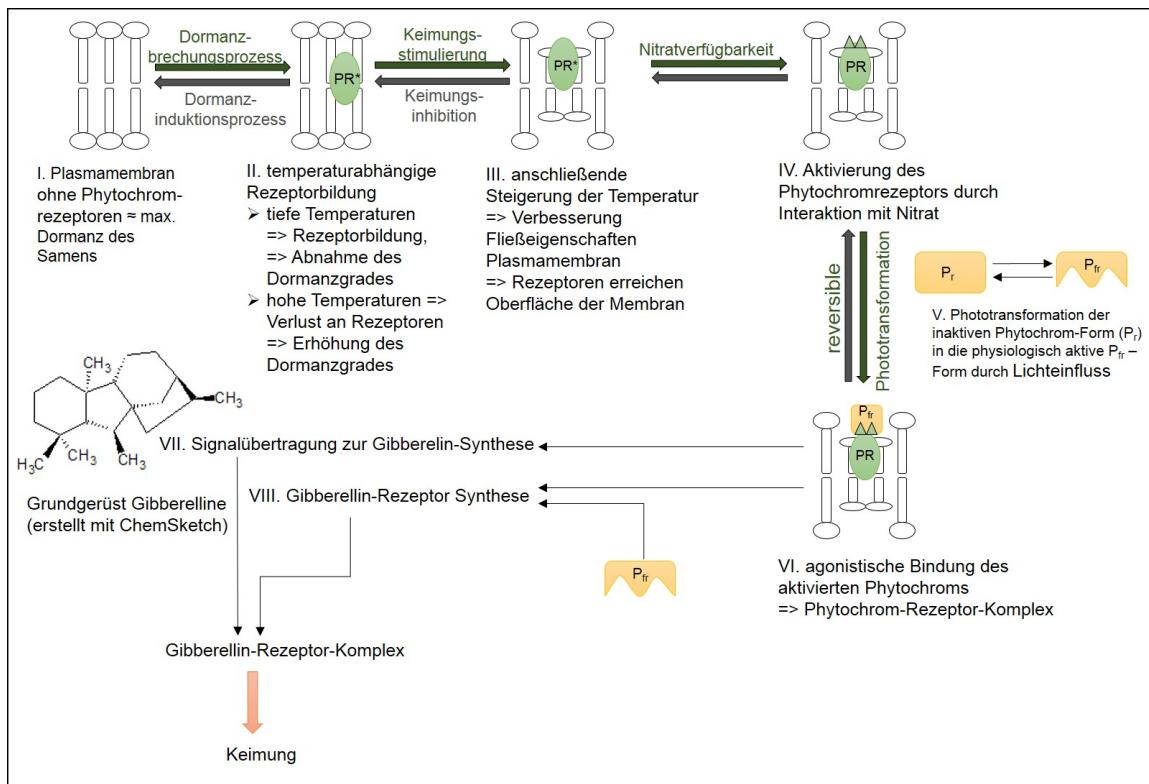


Abbildung 20: schematische Darstellung des hypothetisch physiologischen Dormanzmodells nach Hilhorst (1993) und Vleeshouwers et al. (1995).

Die vorliegenden Untersuchungen zur Lichtabhängigkeit von Dormanzerbrechung bzw. Keimungsinduktion von Characeen kamen hinsichtlich des Lichteinflusses zu widersprüchlichen Ergebnissen (u.a. Forsberg 1965; 1966; Imahori & Iwasa 1965; Proctor 1967). So konnte beispielsweise durch Forsberg (1965) und Proctor (1967) eine Erhöhung der Keimungsfähigkeit durch ausreichend Lichtverfügbarkeit nachgewiesen werden, wohingegen Shen (1966) und de Winton et al. (2004) dies nicht nachweisen konnten. Die Ergebnisse von Takatori & Imahori (1971), die die Keimungsfähigkeit in Abhängigkeit der Lichtqualität untersuchten, implizieren jedoch zumindest das Vorhandensein des Phytochromsystems in Oosporen als auch dessen Beteiligung am Prozess der Keimungsinduktion.

Der zeitliche Versatz im Auftreten von Characeen in den Gewässern weist bereits darauf hin, dass artspezifische Unterschiede sowohl bezüglich Dormanzerbrechung als auch hinsichtlich der Keimungsinduktion vorhanden sein müssen (Wood 1950; Casanova & Brock 1990; Bonis

& Grillas 2002). In diesem Zusammenhang wurden bereits zahlreiche Untersuchungen durchgeführt die zeigen konnten, dass Oosporen einerseits eine primäre Dormanz durch Verlassen der Mutterpflanze erlangen (Forsberg 1965; Shen 1966) und andererseits auch Unterschiede im Grad des Dormanz bestehen (Sederias & Coleman 2009). Frisch entnommene Oosporen besitzen ein höheres Dormanzelevel als jene, die Sedimenten entnommen wurden (Forsberg 1965; Shen 1966; Takatori & Imahori 1971; Sokol & Stross 1986; Casanova & Brock 1996). Dies ist mit dem inhibitorischen Effekt, der durch eine erhöhte Abscisinsäure-Konzentration beim Verlassen der Mutterpflanze ausgelöst wird, erklärbar. Frische Oosporen weisen eine höhere Abscisinsäure-Konzentration auf, die während der Lagerung im Sediment sukzessiv reduziert wird (Sabbatini et al. 1987; Sederias & Coleman 2007; Penfield & King 2009). Ein längeres Verweilen im Sediment kann allerdings auch zur Folge haben, dass der Zyklus der sekundären Dormanz mehrfach durchlaufen wird mit der Folge, dass das „durchschnittliche“ Dormanzelevel sinkt. Das Dormanzelevel ist demnach nicht nur von den Umweltbedingungen des jeweiligen Standortes abhängig, sondern auch vom Alter der Oosporen.

Eine Vielzahl von Untersuchungen beschäftigen sich mit der Identifikation dormanzbrechender und keimungsinduzierender Faktoren von *Nitella*-Arten (Sokol & Stross 1986; Casanova & Brock 1990; 1996; de Winton et al. 2000; Kalin & Smith 2007) sowie *Chara*-Arten der Zonobiome II - IV (z.B. *Chara zeylanica*: Forsberg 1965; Shen 1966; Proctor 1967; *Chara australis*: Casanova & Brock 1996; de Winton et al. 2004; *Chara corallina*: Casanova & Brock 1990; de Winton et al. 2000). Die Anzahl der Untersuchungen an *Chara*-Arten, die hierzulande vorkommen, ist dagegen überschaubar; nur für *Chara globularis* (Proctor 1967; de Winton et al. 2000; 2004), *Chara contraria* (Shen 1966; Proctor 1967; Sabbatini et al. 1987; Steinhardt & Selig 2011), *Chara vulgaris* (Kalin & Smith 2007; Sederias & Coleman 2007; 2009; Steinhardt & Selig 2011) und *Chara canescens* (Ernst 1921; Steinhardt & Selig 2011) liegen Publikationen zu diesem Komplex vor. In allen Fällen erschwert die fehlende klare Abtrennung zwischen den Prozessen Dormanz und Keimung den eindeutigen Vergleich mit den hier vorgestellten Daten.

Trotz dieser Schwierigkeit können aus den bereits publizierten Daten einige grundsätzliche Aussagen zum Einfluss äußerer Faktoren auf den Keimungserfolg abgeleitet werden. Die folgenden Faktoren wurden als Einflussgrößen untersucht:

- thermale Stratifikation (u.a. Forsberg 1965; Casanova & Brock 1996),
- Trocknung von Oosporen (u.a. Proctor 1967; Casanova & Brock 1996),
- Saisonalität (Sokol & Stross 1986),

- Vorbehandlung durch Wachstumsinhibitoren (Sabbatini et al. 1987),
- wechselnde Redoxbedingungen im Sediment (u.a. Forsberg 1965; Bonis & Lepart 1994) sowie
- der Einfluss der Lichtqualität als möglicher Keimungsauslöser (u.a. Forsberg 1965; Takatori & Imahori 1971; Sokol & Stross 1986).

Als effektivste Methode zur Brechung der Dормanz sowie der darauf folgenden Keimungsinduktion erwies sich im Großteil dieser Studien eine Kältebehandlung der Oosporen, gefolgt von einer Bestrahlung mit langwelligem Licht. Die damit ausgelösten Effekte weisen allerdings eine Artspezifität auf. Selbst bei Beschränkung auf Experimente mit frisch entnommenen Oosporen (primäre Dормanz) werden diese Unterschiede sichtbar; so wurde die Dормanz von *Chara vulgaris*-Oosporen durch tiefe Temperaturen gebrochen, während diese Vorbehandlung bei *Nitella cristata* var. *ambigua* eine Inhibierung zur Folge hatte (Sederias & Coleman 2007; 2009).

Artspezifische Reaktionen wurden auch bezüglich der Reaktion auf vorherige Trocknung beobachtet. Eine Trocknung der Oosporen von *Nitella cristata* var. *ambigua* erhöhte die Keimungsrate (Casanova & Brock 1996), während für *Chara globularis* (Proctor 1960) und *Nitella sonderi* (Casanova & Brock 1996) keinerlei Einfluss dieses Faktors nachgewiesen werden konnte.

Für die Art *Chara contraria* liegen widersprüchliche Ergebnisse vor: während Sabbatini et al. (1986) Licht als Dормanzbrecher identifizierten, stellte Shen (1966) fest, dass dieses keinerlei Einfluss auf die Keimung hat. Allerdings muss hier berücksichtigt werden, dass die Arbeiten sich in der Methodik, vor allem bezüglich der Vorbehandlung der Oosporen, stark unterscheiden. Ein direkter Vergleich wird damit unmöglich, evtl. sind hier auch noch Effekte der primären Dормanz frischer Oosporen zu berücksichtigen.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Ernst (1921) und Proctor (1967), die für *Chara*-Arten eine Trockenlagerung bei niedrigen Temperaturen als effektivste Vorbehandlung feststellten, zeigen die Untersuchungen dieser Studie an den Arten *Chara baltica*, *Chara hispida*, *Chara papillosa*, und *Chara canescens*, dass

- (1) eine alleinige thermale Vorbehandlung mit anschließendem Ansatz in Kultursediment,
- (2) eine alleinige mikrobiell aktive Phase (Oosporenlagerung in Hüllmaterial, *E.coli* und Glukose),

- (3) eine Kombination aus I & II,
- (4) eine alleinige Vorbehandlung durch Trocknung der Oosporen sowie
- (5) eine Kombination aus II & IV keinerlei Keimung bei diesen Arten hervorruft.

Da die Keimungsrate frisch entnommener Oosporen die primäre Dormanz widerspiegelt, könnte gefolgert werden, dass die oben angeführten Ansätze nicht dormanzbrechend wirkten. Die Ergebnisse der Ansätze, in denen autoklaviertes organisches Material zugesetzt wurde, weisen jedoch auf die Möglichkeit hin, dass der ausbleibende Keimungserfolg vor allem aus der Abwesenheit keimungsinduzierender Bedingungen in den Ansätzen I bis V resultiert.

Durch Zugabe von organischem Material konnten sowohl für *Chara papillosa* als auch für *Chara canescens* Keimungsraten zwischen 12% und 60% erzielt werden. In der Kombination Kältevorbehandlung und Zusatz organischen Materials wurde bereits Keimung beobachtet (12% *Chara papillosa* & 32% *Chara canescens*); die Kombination Trocknung und Zugabe organischen Materials erhöht diese Keimungsraten für beide Arten noch einmal deutlich (44-60% *Chara papillosa*, 48% *Chara canescens*).

Dass die hier untersuchten Arten *Chara canescens* und *Chara papillosa*, beide mit einem Verbreitungsschwerpunkt in den eher kühleren Zonobiomen VI-VIII (Walter & Breckle 1983), höhere Keimungsraten durch vorherige Trocknung erzielten, überrascht. In der Literatur wird davon ausgegangen, dass bei Arten der nördlichen Gebiete der Dormanzzustand einen Überwinterungsmechanismus darstellt, der durch Temperaturbehandlung gebrochen werden kann. Im Gegensatz dazu soll die Dormanz der Arten warmgemäßigter und tropischer Gebiete (Zonobiome II-IV), die an wechselnde Trocken- und Feuchtphasen adaptiert sind, vor allem durch Austrocknung der Oosporen gebrochen werden (Sederias & Coleman 2007). Obwohl sowohl *Chara canescens* als auch *Chara papillosa* zu den Arten gehören, die vor allem in den winterkalten Gebieten der nördlichen Hemisphäre vorkommen (Corillion 1957; Wood 1965; Schubert et al. 2005), konnte durch vorherige Trocknung der Keimungserfolg gegenüber einer reinen Temperaturbehandlung gesteigert werden. Zur Erklärung dieses Phänomens können hier nur Vermutungen angestellt werden. *Chara papillosa* kommt meist in tieferen Gewässern vor; hier ist der Kälteeinfluss im Winter, vor allem im Zonobiom VI, aus dem die Proben stammen, nicht zwingend gegeben. *Chara canescens* kommt häufig in Flachgewässern bzw. im Flachwasserbereich vor – ein Kälteeinfluss, zumindest für kurze Perioden, ist hier eher gegeben. Andererseits reicht das Verbreitungsgebiet dieser Art bis weit in den mediterranen (und auch in den kontinentalen) Bereich hinein, in denen eine ausgeprägte Saisonalität des Niederschlagsregimes auftritt. Der einzige bislang sicher bekannte Standort bissexueller Populationen dieser Art sind die Lacken im Neusiedler Seegebiet. Diese Standorte trocknen

regelmäßig aus, wohingegen Frosteinfluss hier nicht zwingend jährlich auftritt. Die Austrocknung ist hier eventuell ein langfristig verlässlicheres Signal zur Aufhebung der Dormanz. Sämtliche nördlich des Neusiedler See-Gebietes befindlichen Populationen, vermehren sich parthenogenetisch; die Oosporeneigenschaften spiegeln eventuell eher die Bedingungen am Ursprungsort dieser parthenogenetischen Sippen wider als die, die im gegenwärtigen Verbreitungsschwerpunkt vorliegen.

Wie bereits Casanova & Brock (1990; 1996) und Vleeshouwers et al. (1995) feststellten, soll Dormanz nicht nur das Überdauern ungünstiger Perioden gewährleisten. Es ist auch als ein Mechanismus zu verstehen, der ein Auskeimen zu einem Zeitpunkt, in dem nur geringe Aussichten auf das Erreichen der Reproduktionsfähigkeit bestehen, verhindert.

Damit stellt sich die Frage, ob nicht keimungsinduzierende Faktoren den Keimungserfolg mehr beeinflussen als eine Dormanzbrechung im Zuge von Vorbehandlungen. Die Dormanzbrechung kann, wie oben ausgeführt, offenbar auch allein durch langfristige Lagerung im Sediment erfolgen. Einflüsse wie Trocknung oder Kälteeinwirkung sind dann als Mechanismen zur Beschleunigung der Keimbereitschaft aufzufassen; sie können als Signal für eine Störung im Habitat verstanden werden, durch die die Wahrscheinlichkeit, dass unter konkurrenzarmen Bedingungen eine Entwicklung bis zum Erreichen der Reproduktionsfähigkeit durchlaufen werden kann, gestiegen ist.

Lagerungsversuche konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden; die Ergebnisse von Stobbe et al. (2014) zeigten jedoch, dass nach extrem langen Verweilzeiten im Sediment auch ohne besondere Vorbehandlungen zur Dormanzbrechung ein Keimungserfolg zu beobachten ist.

Für die Umsetzung der Keimbereitschaft in einen Keimungserfolg sind, wie der Vergleich der Ansätze mit anorganischem Kultursediment und mit Zusatz organischem Materials zeigt, weitere Bedingungen notwendig. Oosporen enthalten eine große Menge an Speicherstoffen, aus denen zumindest die Ausbildung eines Keimplings (Prochara; Braun 1853; Pringsheim 1863; Fritsch 1935) bestritten werden könnte – trotzdem erfolgte ohne Zusatz organischen Materials keine Keimung, selbst nicht bei vorheriger Temperatur- oder Trocknungsbehandlung. Auch der Phosphatzusatz, wie er im Fall des anorganischen Kulturmediums erfolgte, genügte nicht. Erst die Zugabe organischen Materials und damit des gesamten Spektrums an Nährstoffen führte zu einer Keimung; die Keimungsrate wies erst in zweiter Linie auf einen Einfluss der Art der Vorbehandlung hin. Die hier vorgestellten Untersuchungen unterstützen somit das physiologischen Dormanzmodell von Hilhorst (1993), in dem der Nitratverfügbarkeit eine entscheidende Rolle zur Aktivierung der Phytochromrezeptoren zugesprochen wird. Inwieweit genau diese Verfügbarkeit einen

entscheidenden physiologischen Einfluss auf den Keimungsprozess nimmt, können nur weitere chemische und physiologische Untersuchungen zeigen. Zahlreiche Studien belegen, dass die Zugabe von Stickstoff in diversen Kombinationen zu einem erhöhten Makrophytenwachstum führt und somit einen potentiell limitierenden Faktor für die Verbreitung von Makrophyten darstellt (Sand-Jensen & Søndergaard 1979; Anderson & Kalff 1986; Moeller et al. 1988; Barko et al. 1991; Matheson et al. 2005; Meyer et al. 2013). Phosphat hingegen spielt für Characeen, die in organisch reichen Sedimenten verankert sind, als limitierender Faktor offenbar nur eine untergeordnete Rolle (Blindow 1992; Schwarz & Hawes 1997; Schubert und Blindow 2004).

Dieses Ergebnis soll nicht darüber hinweg täuschen, dass eine direkte Freilandübertragbarkeit der hier gewonnenen Ergebnisse nicht möglich ist. Hier treten eine Vielzahl an weiteren Interaktionen auf, die unabhängig vom Keimungserfolg, die erfolgreiche Besiedelung eines Gewässers beeinflussen. Hierzu zählen u.a. Aktivität und Dichte benthischer Invertebraten, die bei erhöhter Dichte zu einer gesteigerten Freisetzung von Stickstoff und Phosphor aus dem Substrat führen können (Fukuhara & Sakamoto 1987; Barko et al. 1991); die Samengröße und damit die zur Verfügung stehenden Energiereserven in Form von Stärke (Venable & Brown 1988; Casanova & Brock 1990; 1996); die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Substrates (u.a. Redoxverhältnisse, Anoxie, Dichte, Anteil organischen Materials und Sulfidgehalt; Barko & Smart 1986; Barko et al. 1991; de Winton et al. 2000; Kalin & Smith 2007; Sederias & Coleman 2009) sowie das Unterwasserlichtklima (Kirk 1994; Küster 1997; Sagert & Schubert 1999).

Letzteres spielt nicht nur als Trigger für das Phytochromsystem im Sinne des physiologischen Dormanzmodell Hilhorsts (1993) eine Rolle während des Keimungsprozesses (Vleeshouwers et al. 1995), sondern bestimmt ebenfalls das Wachstum und die Reproduktion aquatischer Makrophyten (Sabbatini et al. 1986; Blindow 1992; Middelboe & Markager 1997, Schwarz et al. 2002; Wang et al. 2008; Wang et al. 2015).

Sowohl bei terrestrischen (z.B. Lambers & Posthumus 1980; Kopyra & Gwóźdó 2003; Ogboghodo et al. 2003; Karaguzel et al. 2004) als auch bei aquatischen Pflanzen (z.B. Forsberg 1966: *Cladium mariscus*, *Alisma plantago-aquatica*, *Baldellia ranunculoides*, *Potamogeton lucens*; van den Berg et al. 1998: *Stuckenia pectinata*, *Chara aspera*; Matheson et al. 2005: *Chara globularis*, *Egeria densa*) wurden zahlreiche Untersuchungen zum Einfluss von Licht auf das Keimungsverhalten durchgeführt.

Wie bei terrestrischen Pflanzen ergaben sich auch bei aquatischen Pflanzen artspezifische Unterschiede im Lichteinfluss. Bei Characeen erwiesen sich die Arten *Chara canescens*, *Chara aspera*, *Chara baltica* und *Tolympella nidifica* (Küster 1997), *Chara delicatula* (Takatori &

Imahori 1971); *Chara vulgaris* (Kalin & Smith 2007; Sederias & Coleman 2007; 2009); *Chara contraria* und *Chara zeylanica* (Proctor 1967) sowie *Chara globularis* (Proctor 1967; Schwarz et al. 2002; Matheson et al. 2005) und *Nitella furcata* (Sokol & Stross 1986) als „Lichtkeimer“ – bei all diesen erhöhte sich der Keimungserfolg bei Lichteinfluss.

Dies entspricht nur in Teilen den Ergebnissen dieser Studie. *Lychnothamnus barbatus*, *Nitella flexilis/opaca*, *Nitella mucronata*, *Tolypella glomerata* sowie *Chara filiformis* und *Chara aspera* erwiesen sich hier als lichtabhängige Keimer. *Chara canescens*, *Chara contraria*, *Chara globularis* und *Chara vulgaris* wiesen jedoch keine deutliche Lichtabhängigkeit auf. Der Grund dafür kann in der Methodik liegen – eine Dunkelinkubation wurde nicht durchgeführt, ein Vergleich mit Arbeiten, die einen bloßen Vergleich zwischen Abwesenheit und Anwesenheit von Licht vornahmen, ist daher nicht sinnvoll. Angaben wie „dim-light“ sind schwer zu interpretieren, unzweifelhaft wird es für den Lichteinfluss einen Schwellwert geben, ab dem eine Keimung überhaupt erst erfolgt – die Frage ist, ob eine Intensitätsabhängigkeit oberhalb dieses Schwellwertes besteht oder nicht. Aus diesem Grund waren die hier durchgeföhrten Experimente von vornherein Gradientenansätze, die den Bereich des Pejus der Characeenvorkommen abdecken sollten.

Vergleicht man die hier ermittelten Werte mit den Freilandvorkommen, zeigt sich vor allem für die Arten, die eine Präferenz für bestimmte Lichtintensitäten aufwiesen, eine gute Übereinstimmung. *Nitella flexilis/opaca*, *Nitella mucronata*, *Tolypella glomerata* und *Chara aspera*, die eine Präferenz für hohe Lichtintensitäten aufwiesen, besiedeln hauptsächlich die flacheren Bereiche zwischen 0,5m und 2m Tiefe; nur in Klarwasserseen breiten sich ihre Bestände bis in große Tiefen aus (Krause 1997; Schubert & Blindow 2004). Im Rahmen dieser Studie erfolgte die Reproduktion hauptsächlich bis ausschließlich vegetativ. Wie die Studien von Schwarz et al. (1996), Asaeda et al. (2007), Wang et al. (2008) und (2015) zeigen konnten, wird sowohl deren Produktion als auch Reproduktion durch Licht begünstigt. Eine höhere Photosyntheserate durch Lichteinfluss bewirkt eine gesteigerte Möglichkeit der Einlagerung von Stärkereserven. Eine Abnahme der Bulbillenproduktion und –reproduktion konnte sowohl für *Nitellen* als auch *Charen* mit zunehmender Wassertiefe beobachtet werden, sodass hierfür ebenfalls die Lichtverfügbarkeit von Bedeutung zu sein scheint (Asaeda 2007; Wang et al. 2015). Inwieweit bei allen oben angeführten Arten die generative Reproduktion ebenfalls lichtabhängig ist, kann mit Hilfe dieser Ergebnisse nicht bestimmt werden.

Chara filiformis keimte im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchungen ausschließlich unter geringen Lichtintensitäten. Auch das deckt sich mit ihrem Freilandvorkommen, nach Krause (1997) ist sie vor allem im Bereich von 1-5m Wassertiefe anzutreffen, wobei sie im Flachwasser meist unter Arten wie *Chara aspera* oder *Nitellopsis obtusa* anzutreffen ist. Diese

Form der Co-Existenz deutet bereits auf eine lichtabhängige Einnischung hin, die durch die Keimungsinduktion bedingt wird.

Die einzige Art der Gattung *Lychnothamnus*, *Lychnothamnus barbatus*, zeigte ebenfalls eine lichtabhängige Keimung unter mittleren Lichtbedingungen. Die mittlerweile selten vorkommende Art besiedelt vor allem kalkreiche, oligotrophe Seen mit hoher Wassertransparenz (Balevičius 2001; Casanova et al. 2003; Sinkevičiené 2010; Raabe et al. 2012). Im Gegensatz zu bisherigen Publikationen (Sinkevičiené 2010), bei denen sich *Lychnothamnus barbatus* ausschließlich aus Sprossknoten entwickelte, konnten im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchung Oosporen zum Keimen gebracht werden. Ein Unterschied zwischen vegetativer und generativer Keimung in Abhängigkeit der Lichtintensität ergab sich dabei nicht. Inwieweit die Art der Reproduktion von den Co-Arten des jeweiligen Standortes abhängig ist, kann an dieser Stelle grundsätzlich nur vermutet werden. Sowohl am Obersee (Brandenburg) als auch am Lake Balsys (Litauen) treten neben *Lychnothamnus barbatus* eine Reihe von weiteren Arten im gleichen Gewässer auf. Hierzu zählen u.a. *Chara aspera*, *Chara tomentosa*, *Chara subspinosa*, *Chara contraria*, *Chara globularis* und *Nitellopsis obtusa*. Im Vergleich zu *Lychnothamnus barbatus* bilden vor allem die Arten *Chara contraria* und *Chara globularis* deutlich häufiger und mehr Gameten aus, die somit in der potentiellen Diasporenbank im kommenden Frühjahr zur Verfügung stehen. *Chara subspinosa* scheint darüber hinaus die Fähigkeit der vegetativen Reproduktion zu besitzen, die in tieferen Bereichen vorkommen und das Überleben dieser Art sichert, wie Studien aus Polen belegen (Skurzynski & Bociąg 2011). *Lychnothamnus barbatus* hingegen bildet deutlich weniger Gameten. Es ergibt sich somit ein Ungleichgewicht in der Diasporendichte der potentiellen Diasporenbank. Hier könnte ein Grund für den Rückgang der Bestände von *Lychnothamnus barbatus* liegen. Die Art kommt nahezu ausschließlich in dichten monospezifischen Beständen vor; im Fall einer Störung – und sei sie nur mechanisch – wären Arten mit hohem Anteil in der Diasporenbank zunächst klar bevorzugt bei der Wiederbesiedelung. *Chara contraria* und *Chara globularis* als lichtunabhängige Keimer, bei denen eine Reproduktion unter allen untersuchten Lichtintensitäten beobachtet wurde, würden jetzt als Konkurrenten in Erscheinung treten können. Auf der anderen Seite spielen die Umweltbedingungen, vor allem die Lichtverhältnisse im Jahresverlauf, eine entscheidende Rolle bei der Gametenbildung und -reifung (Casanova et al. 1996; Asaeda et al. 2007; Wang et al. 2008). Das bedeutet, dass der mittel- und langfristige Erfolg einer solchen Wiederbesiedelung nicht allein vom Keimungserfolg nach Störungen abhängig ist. Hier kann die Strategie von *L. barbatus* - Bevorzugung der Sprossknotenbildung vor einer Gametenbildung bei nicht optimalen Lichtverhältnissen – durchaus einen Vorteil darstellen; allerdings liegen bislang keine

vergleichenden Betrachtungen zum Energieaufwand für Sproßknotenbildung und Gametenbildung vor.

Auf jeden Fall weisen die Ergebnisse der Keimungsexperimente darauf hin, dass es hier Optimierungsstrategien gibt. Für *Chara contraria* und *Chara globularis* ergaben sich im Rahmen der Untersuchungen „Präferenzbereiche“, die eine Bevorzugung verschiedener Lichtverhältnisse für generative bzw. vegetative Reproduktion vermuten lassen. Der prozentuale Anteil der generativen Keimung nimmt bei beiden Arten mit zunehmender Lichtintensität ab. Die vegetative Reproduktion hingegen nimmt bei *Chara contraria* mit zunehmender Lichtintensität zu, auch wenn sie unterhalb des Anteils der generativen Reproduktion bleibt. Für *Chara globularis* ist ebenfalls eine Diskrepanz zwischen der Abnahme der vegetativen und der generativen Reproduktion mit zunehmender Lichtintensität zu beobachten.

Für *Chara canescens* kann keine diesbezügliche Aussage getroffen werden – hier trat keine generative Vermehrung auf, die Art gilt als einjährig und auf Oosporen zur Vermehrung angewiesen. Bezüglich Lichtpräferenz der Keimung scheint die Art zu den „Lichtunabhängigen“ zu gehören – angesichts der bei anderen Arten beobachteten Standortunterschiede ist diese Aussage aber durch weitere Versuche zu untermauern. Auch bei *Chara vulgaris* wurde ausschließlich generative Reproduktion beobachtet, die geringe Gesamtzahl an gekeimten Oosporen lässt hier aber nur Vermutungen zur Lichtpräferenz der Keimung zu.

Die Reproduktion von *Nitellopsis obtusa* erfolgte nahezu ausschließlich aus Bulbillen (Bharathan 1987). Mit einem prozentualen Anteil von 65% aller Keimlinge lag die Präferenz der Bulbillenkeimung dieser Art bei der höchsten Lichtintensität. *Nitellopsis obtusa* ist vor allem in mesotrophen Seen in einer Tiefe bis 3m (Schubert & Blindow 2004) bzw. 5-10m (Krause 1997) anzutreffen. Die Keimung unter allen angebotenen Lichtintensitäten entspricht demnach den sich unterscheidenden Literaturangaben zum Vorkommen dieser Art im Tiefengradienten auf Grund ihrer Toleranz gegenüber unterschiedlichster Lichtverfügbarkeit. Diese scheint zwar geringer zu sein, als bei den Arten *Chara contraria*, *Chara globularis*, *Chara vulgaris* und *Chara canescens*, jedoch erweitert diese Anpassungsfähigkeit sowohl das Reproduktionspotential als auch die Verbreitungsgrenzen von *Nitellopsis obtusa* innerhalb eines Systems.

Zusammenfassung

Im Rahmen der Untersuchungen zum Keimungsverhalten von *Chara*-Arten konnte zunächst die Anwendbarkeit des physiologischen Dormanzzmodells nach Hilhorst (1993) auf Characeen-Oosporen nachgewiesen werden. Dormanzbrechung und Keimungsinduktion erwiesen sich bei allen getesteten Arten als separate Mechanismen; erst nach Dormanzbrechung konnte eine Keimung induziert werden. Hinsichtlich Dormanzbrechung wurden nur quantitative, jedoch keine qualitativen artspezifischen Unterschiede zwischen den beiden hier untersuchten Arten festgestellt. Beide Arten reagierten auf Trockenstress deutlicher als auf Kältebehandlung; ein Hinweis auf Faktorenspezifität kann daraus nicht abgeleitet werden, da sowohl Dauer der Trockenphase als auch Kältestress nicht variiert wurde. Bezuglich Keimungsinduktion wurde deutlich, dass eine Dormanzbrechung notwendig und möglich war, sodass das Vorliegen einer sekundären Dormanze bei den untersuchten Arten als gesichert angesehen werden kann. Zur Keimungsinduktion erwies sich, dass die Zugabe organischen Materials unabdingbar war, eine alleinige Zugabe von Phosphat bzw. die alleinige Induktion mikrobieller Aktivität genügte nicht zur Keimungsinduktion.

Bezuglich Lichtabhängigkeit der Keimung konnten sowohl Arten mit einer ausgeprägten Präferenz für bestimmte Lichtintensitätsbereiche als auch „Lichtunabhängige“ Arten identifiziert werden.

Zu den lichtabhängigen Keimern zählen *Nitella flexilis/opaca* und *Nitella mucronata* sowie *Tolypella glomerata*, *Lychnothamnus barbatus*, *Chara filiformis* und *Chara aspera*. Die jeweils präferierten Lichtbereiche stimmen mit den beschriebenen Vorkommen dieser Arten im Freiland weitgehend überein. *Chara globularis*, *Chara contraria*, *Chara vulgaris*, *Chara canescens* und *Nitellopsis obtusa* erwiesen sich als lichtunabhängige; hier trat bei einigen dieser Arten eine Präferenz bestimmter Lichtintensitätsbereiche für die generative bzw. vegetative Reproduktion auf.

3.3 Vitalität von Diasporenbanken

3.3.1 Motivation

Die Bestimmung der Vitalität, d.h. der „Lebensfähigkeit“ von Dauerstadien aquatischer Pflanzen ist bis heute ein viel diskutiertes Thema. Die Vitalität wird durch Umwelteinflüsse verändert und kann im Extremfall völlig erloschen, die dabei ablaufenden physiologischen Prozesse, die zum Verlust der Vitalität führen sind weitgehend unbekannt.

Hier muss für eine Einführung vor allem auf Untersuchungsergebnisse aus dem terrestrischen Bereich zurückgegriffen werden. Die Frage nach geeigneten Methoden zum Nachweis der Vitalität von Samen war auch im terrestrischen Bereich lange ungeklärt. Erst 1939 konnte durch Georg Lakon eine biochemische Methode für den Nachweis der Vitalität von Maissamen entwickelt werden. Bei diesem sogenannten „topographischen Tetrazolium Test“ handelt es sich um eine mittlerweile international anerkannte Methode (International Seed Testing Association, 2015). Tetrazoliumsalze fungieren in diesem Test als Nachweismittel für Dehydrogenasen, die im aktiven Zustand eine Reduktion des 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorids zu Triphenylformazan bewirken (Abbildung 21; Cottrell 1947; Jerchel & Kuhn 1950). Durch die damit verbundene Farbänderung ergibt sich die Möglichkeit, den jeweiligen Zustand (oxidiert oder reduziert) visuell zu detektieren - eine einfache und direkte Nachweismethode für die Aktivität von Dehydrogenasen in Samen. Im Falle des Tetrazolium - Tests stellt das farblose, wasserlösliche 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid den oxidierten Zustand dar, während die reduzierte Form, das Triphenylformazan, eine rote Färbung aufweist. Dies ermöglicht sowohl die topographische Bestimmung aktiver Bereiche im Samen als auch eine eindeutige Unterscheidung zwischen vitalen und nicht vitalen Samen.

Neben den ursprünglich verwendeten Maissamen (Lakon 1939; 1942; Kuhn et al. 1952) konnten zahlreiche weitere Studien an terrestrischen Samen, wie z.B. an diversen Getreidesamen (u.a. Cottrell 1947; Porter et al. 1947; Jensen et al. 1951; Smith 1952; Cossins & Turner 1962), diversen Gräsern (Donald 1994; Omami et al. 1999; Uremis & Uygur 2005; Conn et al. 2006), Tomatensamen (Santos et al. 2007) und Reissamen (Cossins & Turner 1962, Noldin et al. 2006) zeigen, dass diese Methode übertragbar ist. Neben der rein visuellen Unterscheidung von vitalen und nicht vitalen Samen mittels TTC wird oft auch eine kolorimetrische Messung der Enzymaktivität durchgeführt. Hierbei ergab sich, dass diverse Dehydrogenasen zwar eine Reduzierung des TTCS bewirken, eine alleinige jedoch nicht identifiziert werden kann, die die Vitalität impliziert (Throneberry & Smith 1955; Cossins & Turner 1962; Stevens & Stevens 1977).

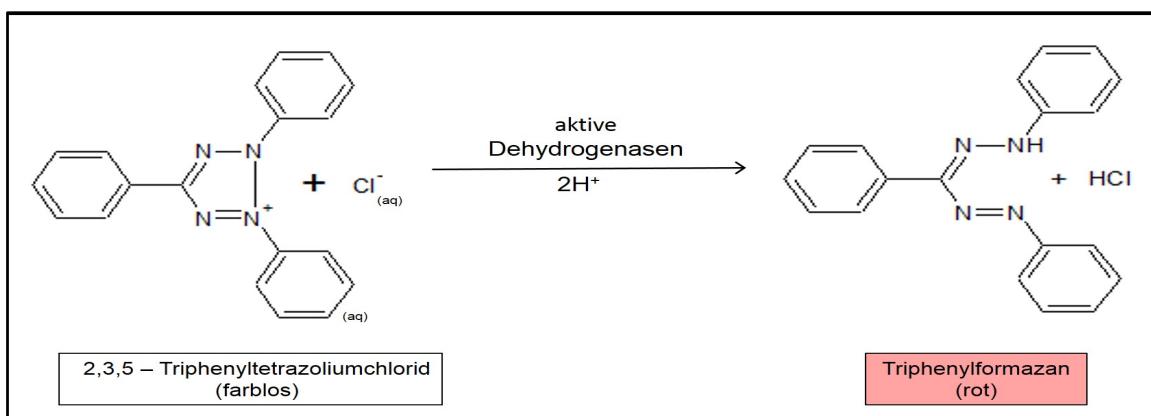


Abbildung 21: Darstellung der Reaktion von 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (oxidierte Form) in die reduzierte Form (Formazan) über die Bildung der instabilen Zwischenstufe des Tetrazolium – Radikals (erstellt mit ChemSketch).

Für Samen aquatischer Diasporenbanken liegen bislang vor allem Vitalitätsanalysen aus dem Bereich der deutschen Ostseeküste (Steinhardt & Selig 2007; 2008; 2009; 2011; Selig et al. 2009; Blindow et al. 2016) sowie der Zonobiome II – IV (warmgemäßigte und tropische Gebiete, u.a. Grillas et al. 1993; Bonis et al. 1995) vor. Limnische Systeme der kühleren Gebiete (Zononbiom VI – VIII) wurden dagegen bislang nicht untersucht.

Eine Standardmethode zur Vitalitätsbestimmung hat sich im aquatischen Bereich bislang nicht etabliert. Die oben angeführten Untersuchungen basieren auf Keimungsexperimenten; die Vitalität wurde als Anteil der gekeimten Individuen an der gesamten Diasporenbank abgeschätzt (Gross 1990; Boedeltje et al. 2002, Grillas et al. 1993; Bonis et al. 1995; Brock & Rogers 1998; de Winton et al. 2000; Steinhardt & Selig 2007; 2008). Im vorangegangenen Kapitel wurde bereits dargestellt, dass derartige Keimungsexperimente ausschließlich die kurzfristig ökologisch aktive Komponente der Diasporenbank repräsentieren. Die Lebensfähigkeit der nicht keimenden Diasporen wird dabei nicht erfasst. Zwar setzen viele Autoren ein Ausbleiben der Keimung mit dem Verlust der Lebensfähigkeit von Diasporen gleich (Matheson et al. 2005; Sederias & Coleman, 2009; Rodrigo et al. 2010); aber, wie bereits ausgeführt, kann das auch dem Dormanzzustand der Diasporen bzw. dem Fehlen keimungsinduzierender Bedingungen geschuldet sein. Die direkte Auszählung von Sedimentproben hingegen ermöglicht zwar Rückschlüsse auf das potentielle Artenspektrum des jeweiligen Habitats, kann aber nicht zwischen vitalen und nicht - vitalen Diasporen unterscheiden.

Untersuchungen zur Vitalität gestalten sich bei den Oosporen der Characeen schwierig. Auf Grund ihres geringen Gewichtes und ihrer geringen Größe können Methoden wie beispielsweise die Aufnahme von Emissionsspektren (Vaselova et al. 1985; Constanzo et al. 2008) nicht ohne Weiteres angewandt werden – die Signalstärke einer einzelnen Oospore ist

zu gering um in herkömmlichen Geräten detektiert zu werden. In den vergangenen Jahren wurde deshalb vor allem die sogenannte „Cut-Test“ Methode angewendet. Dabei werden vitale von nicht vitalen Oosporen durch eine intakte Samenhülle, einen aufgequollenen Samenzustand sowie dem Vorhandensein weißer Stärkekörner im Inneren der Oospore charakterisiert (Casanova & Brock 1990; Matheson et al. 2005). Diese Methode führt zwangsläufig zu einer Überschätzung des Diasporenpotentials, da nach dem Test keine Prüfung durch z.B. Keimungsexperimente mehr möglich ist. Diese Methode wurde dementsprechend bereits mehrfach hinterfragt bzw. in Frage gestellt (Sawma & Mohler 2002; Baskin & Baskin 2014). Die international anerkannte Methode des topographischen Tetrazolium – Tests wurde im aquatischen Bereich bislang nur für höhere Pflanzen angewandt (*Najas marina*: Handley & Davy 2005; *Zostera capricorni*: Conacher et al. 1994); für Oosporen liegen keine Literaturdaten vor.

Um das Wiederbesiedlungspotential von Characeen-Diasporenbanken, die in Restaurierungsmaßnahmen eingebunden werden sollen, abschätzen zu können sind jedoch verlässliche Vitalitätsabschätzungen Voraussetzung. Das Hauptziel dieses Kapitels stellt daher die Entwicklung eines Vitalitätstest dar, der auf dem für höhere Pflanzen anerkannten Tetrazolium-Test beruht. Damit verbunden ist die Testung der Aussagekraft des Testsystems, dafür wurden hier sowohl Keimungsexperimente als auch Cut-Test Bestimmungen mit Diasporenbanken natürlicher Sedimente durchgeführt und mit den Ergebnissen des Tetrazolium-Tests verglichen.

3.3.2 Ergebnisse

3.3.2.1 Erprobung des Vitalitätsnachweises von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)

Für die Testung der Übertragbarkeit der Nachweismethode zur Testung der Vitalität von Samen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid (ISTA 2015) wurden Oosporen der Arten *Chara contraria* (n=120), *Chara globularis* (n=134), *Chara canescens* (n=120) und *Chara vulgaris* (n=123) verwendet. Die Oosporen der Arten *Chara contraria* und *Chara globularis* wurden direkt der Mutterpflanze entnommen; die Oosporen der Arten *Chara canescens* und *Chara vulgaris* stammten aus Sedimentproben. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 17 und Abbildung 22 dargestellt. Abbildung 23 zeigt die Kategorien nach der Behandlung mit 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid; es wird eine eindeutige Rotfärbung, eine teilweise vorhandene Rotfärbung sowie keine Färbung unterschieden. Der mittleren Kategorie ebenfalls zugeordnet wurden Oosporen, die nur eine orange-rötliche Färbung aufwiesen. Oosporen der mittleren Kategorie wurden in der Auswertung zunächst als „vital“ eingestuft, da

eine Umsetzung von Triphenyltetrazolium zu Triphenylformazan erfolgte und damit das Vorhandensein lebender Zellen signalisiert wurde.

Tabelle 17: Zusammenfassung der Ergebnisse (%) der Vitalitätsuntersuchung von Oosporen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid.

	c(TTC) = 0,5%			c(TTC) = 1%			c(TTC) = 2%			Gesamt	
	vital	nicht-vital	keine Rotfärbung	vital	nicht-vital	keine Rotfärbung	vital	nicht-vital	keine Rotfärbung	Rotfärbung (vital)	keine Rofärbung (nicht vital)
<i>Chara contraria</i> A.Br. ex Kütz 1845	n=37			n=38			n=46			n=120	
	40,5	27,1	32,4	52,6	18,4	28,9	60,9	21,7	15,2	75	25
<i>Chara globularis</i> Thuill. 1799	n=53			n=40			n=41			n=134	
	81,2	9,4	9,4	60	15	25	43,9	26,8	29,3	79,85	20,15
<i>Chara canescens</i> Desv. & Lois. In Lois. 1810	n=40			n=40			n=40			n=120	
	52,5	25	22,5	45	37,5	17,5	52,5	22,5	25	78,33	21,66
<i>Chara vulgaris</i> L. 1753	n=38			n=39			n=46			n=123	
	36,8	39,5	23,7	30,4	23,9	45,7	48,7	17,9	33,33	65,04	34,96

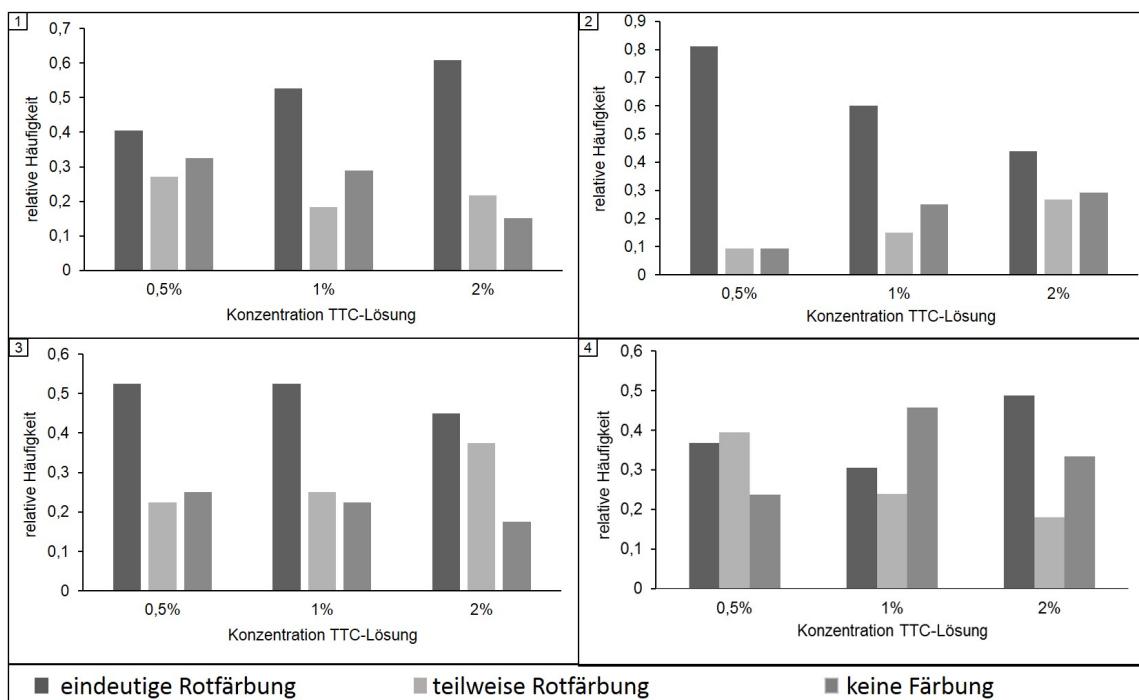


Abbildung 22: Vergleichende Darstellung der relativen Häufigkeiten der Vitalitätsuntersuchung mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid in Abhängigkeit der Konzentration (0,5%, 1% und 2%) der untersuchten Arten: (1) *Chara contraria*, (2) *Chara globularis*, (3) *Chara canescens*, (4) *Chara vulgaris*.

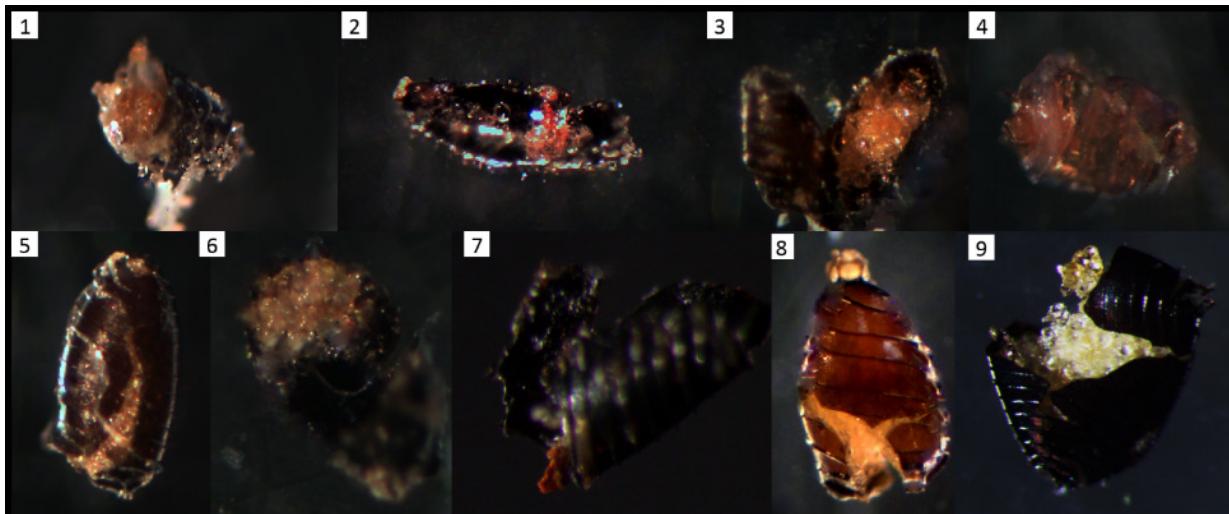


Abbildung 23: Darstellung der unterschiedenen Kategorien: 1-4 eindeutige Rotfärbung, 5-8 teilweise Rotfärbung und 9 keine Färbung der untersuchten Arten *Chara contraria* (1,5); *Chara globularis* (2,6,9), *Chara canescens* (3,7) und *Chara vulgaris* (4,8).

Die Ergebnisse zeigen, dass zwischen Oosporen, die frisch von Mutterpflanzen entnommen wurden und Oosporen, die aus Sedimentproben stammten kein wesentlicher Unterschied in der Vitalität existiert. Oosporen von *Chara contraria* und *Chara globularis*, die direkt den Pflanzen entnommen wurden, wiesen eine Vitalität zwischen 75-80% auf; für Oosporen aus Sedimentproben betrug die Vitalität 65-79%.

Bezüglich der Konzentrationsabhängigkeit zeigt sich kein klarer Trend – für *Chara contraria* ist ein Anstieg der als „vital“ identifizierten Oosporen mit zunehmender Konzentration zu beobachten; bei *Chara globularis* eine Abnahme.

Auch für *Chara canescens* zeigte sich, dass durch die Verwendung einer höher konzentrierten TTC-Lösung mehr Oosporen eine Rotfärbung aufweisen; durch Verwendung einer 0,5%igen TTC-Lösung wurden 75% der Oosporen als vital identifiziert, bei einer 2%igen Lösung wiesen 82,5% der getesteten Oosporen eine Rotfärbung auf.

Für *Chara vulgaris* ergab sich kein Trend; bei der geringsten Konzentration konnten 76,3% der getesteten Oosporen als vital eingestuft werden, bei einer 1%igen TTC-Lösung wiesen nur 54,5% der Oosporen eine Rotfärbung auf.

3.3.2.2 Erprobung des Vitalitätsnachweises über den Masseverlust von Oosporen

Neben dem chemischen Nachweis der Vitalität von Oosporen wurde über die Bestimmung der Kinetik des Wasserverlustes eine weitere Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen vitalen und nicht vitalen Oosporen erprobt. Diese Methode stützt sich auf die Annahme, dass nicht vitale Oosporen einen erhöhten Wasserverlust aufweisen und vollständig austrocknen, während vitale Oosporen in der Lage sind, ihren Wasserverlust zu begrenzen. Die Erprobung der Methode erfolgte mit Oosporen der haplostichen Art *Chara canescens* sowie der diplostichen *Chara hispida*. Diese Arten wurden ausgewählt, weil Oosporen diplosticher Arten ein deutlich höheres Grundgewicht aufweisen als Oosporen der Art *Chara canescens*. Damit war ein Vergleich der Abhängigkeit der Ergebnisse von der Ausgangsmasse möglich.

Die ersten Testungen erfolgten als Zeitreihen; Der Erfassungszeitraum variierte zwischen 2 und 24 Stunden. Diese Ergebnisse implizierten jedoch schnell, dass der Parameter Zeit keine entscheidende Rolle spielt; der Massenverlust scheint unabhängig von der Zeit zu sein. In Tabelle 18 sind die ersten 20 Messungen in Abhängigkeit der Zeit zusammengefasst; Abbildung 24 zeigt für einige ausgewählte Oosporen den prozentualen Massenverlust über den zeitlichen Verlauf der Messung. Sowohl für Messzeiten von 2h, 4h, 24h als auch 48h konnten Massenverluste im Bereich von 75-100% beobachtet werden; eine Ausnahme hiervon stellt nur Oospore 2 dar (Massenverlust 50,3%; Tabelle 19). Der Gesamtverlauf der Massenänderung lässt sich grob in zwei „Phasen“ unterteilen.

Die erste „Phase“ ist durch einen rapiden Masseverlust in kurzer Zeit gekennzeichnet. Die Oosporen verlieren in dieser Phase 70,3 – 99,4% ihrer Masse; einzige Oospore 2 stellt eine Ausnahme dar (Tabelle 18). Da es sich hierbei um einen relativ hohen Massenverlust in einem kurzen Zeitintervall (circa 10 Minuten) handelt, kann davon ausgegangen werden, dass zu diesem Zeitpunkt vor allem das äußerlich an die Oospore anhaftende Wasser verdunstet.

In der darauffolgenden zweiten „Phase“ nimmt die Geschwindigkeit des Massenverlustes über die Zeit stark ab. Darüber hinaus ist der Massenverlust sehr viel kleiner, bis dieser in einer Art Plateau endet bzw. auf Grund der Wägeungsgenauigkeit Wägenull erreicht. Insgesamt wiesen 62,5% der getesteten Oosporen dieser Art eine Masse im Bereich zwischen 0,02 μ g – 0,04 μ g auf; 96% der getesteten Oosporen wiesen einen Masseverlust zwischen 90% und 100% auf, wie Tabelle 19 zu entnehmen ist. Dies lässt vermuten, dass es sich dabei um die Masse handelt, bei der von zumindest äußerlich intakten Oosporen ausgegangen werden kann. Ein weiterer Wasserverlust (bzw. Massenverlust) war auch in Abhängigkeit der Zeit nicht mehr zu beobachten. Dies impliziert, dass der genaue Verlauf der zweiten „Phase“ möglicherweise ein Indiz auf die Unterscheidung zwischen vitalen und nicht vitalen Oosporen liefern kann. Aus

diesem Grund soll im Folgenden vor allem die zweite „Phase“ näher betrachtet werden, wie Abbildung 25 zeigt.

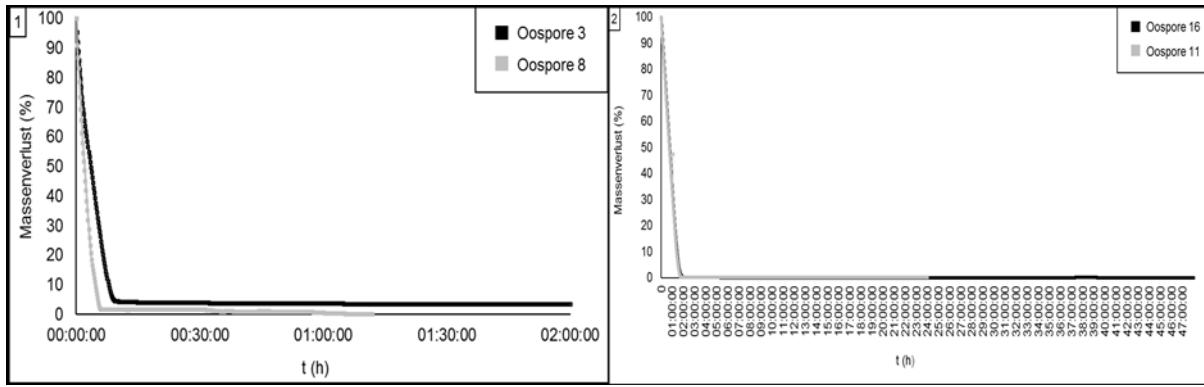


Abbildung 24: Darstellung des Gesamtverlaufes der Massenänderung (Massenverlust, %) von Oosporen der Art *Chara canescens* in Abhängigkeit der Zeit. Dargestellt sind Messzeiten von 2h (1), 12h (2; Oospore 11) und 24h (2; Oospore 16).

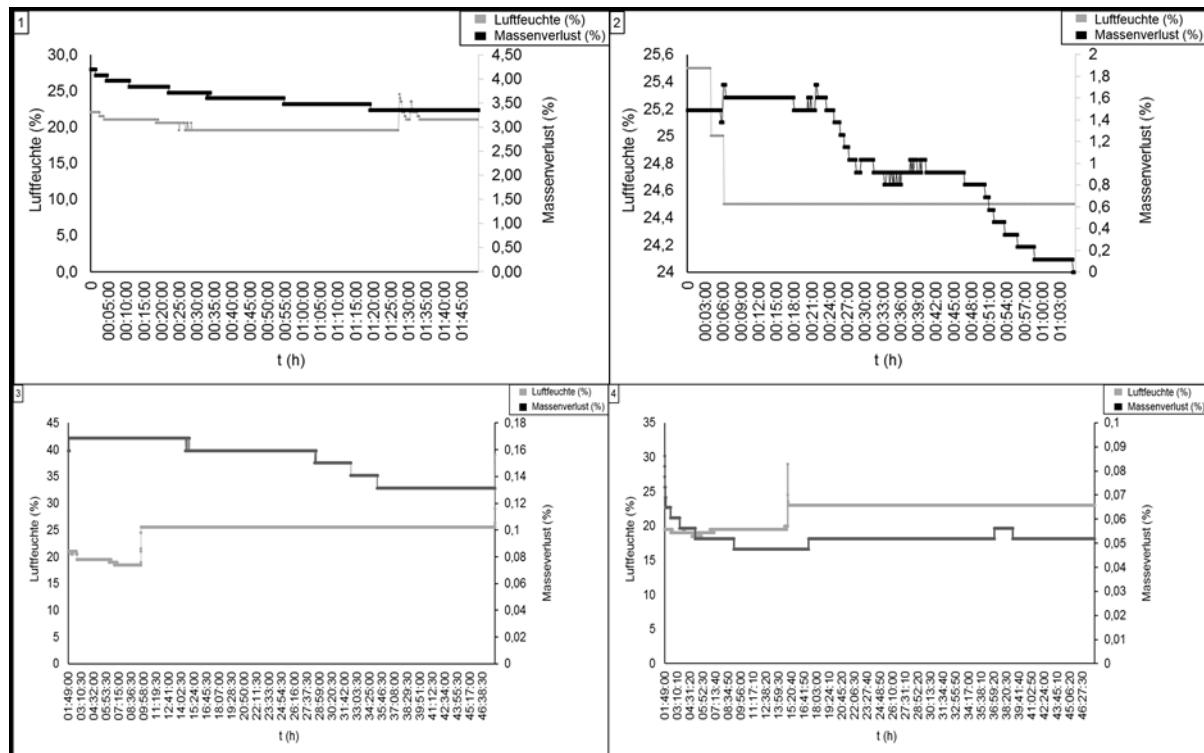


Abbildung 25: Einzelbetrachtung der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara canescens* nach Verdunstung des äußerlich anhaftenden Wassers. (1) Oospore Can3, (2) Oospore Can8, (3) Oospore Can11 und (4) Oospore Can16.

Tabelle 18: (exemplarische) Übersicht der Massenverluste (Angaben in µg und %) der vermessenen Oosporen der Art *Chara canescens* in Abhängigkeit der Zeit (h).

Oospore	t (h)	Δm (µg)	Massenverlust (%)
1	2	0,08	70,3
2	2	0,04	53,2
3	2	0,81	96,6
4	2	0,82	95,6
5	2	1,46	97,6
6	4	1,52	98,1
7	4	4,90	99,7
8	4	0,87	100,0
9	24	0,29	93,7
10	24	0,55	73,4
11	24	1,28	99,9
12	24	0,82	100
13	24	1,46	100
14	24	1,52	99,9
15	40	18,71	99,9
16	40	18,78	99,95
17	40	4,90	99,9
18	48	24,53	99,9
19	48	0,25	99,9
20	48	0,31	98,5

In Abbildung 25 ist ebenfalls der zeitliche Verlauf der Änderung der Luftfeuchte im Wägeraum dargestellt. Es zeigt sich, dass bei einem Großteil der durchgeföhrten Messungen eine Erhöhung der Luftfeuchte im Wägeraum bei gleichzeitigem Masseverlust zu beobachten ist. Da dieser Anstieg bzw. Abfall jedoch nicht parallel verläuft, muss ebenfalls in Betracht gezogen werden, dass der Wasserdampf im Wägeraum nicht vollständig durch die hygrokopische Wirkung des Silica-Gels entfernt werden konnte (Abbildung 25; Can3, Can11 und Can 16). Darüber hinaus konnte bei einem geringen Anteil der Messungen jedoch auch ein Masseverlust mit einer einhergehenden Abnahme der relativen Luftfeuchte beobachtet werden (Abbildung 25; Can8).

Die Trocknung von Oosporen bei 60°C (48h) diente ebenfalls der Ermittlung der Grundmasse der Oosporen. Anhaftendes Restwasser sollte mit dieser Behandlung vollständig entfernt werden. Diese Ergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 19 dargestellt; 60% der Oosporen der Art *Chara canescens* weisen eine Grundmasse von über 0,02µg auf; 28% erreichen das Wägenull.

Tabelle 19: Zusammenstellung der Ergebnisse der Masseuntersuchung von Oosporen der Art *Chara canescens* Loisel. 1810. Trocknung der Oosporen im Trockenschrank (48h; 60°C) bzw. Aufnahme der Masse mittels Waage (CAHN C-30 MICROBALANCE). Masseangaben (µg): m_0 = Masse zu Beginn der Messung; Δm = Änderung der Masse (µg).

Trockenschrank						Waage						
Oospore	Masse			Masse			Luftfeuchte			LF	LF	ΔLF
	m_0	Δm (mg)	Massenverlust (%)	Oospore	m_0	Δm	Massenverlust (%)	LF	LF			
Can1	0,14	0,109	77,9	Can1	0,111	0,078	70,3	k.A.	k.A.	k.A.		
Can2	0,128	0,106	82,8	Can2	0,079	0,042	53,2	k.A.	k.A.	k.A.		
Can3	0,122	0,085	69,7	Can3	0,834	0,806	96,6	k.A.	k.A.	k.A.		
Can4	0,152	0,122	80,3	Can4	0,855	0,817	95,6	k.A.	k.A.	k.A.		
Can5	0,182	0,127	69,8	Can5	1,498	1,462	97,6	k.A.	k.A.	k.A.		
Can6	0,177	0,146	82,5	Can6	1,553	1,524	98,1	k.A.	k.A.	k.A.		
Can7	0,179	0,162	90,5	Can7	4,92	4,903	99,7	k.A.	k.A.	k.A.		
Can8	0,133	0,225	169,2	Can8	0,872	0,872	100,0	k.A.	k.A.	k.A.		
Can9	0,125	0,117	93,6	Can9	0,31	0,29	93,5	k.A.	k.A.	k.A.		
Can10	0,155	0,149	96,1	Can10	0,57	0,551	96,7	k.A.	k.A.	k.A.		
Can11	0,162	0,15	92,6	Can11	10,665	10,665	100,0	30	39	-9		
Can12	0,138	0,129	93,5	Can12	0,313	0,313	100,0	33,5	19,5	14		
Can13	0,095	0,088	92,6	Can13	35,326	35,325	100,0	23	39	-16		
Can14	0,1	0,092	92,0	Can14	13,148	13,138	99,9	23	19,5	3,5		
Can15	0,099	0,094	94,9	Can15	27,928	27,911	99,9	21	19,5	1,5		
Can16	0,123	0,116	94,3	Can16	23,166	23,154	99,9	21,5	27,5	-6		
Can17	0,175	0,167	95,4	Can17	24,55	24,528	99,9	29	31	-2		
Can18	0,141	0,132	93,6	Can18	28,679	28,663	99,9	28,5	28	0,5		
Can19	0,126	0,096	76,2	Can19	22,289	22,272	99,9	28,5	28	0,5		
Can20	0,111	0,096	86,5	Can20	1,546	1,523	98,5	31	28	3		
Can21	0,158	0,133	84,2	Can21	24,356	24,332	99,9	29,5	24,5	5		
Can22	0,169	0,135	79,9	Can22	0,396	0,386	97,5	29	21,5	7,5		
Can23	0,14	0,126	90,0	Can23	21,422	21,403	99,9	38,5	22,5	16		
Can24	0,135	0,126	93,3	Can24	9,315	9,315	100,0	24	28,5	-4,5		
Can25	0,1	0,095	95,0	Can25	14,895	14,885	99,9	33	20,5	12,5		
Can26	0,099	0,067	67,7	Can26	23,946	23,945	100,0	30,5	39	-8,5		
Can27	0,092	0,055	59,8	Can27	21,543	21,526	99,9	34,5	22,5	12		
Can28	0,13	0,091	70,0	Can28	20,057	20,038	99,9	36	24,5	11,5		
Can29	0,175	0,156	89,1	Can29	25,847	25,847	100,0	31,5	39	-7,5		
Can30	0,259	0,245	94,6	Can30	28,946	28,922	99,9	33,5	21	12,5		
Can31	0,123	0,091	74,0	Can31	0,349	0,321	92,0	26	20,5	5,5		
Can32	0,1	0,075	75,0	Can32	0,861	0,836	97,1	24,5	21	3,5		
Can33	0,148	0,13	87,8	Can33	7,251	7,24	99,8	31,5	23,5	8		
Can34	0,174	0,138	79,3	Can34	26,497	26,473	99,9	32	24,5	7,5		
Can35	0,11	0,093	84,5	Can35	41,24	41,221	100,0	38	21,5	16,5		
Can36	0,096	0,077	80,2	Can36	0,371	0,356	96,0	28	23,5	4,5		
Can37	0,136	0,109	80,1	Can37	0,365	0,344	94,2	26,5	18,5	8		
Can38	0,095	0,081	85,3	Can38	13,965	13,964	100,0	29	31,5	-2,5		
Can39	0,09	0,081	90,0	Can39	15,92	15,892	99,8	29,5	20,5	9		
Can40	0,098	0,093	94,9	Can40	21,491	21,471	99,9	30,5	22,5	8		
Can41	0,127	0,091	71,7	Can41	18,731	18,712	99,9	28	24,5	3,5		
Can42	0,149	0,118	79,2	Can42	18,799	18,783	99,9	29,5	22,5	7		
Can43	0,168	0,139	82,7	Can43	31,557	31,534	99,9	34,5	22	12,5		
Can44	0,155	0,128	82,6	Can44	0,247	0,247	100,0	25,5	27	-1,5		
Can45	0,167	0,148	88,6	Can45	0,298	0,293	98,3	27,5	16,5	11		
Can46	0,147	0,13	88,4	Can46	0,305	0,283	92,8	28,5	22,5	6		
Can47	0,122	0,087	71,3	Can47	5,441	5,432	99,8	27,5	27,5	0		
Can48	0,096	0,062	64,6	Can48	0,331	0,321	97,0	26,5	21,5	5		
Can49	0,185	0,159	85,9	Can49	14,389	14,368	99,9	28,5	24,5	4		
Can50	0,143	0,116	81,1	Can50	2,485	2,478	99,7	27	29,5	-2,5		

Für die untersuchten Oosporen der Art *Chara hispida* ergibt sich ein ähnliches Bild wie für *Chara canescens*; Tabelle 20 fasst die Ergebnisse zusammen. Die Oosporen von *Chara hispida* sind deutlich größer als die von *Chara canescens*, sodass höhere Anfangsmassen registriert wurden. Es konnte ebenfalls eine Unabhängigkeit der Massenänderung vom Parameter der Zeit festgestellt werden; insgesamt trat bei 100% der untersuchten Oosporen ein Masseverlust zwischen 98% und 99,9% auf (Tabelle 20). Abbildung 26 zeigt exemplarisch den zeitlichen Verlauf des Massenverlustes (%) sowie die Änderung der Luftfeuchtigkeit im Wägeraum. Es wird ersichtlich, dass sich der zeitliche Verlauf ebenfalls in zwei Phasen teilen lässt. Im Gegensatz zu *Chara canescens* ist allein die Dauer der ersten „Phase“ für Oosporen der Art *Chara hispida* länger; ein höheres Oosporenvolumen bedingt ebenfalls eine erhöhte Oberfläche für anhaftende Wassermoleküle. In der folgenden zweiten Phase ist nur noch ein geringer Massenverlust zu beobachten (Abbildung 27). Die Betrachtung der Änderung der Luftfeuchte im Wägeraum über die Zeit ergibt ebenfalls ein vergleichendes Bild mit den Ergebnissen von *Chara canescens*. Ein Masseverlust geht bei einem Hauptanteil der Untersuchungen mit einem geringen Anstieg der Luftfeuchte einher (Abbildung 27; Oospore His10); das Silica-Gel ist nicht vollständig in der Lage den Wägeraum trocken zu halten. Wohingegen nach Einstellung einer konstanten „Endmasse“ eine Abnahme der Luftfeuchte im Wägeraum zu beobachten ist (Abbildung 27; Oospore His7). Dies ist mit der darauffolgenden Aufnahme des Wasserdampfes durch die hygrokopische Wirkung des Silica-Gels erklärbar.

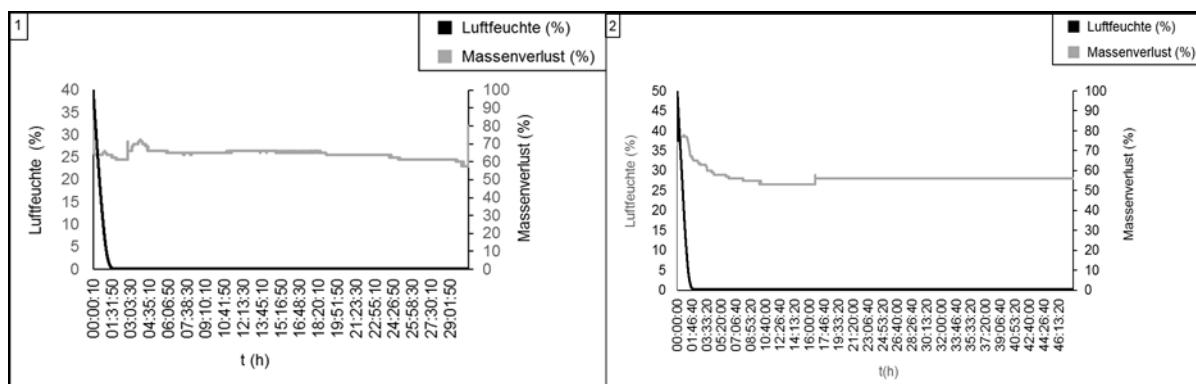


Abbildung 26: Darstellung des Gesamtverlaufes der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara hispida* über die Zeit. (1) Oospore His7, (2) Oospore His10.

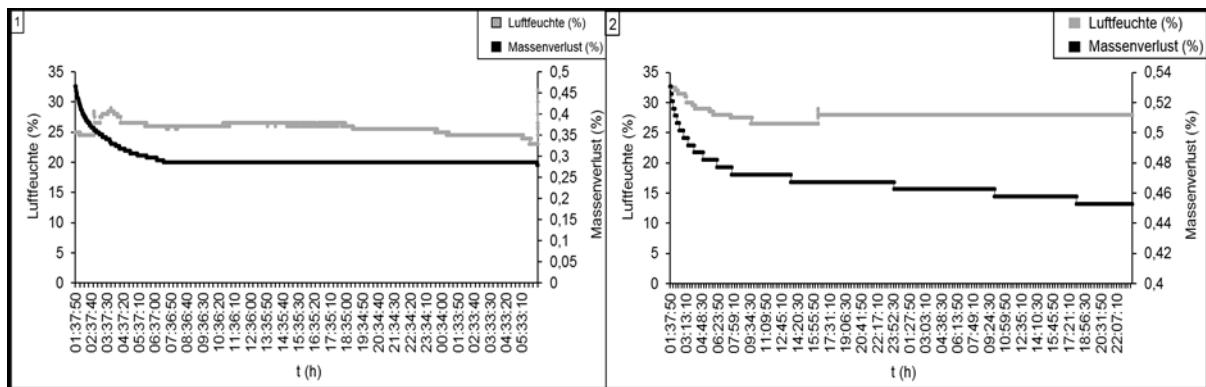


Abbildung 27: Einzelbetrachtung der Massenänderung (Massenverlust, %; vertikale Sekundärachse) sowie der Luftfeuchtigkeit (%; vertikale Primärachse) von Oosporen der Art *Chara hispida* nach Verdunstung des äußerlich anhaftenden Wassers. (1) Oospore His7, (2) Oospore His10.

Tabelle 20: Zusammenstellung der Ergebnisse der Masseuntersuchung von Oosporen der Art *Chara hispida* L.1753. Trocknung der Oosporen im Trockenschrank (48h; 60°C) bzw. Aufnahme der Masse mittels Waage (CAHN C-30 MICROBALANCE). Masseangaben (μg): m_0 = Masse zu Beginn der Messung; Δm = Änderung der Masse (μg).

Oospore	Trockenschrank			Waage						
	Masse			Masse			Luftfeuchte			
	m_0	Δm	Massenverlus t (%)	Oospore	m_0	Δm	Massenverlus t (%)	rel. LF	rel. LF	ΔLF
His1	0,235	0,16	68,09	His1	20,735	20,657	99,62	25	32	-7
His2	0,299	0,243	81,27	His2	9,438	9,366	99,24	32	26,5	5,5
His3	0,214	0,142	66,36	His3	21,51	21,398	99,48	27	26,5	0,5
His4	0,31	0,289	93,23	His4	15,367	15,238	99,16	27,5	26,5	1
His5	0,265	0,2	75,47	His5	17,688	17,574	99,36	26,5	27,5	-1
His6	0,333	0,25	75,08	His6	14,796	14,705	99,38	29	28,5	0,5
His7	0,345	0,324	93,91	His7	18,223	18,174	99,73	26,5	28	-1,5
His8	0,287	0,208	72,47	His8	21,291	21,269	99,90	25,5	31	-5,5
His9	0,291	0,186	63,92	His9	20,711	20,61	99,51	33	41	-8
His10	0,325	0,223	68,62	His10	20,539	20,446	99,55	36,5	28	8,5
His11	0,255	0,173	67,84	His11	20,649	20,529	99,42	27,5	29	-1,5
His12	0,369	0,294	79,67	His12	16,999	16,927	99,58	28,5	26,5	2
His13	0,358	0,279	77,93	His13	18,468	18,383	99,54	31,5	39	-7,5
His14	0,467	0,384	82,23	His14	20,318	20,215	99,49	26,5	24	2,5
His15	0,421	0,319	75,77	His15	21,472	21,356	99,46	28,5	31,5	-3
His16	0,395	0,284	71,90	His16	23,556	23,457	99,58	27	27	0
His17	0,374	0,224	59,89	His17	20,951	20,891	99,71	28,5	26,5	2
His18	0,311	0,213	68,49	His18	18,369	18,268	99,45	26	34	-8
His19	0,286	0,187	65,38	His19	14,328	14,212	99,19	29,5	27,5	2
His20	0,318	0,212	66,67	His20	21,53	21,421	99,49	28	26,5	1,5
His21	0,295	0,269	91,19	His21	26,785	26,688	99,64	28	32	-4
His22	0,236	0,132	55,93	His22	10,395	10,287	98,96	27	26,5	0,5
His23	0,288	0,267	92,71	His23	15,328	15,227	99,34	28	26,5	1,5
His24	0,411	0,353	85,89	His24	26,859	26,756	99,62	31,5	29,5	2
His25	0,239	0,144	60,25	His25	24,331	24,232	99,59	25,5	32,5	-7
His26	0,279	0,19	68,10	His26	27,554	27,452	99,63	26,5	24,5	2
His27	0,265	0,154	58,11	His27	20,365	20,329	99,82	26	30	-4
His28	0,294	0,189	64,29	His28	21,861	21,764	99,56	32	28,5	3,5
His29	0,238	0,141	59,24	His29	21,495	21,394	99,53	27,5	27	0,5
His30	0,288	0,19	65,97	His30	22,059	22,011	99,78	28,5	34	-5,5
His31	0,361	0,258	71,47	His31	16,358	16,257	99,38	26,5	26	0,5
His32	0,385	0,284	73,77	His32	8,356	8,256	98,80	28	28	0
His33	0,311	0,206	66,24	His33	20,663	20,55	99,45	33,5	31,5	2
His34	0,314	0,205	65,29	His34	18,479	18,387	99,50	31,5	29,5	2
His35	0,348	0,248	71,26	His35	17,555	17,465	99,49	28	27,5	0,5
His36	0,296	0,197	66,55	His36	21,668	21,571	99,55	26,5	24	2,5
His37	0,222	0,115	51,80	His37	26,333	26,231	99,61	34	29,5	4,5
His38	0,247	0,132	53,44	His38	10,447	10,344	99,01	29	24,5	4,5
His39	0,283	0,185	65,37	His39	21,884	21,784	99,54	36	28,5	7,5
His40	0,269	0,17	63,20	His40	23,556	23,457	99,58	28,5	28	0,5
His41	0,238	0,143	60,08	His41	16,889	16,786	99,39	30,5	29,5	1
His42	0,296	0,193	65,20	His42	23,587	23,487	99,58	26,5	26	0,5
His43	0,32	0,219	68,44	His43	21,22	21,109	99,48	31,5	34	-2,5
His44	0,247	0,129	52,23	His44	19,634	19,532	99,48	29,5	28	1,5
His45	0,395	0,286	72,41	His45	8,596	8,487	98,73	29	31	-2
His46	0,226	0,127	56,19	His46	16,732	16,626	99,37	27	26,5	0,5
His47	0,215	0,119	55,35	His47	18,331	18,238	99,49	32	28,5	3,5
His48	0,284	0,184	64,79	His48	21,658	21,561	99,55	30,5	28,5	2
His49	0,266	0,172	64,66	His49	26,259	26,153	99,60	25,5	36	-10,5
His50	0,276	0,174	63,04	His50	16,274	16,162	99,31	26,5	26	0,5

Sedimentanalysen

Das direkte Auszählen von Sedimentproben ist zurzeit die verbreitetste Methode zur Abschätzung des Wiederbesiedlungspotentials von Characeen bzw. aquatischen Pflanzen generell. Im Rahmen dieser Studie erfolgte eine Auszählung bereits im Rahmen der Keimungsexperimente (siehe 3.2.3.2). Nachdem die Proben getrocknet (4h; 60°C) und gesiebt (0,063µm; 100µm; 500µm und 1000µm) wurden, erfolgte das Auszählen der Proben.

Die Angaben über die absoluten Anzahlen der gekeimten Pflanzen; der im Sediment enthaltenen Oosporen sowie die daraus resultierende Keimungsrate (%) sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Hier wird zunächst deutlich, dass trotz Vermengung der Sedimente keine vollständige Homogenisierung erreicht wurde. Sowohl bezüglich der Anzahl der gekeimten Pflanzen pro Becherglas als auch der im Sediment enthaltenen Oosporen traten hohe Varianzen auf.

In allen drei untersuchten Gewässern (Lake Balsys; Borkener See und Obersee) konnte eine eindeutige Dominanz der Reproduktionsorgane der Characeen festgestellt werden. In den untersuchten Sedimentproben des Lake Balsys wurden ausschließlich Oosporen gefunden; der Anteil von Diasporen höherer Pflanzen war mit 0,74% (Borkener See) sowie 2,06% (Obersee) auch in den beiden anderen Gewässern sehr gering.

Die Keimungsraten wurden zunächst Becherglas-spezifisch berechnet. Die Proben des Borkener Sees weisen dabei eine hohe Varianz zwischen 0% und 85% auf. Die Proben des Lake Balsys weisen eine Keimungsrate zwischen 0,5% und 8% auf; die des Obersees liegen mit 0,8%-3% am niedrigsten. Auf Grund dieser Varianz, wurde anschließend eine standortspezifische mittlere Keimungsrate aus allen untersuchten Proben berechnet; es ergab sich für den Borkener See eine mittlere Keimungsrate von 21,8% ($\pm 28,6$), für Lake Balsys 5% ($\pm 2,3$) sowie für den Obersee bei Lanke 1,9% ($\pm 0,8$). Die Angaben in den Klammern zeigen die Standardabweichungen der berechneten Mittelwerte.

Tabelle 21: Zusammenstellung der Sedimentanalysen (Stichproben). Untersucht wurden Sedimente des Lake Balsys (LB), des Borkener Sees (BS) und des Obersees (OS). Die resultierende Keimungsrate (%) ergibt sich aus dem Verhältnis der Anzahl der Keimlinge (Keimungsexperimenten siehe 3.2.2.) sowie der im Sediment enthaltenen Oosporen nach Abschluss der Keimungsexperimente. MW – Mittelwert; SD – Standardabweichung.

Standort; Probennummer	Masse (g)		Anzahl gekeimte Pflanzen	Anzahl Oosporen Sediment	Keimungsrate (%)
	m ₁	m ₂			
LB02	165,4	163,37	3	68	4,4
LB09	130,74	123,22	1	195	0,5
LB11	65,79	64,12	6	75	8,0
LB16	94,73	91,76	7	139	5,0
LB22	55,23	53,14	9	162	5,6
LB26	45,48	39,69	5	76	6,6
MW (SD)	92,9 (43)	89,22 (42,9)	5,2 (2,9)	119,12 (49)	5 (2,3)
BS05	119,21	112,17	22	284	7,7
BS12	114,5	102,72	12	69	17,4
BS16	120,55	109,93	8	76	10,5
BS27	131,46	122,14	0	0	0,0
BS47	110,73	87,74	21	204	10,3
BS56	128,71	80,08	39	46	84,8
MW (SD)	120,9 (7,3)	102,5 (14,5)	17 (13,6)	113,2 (98,4)	21,8 (28,6)
OS1	22,16	19,27	1	122	0,8
OS11	30,72	26,17	4	138	2,9
OS21	46,85	44,35	7	370	1,9
MW (SD)	33,24 (10,24)	29,9 (10,6)	4 (2,4)	210 (113,3)	1,9 (0,8)

Flächenbezogen liegen die Oosporendichten aller drei untersuchten Gewässern im gleichen Bereich. Mit einer mittleren Oosporendichte von 11300 Oosporen m⁻² (\pm 9800) wies der Borkener See zwar die geringste Anzahl an Oosporen im Sediment auf; unterschied sich jedoch kaum vom Lake Balsys (11900 Oosporen m⁻² \pm 4900). Die Oosporendichte des Obersees betrug 21000 Oosporen m⁻² (\pm 11300).

3.3.3 Diskussion

Vitalitätsabschätzungen von Diasporen aquatischer Systeme stellen eine Seltenheit dar. Die Untersuchungen an *Najas marina* (Handley & Davy 2005) und *Zostera capricorni* Aschers. (Conacher et al. 1994) implizieren jedoch, dass der TTC-Test, die Standardmethode im terrestrischen Bereich (ISTA 2015), zumindest für höhere Pflanzen im aquatischen Bereich anwendbar ist. Diese Methode ist gegenwärtig international anerkannt für den Vitalitätsnachweis von Samen; Ihre Anwendbarkeit wurde für eine breite Palette von Arten nachgewiesen. Dazu gehören z.B. die Untersuchungen von Lakon (1939, 1942, 1949), Cottrell (1947), Porter et al. (1947) sowie Smith (1952) an Mais- und Getreidesamen; die Untersuchungen von Santos et al. (2007) an Tomaten und die Studien von Cossins & Turner (1962) sowie Noldin et al. (2006) an Reis. In all diesen Studien konnte die Anwendbarkeit dieser Methode für die Vitalitätsabschätzung von Samen erfolgreich nachgewiesen werden.

Die hier vorgestellten Ergebnisse belegen, dass auch bei Characeen-Oosporen ein Vitalitätsnachweis mittels Triphenyltetrazoliumchlorid möglich ist. Trotz der intensiven Eigenfärbung der Oosporen konnte eine Unterscheidung zwischen vitalen und nicht vitalen Oosporen anhand der Rotfärbung vorgenommen werden (Abbildung 23).

Allerdings musste eine zusätzliche Kategorie – „teilweise Rotfärbung“ – eingeführt werden. In einigen Oosporen konnte nur an Teilen der Oospore eine deutliche Rotfärbung erkannt werden (Abbildung 23; Oospore 1-4), darüber hinaus wiesen einige der untersuchten Oosporen eher eine orange – rötliche Färbung auf (Abbildung 23; Oospore 5-8). Für die Gesamtauswertung wurden diese Oosporen, in Anlehnung an die Studie von Lakon (1949) ebenfalls als „vital“ eingestuft. Diese Studien belegen, dass das Auftreten einer roten Färbung zwingend auf das Vorhandensein lebender Zellen im Samen angewiesen ist, konkret auf das Vorhandensein aktiver Dehydrogenasen. Ohne diese ist eine Reduktion des Triphenyltetrazoliumchlorids nicht möglich; die Färbung bleibt aus (Abbildung 23; Oospore 9). Das Auftreten einzelner roter Teile bzw. einer orange - rötlichen Verfärbung ist möglicherweise den Untersuchungsbedingungen geschuldet. Triphenyltetrazoliumchlorid ist eine lichtempfindliche Substanz (Lakon 1949); das Fotografieren und Vermessen der Oosporen sowie die abschließende Auswertung mittels Binokular führen zu einem Lichteinfluss, der partielle Entfärbungen zur Folge haben kann. Dazu kommt, dass das farbgebende Formazans weiter zu Hydrazidin oder Amidrazon reduziert werden kann (Jerchel & Kuhn 1950); auch diese Reaktion führt zu einem Verbllassen der Farbe.

Ein Vergleich der hier vorgestellten Daten mit Literaturwerten ist schwierig. Aus dem aquatischen Bereich liegen keine Daten zu Oosporen vor; ein Vergleich mit Daten von terrestrischen Samen erscheint auf Grund des unterschiedlichen Aufbaus der Samen sowie

der unterschiedlichen Lagerung (i.d.R. permanent feuchte Lagerung der Oosporen im Sediment) nicht sinnvoll.

Die Studien an Samen aquatisch höheren Pflanzen (Handley & Davy 2005: *Zostera marina*, Conacher et al. 1994: *Zostera capricorni*) verfolgten eine andere Zielstellung – hier ging es um Langzeiteffekte; Untersuchungen über den Zeitverlauf wurden im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt. Der Vergleich der Vitalität von Diasporen, die Sedimentproben entnommen wurden und somit von einer Lagerungszeit von > 1 Jahr im Sediment auszugehen ist, mit denen frisch entnommener Oosporen zeigt jedoch, dass die Vitalität zumindest kurzfristig im Bereich weniger Jahre in vollem Umfang erhalten bleibt. Inwieweit diese Vitalität mittelfristig abnimmt, kann mit den Ergebnissen dieser Studie nicht nachvollzogen werden – hier wären Langzeituntersuchungen notwendig. Allerdings liegen für Oosporen Veröffentlichungen vor, die den Erhalt der Vitalität über einen Zeitraum von mehr als hundert Jahren nahelegen (Stobbe et al. 2014, Rodrigo et al. 2010).

Der Nachweis der Vitalität von Oosporen über die Kinetik des Wasserverlustes erwies sich als ungeeignete Methode. Eine signifikante Unterscheidung zwischen vitalen und nicht vitalen Oosporen war damit nicht möglich. Wie in den Ergebnissen beschrieben, erwies sich die Wägegenauigkeit als unzureichend, einzig die Veränderung der relativen Luftfeuchte lieferte einen Hinweis auf den Vitalitätszustand. Erklärbar ist das mit einem erhöhten Wasserverlust von nicht vitalen Oosporen, allerdings wiesen auch diese Oosporen äußerlich kaum Schäden auf. Kleinere implodierte Stellen traten auch bei luftgetrockneten Oosporen auf die als vital eingestuft wurden und können damit nicht als Anzeichen für einen Verlust der Vitalität gewertet werden.

In den bislang publizierten Sedimentanalysen zur Abschätzung des Wiederbesiedlungspotentials von aquatischen Pflanzengruppen und -arten wurde mittels „Cut-Test“ zwischen vitalen und nicht vitalen Oosporen unterschieden (Deutsche Ostseeküste: Steinhardt & Selig 2007; 2008; 2009; 2011; Selig et al. 2009; Blindow et al. 2016; Zonobiome II – IV: u.a. Grillas et al. 1993; Bonis et al. 1995).

Die Kriterien für die Einstufung konzentrieren sich hier vor allem auf die äußere Gestalt der enthaltenen Oosporen. Ein aufgeschwollener und äußerlich intakter Zustand sowie das Vorhandensein weißer Stärke im Inneren der Oospore werden als Indiz für den vitalen Zustand der Oosporen gewertet (u.a. Matheson et al. 2005; Sederias & Coleman 2007; Rodrigo et al. 2010). Die hier vorgestellten Untersuchungen zeigen, dass diese Kriterien u.U. nicht ausreichend sind. Im Rahmen der Untersuchungen zum Wasserverlust zeigte sich, dass sowohl vitale als auch nicht vitale Oosporen kleine implodierte Stellen aufweisen können. Die Ergebnisse des TTC-Tests zeigten, dass nicht vitale Oosporen durchaus weiße Stärke

enthalten können (Abbildung 23; Oospore 9). Weder „Intaktheit“ noch das Vorhandensein der weißen Stärkekörper im Inneren der Oospore stellen demzufolge ein eindeutiges Indiz für die Vitalität dar – vor allem letzterer Befund führt zwangsläufig zu einer Überschätzung des Vitalitätsgrades von Diasporenbanken. Eine Gegenüberstellung der mit den drei Methoden ermittelten Ergebnisse zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22: Gegenüberstellung der prozentualen Anteile vitaler und nicht vitaler Oosporen mittels Nachweis über 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid, Massenänderung sowie Cut-Test.

Methode	TTC (n = 497)		Massenänderung (n=106)		Cut - Test (n=300)	
Indiz zur Unterscheidung des Vitalitätszustandes	Rotfärbung (vital)	keine Rotfärbung (nicht vital)	Abnahme rel. Luftfeuchte & Einstellung Massenplateau (vital)	Anstieg rel. Luftfeuchte & Erreichen des Wäge Nulls (0 - 0,01µg) (nicht vital)	aufgeschwollene, äußerlich intakte Oospore sowie Vorhandensein weißer Stärke (vital)	äußerlich beschädigte Oosporen, nicht aufgedunsene sowie bei Fehlen weißer Stärke (nicht vital)
Anzahl	291	206	74	32	254	46
prozentualer Anteil (Methodentest)	58,55	41,45	69,81	30,19	84,67	15,3

Mittels Cut – Test- Methode wurde die höchste Rate vitaler Oosporen nachgewiesen; 85% der Oosporen wurden als vital eingestuft, 15% der Oosporen wiesen äußerliche Beschädigungen oder das Fehlen weißer Stärkekörper auf. Mittels TTC-Test wurden deutlich weniger Oosporen als vital eingestuft. Von den knapp 500 getesteten Oosporen wiesen nur 291 eindeutige Rotfärbungen bzw. orange-rötliche Verfärbungen auf, das entspricht einem Anteil von 58,6% vitaler Oosporen. Da diese Methode auf einem Nachweis lebender Zellen beruht muss davon ausgegangen werden, dass die Differenz zur Cut-Test Methode das Mindestmaß für die Überschätzung des Vitalitätszustandes repräsentiert. Auch der Vergleich mit den Daten der Bestimmung des Wasserverlustes – hier wurden 69,8% der Oosporen als „vital“ eingestuft – deutet auf eine Überschätzung durch die Cut-Test-Methode.

Die Vermutung, dass die Cut-Test-Methode zu einer Überschätzung des Vitalitätszustandes führt, wird durch Ergebnisse aus dem terrestrischen Bereich gestützt. Mehrere Arbeiten (u.a. Gross 1990 sowie Sawma & Mohler 2002) belegten, dass mit der TTC-Methode geringere Vitalitätsraten der untersuchten Samen im Vergleich zur Cut–Test–Methode bestimmt werden.

Inwieweit diese Zahlen wirklich verlässlich sind, lässt sich hier nicht entscheiden. Auch das Vorhandensein lebender Zellen in einem komplexen Gebilde wie einem Samen bedeutet noch nicht, dass dieser Samen noch in der Lage ist, eine neue Pflanze auszubilden. Andererseits kann davon ausgegangen werden, dass eine Diaspore ohne lebende Zellen jegliche Entwicklungsmöglichkeit eingebüßt hat; ein negatives Ergebnis des TTC-Tests also in jedem Fall den Verlust jeglicher Vitalität verlässlich anzeigt. Daraus folgt, dass die hier gezogene Schlussfolgerung, dass die Cut-Test-Methode zu einer Überschätzung des Wiederbesiedlungspotentials führt, gerechtfertigt ist.

Der Grad dieser Überschätzung lässt sich mit den hier vorliegenden Daten nur relativ zur TTC-Methode abschätzen, er liegt bei ca. 30%.

Wie realistisch allerdings die TTC-Methode das Wiederbesiedlungspotential abbildet, ist hier nicht zu klären. Ein positiver TTC-Test belegt die „Vitalität“ nur insofern, als dass in der betreffenden Diaspore noch Leben existiert. Ob jedoch noch ausreichend Potential zur Entwicklung einer neuen Pflanze vorhanden ist, kann durch den Test nicht abgebildet werden – er liefert damit lediglich einen Maximalwert.

Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Vitalität von Oosporen über den Nachweis von Dehydrogenasen bestimmt werden kann. Die Frage, inwieweit der Aufwand der Testung einzelner Oosporen zum Zweck der Abschätzung des Wiederbesiedlungspotentials von Characeen gerechtfertigt ist, kann nur Gewässer-spezifisch beantwortet werden. Angesichts der hohen Oosporenzahlen einerseits sowie der vergleichsweise geringen Keimungsraten andererseits ist ggf. eine Stichprobenuntersuchung ausreichend um zu entscheiden, ob weitere Besiedlungshilfen wie z.B. die Einbringung von Impfsedimenten notwendig sind.

4 Gesamtzusammenfassung

Dass die Einbeziehung von Characeen bzw. des systemeigenen Potentials in Form der Diasporenbank durchaus Sinn macht, zeigen Studien aus den Niederlanden (Ozimek et al. 1990; van den Berg et al. 1998), die nach Nährstofflimitierung und Fischbestands-Regulierung das Element der Makrophyten, welches sowohl in der EU-WRRL als auch innerhalb der alternativ stabilen Zustände ein zentrales strukturelles Element darstellt, aktiv in den Restaurierungsprozess miteinbezogen. Trotz Zeitverzögerung konnte eine Verbesserung der Gewässerverschmutzung erreicht werden. Diese Studien zeigen auch, dass sowohl durch die Ausnutzung systemeigener Diasporen als auch durch Transplantation von Makrophyten positive Ergebnisse erreicht werden konnten. Ersteres – die Ausnutzung systemeigener Diasporen – stellt jedoch eindeutig die bevorzugte Variante der Restaurierung dar, setzt jedoch die Bestimmung der Diasporenbankzusammensetzung und deren Vitalität voraus.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten durch mehrdimensionale Analysen zumindest Fortschritte für die Bestimmung der Oosporen erzielt werden. Dennoch bleiben vor allem in Bezug auf den Einfluss äußerer Umweltbedingungen auf die Ausprägung von Oosporenmerkmalen offene Fragen, die vorab in systematischen mehrdimensionalen Ansätzen untersucht werden müssten.

Innerhalb der Untersuchungen zur Dormanzerbrechung und Keimungsinduktion der Characeaen konnte die Anwendbarkeit des physiologischen Dormanzermodells nach Hilhorst (1993) nachgewiesen werden. Auf Grundlage der erzielten Ergebnisse kann in Bezug auf die Brechung der primären Dormanzer keine Faktorenspezifität (Kältestress und Austrocknung) abgeleitet werden. Beide dieser Faktoren führen in Teilen zur Brechung der Dormanzer. Das Vorliegen einer sekundären Dormanzer kann bei den untersuchten Arten hingegen als gesichert angesehen werden. Bezuglich der Keimungsinduktion konnten sowohl die Nährstoff- als auch Lichtverfügbarkeit als Einflussfaktoren identifiziert werden.

Die Bestimmung der Vitalität von Oosporen kann über den Nachweis von Dehydrogenasen mittels 2,3,5 – Triphenyltetrazoliumchlorid erfolgen. Eine Bestimmung über den Masseverlust bzw. die „Cut-Test“ – Methode ergab sich als weniger geeignet.

Die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Erkenntnisse über die Dormanzer und Keimungsinduktion sowie die Nachweismöglichkeiten der Vitalität von Oosporen können somit einen Beitrag zur Nutzung systemeigener Diasporenbanken zu Restaurierungszwecken liefern.

5 Literaturverzeichnis

- Allen, C.R.; Angeler, D.G.; Garmestani, A.S.; Gunderson, L.H. & Holling, C.S. (2014). Panarchy: Theory and Application. *Ecosystems*. Ecosystems 17(4): 578-589.
- Amtmann, A. & Beilby, M.J. (2010). The Role of Ion Channels in Plant Salt Tolerance. In: Demidchik, V. & Maathuis, F. (Hrsg.). *Ion Channels and Plant Stress Responses, Signaling and Communication in Plants*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Anderson, M.R. & Kalff, J. (1986). Submerged aquatic macrophyte biomass in relation to sediment characteristics in ten temperate lakes. *Freshwater Biology* 19: 115-121.
- Andrews, M.; Box, R.; Fyson, A. & Raven, J.A. (1984). Source-sink characteristics of carbon transport in *Chara hispida*. *Plant, Cell and Environment* 7: 683-387.
- Asaeda, T.; Rajapakse, L. & Sanderson, B. (2007). Morphological and reproductive acclimations to growth of two charophyte species in shallow and deep water. *Aquatic Botany* 86: 393-401.
- Balevičius, A. (2001). Distribution of *Lychnothamnus barbatus* community in Lithuania. *Biologija* 2: 70-73.
- Barko, J.W. & Filbin, G.J. (1983). Influences of light and temperature on chlorophyll composition in submersed freshwater macrophytes. *Aquatic Botany* 15: 249-255.
- Barko, J.W. & Smart, R.M. (1986). Sediment-related mechanisms of growth limitation in submersed macrophytes. *Ecology* 67: 1328-1340.
- Barko, J.W.; Gunnison, D. & Carpenter, S.R. (1991). Sediment interactions with submersed macrophyte growth and community dynamics. *Aquatic Botany* 41: 41-65.
- Barrat-Segretain, M.H. (1996). Strategies of reproduction, dispersion, and competition in river plants: A review. *Vegetatio* 123: 13-37.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. (2014). Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. 2. Auflage, Academic Press, 1586S.
- Becker, R. (2016). Gefährdung und Schutz von Characeen. In: AG Characeen Deutschlands (Hrsg.): *Armleuchteralgen – die Characeen Deutschlands*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 149-192
- Beilby, M.J. (2015). Salt tolerance at single cell level in giant-celled Characeae. *Frontiers in plant Science* 6: 226.

- Berg, M.S. van den; Scheffer, M.; Coops, H. & Simons, J. (1998). The role of characean algae in the management of eutrophic shallow lakes. *Journal of Phycology* 34: 750-756.
- Bewley, J.D. & Black, M. (1982). *Physiology and Biochemistry of Seeds*. 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin.
- Bharathan, S. (1987). Bulbils of some charophytes. *Proceedings of the Indian Academy of Science (Plant Science)* 97(3): 257-263.
- Bisson, M. A. & Bartholomew, D. (1984). Osmoregulation or Turgor Regulation in *Chara*? *Plant Physiology* 74: 252-255.
- Bisson, M. A. & Kirst, G.O. (1995). Osmotic Acclimation and Turgor Regulation in Algae. *Naturwissenschaften* 82: 461-471.
- Blindow, I. (1992). Decline of charophytes during eutrophication: comparison with angiosperms. *Freshwater Biology* 28: 9-14.
- Blindow, I.; Dietrich, J.; Möllmann, N. & Schubert, H. (2003). Growth, photosynthesis and fertility of *Chara aspera* under different light and salinity conditions. *Aquatic Botany* 76: 213-243.
- Blindow, I.; Rost, E.; Jachner, S.; Frey, S. & Dilger, M. (2004). Entwicklung eines Schlüssels zur Bestimmung von Characeen-Oosporen – Eine Projektbeschreibung. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* 13: 27-34.
- Blindow, I.; Dahlke, S.; Dewart, A.; Flügge, S.; Hendreschke, M.; Kerkow, A. & Meyer, J. (2016). Long-term and interannual changes of submerged macrophytes and their associated diaspore reservoir in a shallow southern Baltic Sea bay: influence of eutrophication and climate. *Hydrobiologia* : 1-16.
- Boedeltje, G.; ter Heerdt, G.N.J. & Bakker, J.P. (2002). Applying the seedling-emergence method under waterlogged conditions to detect the seed bank of aquatic plants in submerged sediments. *Aquatic Botany* 72: 121-128.
- Boegle, M.G.; Schneider, S.; Mannschreck, B. & Melzer, A. (2007). Differentiation of *Chara intermedia* and *C. baltica* compared to *C. hispida* based on morphology and amplified fragment length polymorphism. *Hydrobiologia* 586: 155-166.
- Boegle, M.G.; Schneider, S.C.; Schubert, H. & Melzer, A. (2010a). *Chara baltica* Bruzelius 1824 and *Chara intermedia* A. Braun 1859 – Distinct species or habitat specific modifications? *Aquatic Botany* 93: 195-201.

- Boegle, M.G.; Schneider, S.C.; Melzer, A. & Schubert, H. (2010b). Distinguishing *Chara baltica*, *C. horrida* and *C. liliifladii* – conflicting results from analysis of morphology and genetics. Charophytes 2(2): 53-58.
- Bonis, A.; Grillas, P.; van Wijck, C. & Lepart, J. (1993). The effect of salinity on the reproduction of coastal submerged macrophytes in experimental communities. Journal of Vegetation Science 4: 461-468.
- Bonis, A. & Lepart, J. (1994). Vertical structure of seed banks and the impact of depth of burial on recruitment in two temporary marshes. Vegetatio 112: 127-139.
- Bonis, A.; Lepart, J. & Grillas, P. (1995). Seed bank dynamics and coexistence of annual macrophytes in a temporary and variable habitat. Oikos 74: 81-92.
- Bonis, A. & Grillas, P. (2002). Deposition, germination and spatio-temporal patterns of charophyte propagule banks: a review. Aquatic Botany 72: 235-248.
- Borthwick, H.A.; Hendricks, S.B.; Parker, M.W.; Toole, E.H. & Toole, V.K. (1952). A reversible photoreaction controlling seed germination. Proceedings of the National Academy of Sciences 38(8): 662-666.
- Boszke, P. & Pełechaty, M. (2006). Zmienność morfologiczna oospor chara fragilis desv. w różnych typach ekosystemów wodnych Wielkopolski (materiały Kolekcji Ramienic Polski profesor Izabeli Dąmbskiej). Ekologia i Technika 14 (3): 118-122.
- Boszke, P. & Boćiąg, K. (2008). Morphological variation of oospores in the population of *Chara rudis* A. Braun in a mesotrophic lake. Polish Journal of Ecology 56(1): 139-147.
- Brand, F.; Hoheisel, D. & Kirchhoff, T. (2011). Der Resilienz-Ansatz auf dem Prüfstand: Herausforderungen, Probleme, Perspektiven. Laufener Spezialbeiträge. 78-83.
- Braun, A. (1853). Über die Richtungsverhältnisse der Saftströme in den Zellen der Characeen. Bericht über die zur Bekanntmachung geeigneten Verhandlungen der Königlichen Preußischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin 1853: 45-76.
- Braun, A. (1857). Über Parthenogenesis bei Pflanzen. Abhandlungen der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin: 336-356.
- Braun, A. & Nordstedt, O. (1883). Fragmente einer Monographie der Characeen. Nach dem hinterlassenen Manuscripten A. Braun's herausgegeben von Herrn Dr. Otto Nordstedt. Königliche Akademie der Wissenschaften, Berlin. 211S.
- Brock, M.A. & Rogers, K.H. (1998). The regeneration potential of the seed bank of an ephemeral floodplain in South Africa. Aquatic Botany 61: 123-135.

- Canfield, D.E.; Langeland, K.A.; Linda, S.B. & Haller, W.T. (1985). Relations between water transparency and maximum depth of macrophyte colonization in lakes. *Journal of Aquatic Plant Management* 23:25-28.
- Carpenter, S.; Brock, W. & Hanson, P. (1999). Ecological and Social Dynamics in Simple Models of Ecosystem Management. *Conservation Ecology* 3(2): 1-31.
- Carpenter, S.; Walker, B.; Anderies, J.M. & Abel, N. (2001). From Metaphor to Measurement: Resilience of What to What? *Ecosystems* 4: 765-781.
- Casanova, M.T. & Brock, M.A. (1990). Charophyte germination and establishment from the seed bank of an Australian temporary lake. *Aquatic Botany* 36: 247-254.
- Casanova, M.T. & Brock, M.A. (1996). Can oospore germination patterns explain charophyte distribution in permanent and temporary wetlands? *Aquatic Botany* 54: 297-312.
- Casanova, M.T. (1997). Oospore variation in three species of *Chara* (Charales, Chlorophyta). *Phycologia* 36(4): 274-280.
- Casanova, M.T.; García, A. & Feist, M. (2003). The ecology and conservation of *Lychnothamnus barbatus* (Characeae). *Acta Micropalaeontologica Sinica* 20: 118-128.
- Casanova, M.T.; Nicol, J.M. (2009). *Chara canescens* (Characeae, Charophyceae) in the Southern Hemisphere. *Charophytes* 1(2): 55-60.
- Charalambidou, I. & Santamaria, L. (2002). Waterbirds as endozoochorous dispersers of aquatic organisms: a review of experimental evidence. *Acta Oecologica* 23: 165-176.
- Clarke, K.R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.* 18: 117-143.
- Clarke, K.R. & Green, R.H. (1988). Statistical design and analysis for a 'biological effects study'. *Marine Ecol. Progr. Series* 46: 213-216.
- Clarke, K.R. & Warwick; R.M. (2001). Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth.
- Conacher, C.A.; Poiner, I.R.; Butler, J.; Pun, S. & Tree, D.J. (1994). Germination storage and viability testing of seeds of *Zostera capricorni* Aschers. from a tropical bay in Australia. *Aquatic Botany* 49: 47-58.
- Conn, J.S.; Beattie, K.L. & Blanchard, A. (2006). Seed viability and dormancy of 17 weed species after 19.7 years of burial in Alaska. *Weed Science* 54: 464-470.

- Constanzo, E.; Gulino, M.; Lanzanò, L.; Musumeci, F.; Scordino, A.; Tudisco, G & Sui, L. (2008). Single seed viability checked by delayed luminescence. European Biophysics Journal 37: 235-238.
- Corillion, R. (1957). Les Charophycees de France et d'Europe occidentale. Bulletin de Société Scientifique de Bretagne. Koenigstein: Koeltz.
- Cossins, E.A. & Turner, E.R. (1962). Losses of Alcohol and Alcohol Dehydrogenase activity in germinating seeds. Annals of Botany 26(104): 591-597.
- Cottrell, H.U. (1947). Tetrazolium Salt as a Seed germination Indicator. Nature 159: 748.
- Crocker, W. (1916). Mechanics of Dormancy in Seeds. American Journal of Botany 3(3): 99-120.
- Dale, N.; Lunn, G.; Fensom, D.S. & Williams, E.J. (1983). Rates of Axial Transport of ¹¹C and ¹⁴C in Characean Cells: Faster Than Visible Streaming. Journal of Experimental Botany 34(135): 130-143.
- De Bary, A. (1871). Ueber den Befruchtungsvorgang bei den Charen. Monatsberichte der Akademie der Wissenschaften zu Berlin, 227-239.
- De Winton, M.D.; Clayton, J.S. & Champion, P.D. (2000). Seedling emergence from seed banks of 15 New Zealand lakes with contrasting vegetation histories. Aquatic Botany 66: 181-194.
- De Winton, M.D.; Casanova, M.T. & Clayton, J.S. (2004). Charophyte germination and establishment under low irradiance. Aquatic Botany 79: 175-187.
- De Winton, M.D.; Dugdale, T.M. & Clayton, J.S. (2007). An identification key for oospores of the extant charophytes of New Zealand. New Zealand Journal of Botany 43(3): 463-476.
- Donald, W.W. (1994). A Method of Validating the Tetrazolium Assay for Testing Viability of Dormant Jointed Goatgrass (*Aegilops cylindrica*) Seed. Weed Science 42: 502-508.
- Ernst, A. (1921). Die Nachkommenschaft aus amphimiktisch und apogam entstandenen Sporen von *Chara crinita*. Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre 25 (3-4): 185-197.
- Finch-Savage, W.E. & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171: 501-523.

- Forsberg, C. (1965). Sterile germination of oospores of Chara and seeds of *Najas marina*. *Physiologia Plantarum* 18: 128-137.
- Forsberg, C. (1966). Sterile germination requirements of seeds of some water plants. *Physiologia Plantarum* 19: 1105-1109.
- Fritsch, F.E. (1935). The structure and reproduction of the Algae. Cambridge University Press, Cambridge, S 447-469.
- Fukuhara, H. & Sakamoto, M. (1987). Enhancement of inorganic nitrogen and phosphate release from lake sediment by tubificid worms and chironomid larvae. *Oikos* 48: 312-320.
- Gewässergütebericht 1995 (1997). Gütezustand der oberirdischen Gewässer, der Küstengewässer und des Grundwassers in Mecklenburg-Vorpommern. Ministerium für Landschaftsplanung und Umweltmanagement Mecklenburg-Vorpommern (Hrsg.). 296S.
- Gleick, P.H. (1993). Water in Crisis. A Guide to the World' Fresh Water Resources. Oxford University Press, New York. 1993S.
- Goebel, K. (1902). Ueber Homologien in der Entwicklung männlicher und weiblicher Geschlechtsorgane. *Flora* 90: 279-305.
- Green, A.J.; Figuerola, J. & Sánchez, M.I. (2002). Implications of waterbird ecology for the dispersal of aquatic organisms. *Acta Oecologica* 23: 177-189.
- Gregor, T.; Blindow, I.; Raabe, U.; Schubert, H. & Stewart, N. (2014). Proposal to conserve the name *Chara hispida* (Characeae) with a conserved type. *Taxon* 63: 933-934.
- Grillas, P.; García-Murillo, P.; Geertz-Hansen, O.; Marbá, N.; Montes, C.; Duarte, C.M.; Tan Ham, L. & Grossmann, A. (1993). Submerged macrophyte seed bank in a Mediterranean temporary marsh: abundance and relationship with established vegetation. *Oecologia* 94: 1-6.
- Grime, J.P. (1979). Plant strategies, vegetation process, and ecosystem properties. 2nd edition, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England. 417S.
- Grime, J.P.; Mason, G.; Curtis, A.V.; Rodman, J. & Band, S.R. (1981). A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology* 69(3): 1017-1059.
- Gross, K.L. (1990). A comparison of methods for estimating seed numbers in the soil. *Journal of Ecology* 78: 1079-1093.

- Groves, J. & Bullock-Webster, G.R. (1920). The British Charophyta Vol.1. Nitellae. London.
- Groves, J. & Bullock-Webster, G.R. (1920). The British Charophyta Vol.2. Chareae. London.
- Haas, J.N. (1994). First identification key for charophyte oospores from central Europe. European Journal of Phycology 29(4): 227-235.
- Handley, R.J. & Davy, A.J. (2005). Temperature effects on seed maturity and dormancy cycles in an aquatic annual, *Najas marina*, at the edge of its range. Journal of Ecology 93: 1185-1193.
- Harper, J.L. (1959). The ecological significance of dormancy and its importance in weed control. Proceedings of the IVth International Congress of crop protection. Vol. I, Braunschweig, Selbstverlag des IV. Internationalen Pflanzenschutz-Kongresses, 415-420.
- Hellebust, J.A. (1976). Osmoregulation. Annual Review of Plant Physiology 27: 485-505.
- Hilhorst, H.W.M. (1993). New aspects of seed dormancy. Proceedings of the Fourth International Workshop on Seeds: Basic and Applied Aspects of Seed Biology. Vol. II, 571-579.
- Hilhorst, H.W.M. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. Seed Science Research 5: 61-73.
- Hilhorst, H.W.M. (1998). The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. Seed Science Research 8:77-90.
- Holling, C.S. (1973). Resilience and stability of ecological systems. Annual review of ecology and systematics 4, 1-23.
- Horn af Rantzien, H. (1956). Morphological terminology relating to female Charophyte and fructifications. Botaniska Notiser 109: 212-259.
- Horn af Rantzien, H. (1959). Comparative studies of some modern, cenozoic, and mesozoic charophyte fructifications. Doctoral thesis, Stockholm.
- Hutorowicz, A. (2008). Oospores of *Chara tomentosa* from Holocene sediments of Lake Zeribar (Iran). Biologia 63(2): 162-166.
- Imahori, K. & Iwasa, K. (1965). Pure Culture and Chemical Regulation of the Growth of Charophytes. Phycologia 4(3): 127-134.

International Joint Commission (IJC) (1986). A Phosphorus Diet for the Lower Lakes. Executive summary of the US Task Force Plans for the Phosphorus Load Reduction to Lake Erie, Lake Ontario, and Saginaw Bay. IJC, Windsor, Ontario.

International Seed Testing – Association (ISTA) (2015). International Rules for Seed Testing. The topographical tetrazolium test. 6-1 – 6-25.

Jeppesen, E.; Jensen, J.P.; Søndergaard, M.; Lauridsen, T.; Pedersen, L.J. & Jensen, L. (1997). Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. *Hydrobiologia* 342/343: 151-164.

Jensen, C.O.; Sacks, W. & Baldauski, F.A. (1951). The reduction of Triphenyltetrazoliumchloride by Dehydrogenases of corn embryos. *Science* 113 (2925): 65-66.

Jerchel, D. & Kuhn, R. (1950). Über stufenweise Hydrierung von Tetrazoliumsalzen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 568(3): 185-192.

John, D.M & Moore, J.A. (1987). An SEM study of the oospore of some *Nitella* species (Charales, Chlorophyta) with descriptions of wall ornamentation and an assessment of its taxonomic importance. *Phycologia* 26(3): 334-355.

John, D.M.; Moore, J.A. & Green, D.R. (1990). Preliminary observations on the structure and ornamentation of the oosporangial wall in *Chara* (Charales, Chlorophyta). *British Phycological Journal* 25(1): 1-24.

Kalin, M. & Smith, M.P. (1988). *Chara* Process: Biological Polishing of Alkaline Effluents. Final Report. 101S.

Kalin, M. & Smith, M.P. (2007). Germination of *Chara vulgaris* and *Nitella flexilis* oospores: What are the relevant factors triggering germination? *Aquatic Botany* 87: 235-241.

Kaplan, Z. (2008). A taxonomic revision of *Stuckenia* (Potamogetonaceae) in Asia, with notes on the diversity and variation of the genus on a worldwide scale. *Folia Geobotanica* 43: 159-234.

Karaguzel, O.; Cakmakci, S.; Ortacesme, V. & Aydinoglu, B. (2004). Influence of seed coat treatments on germination and early seedling growth of *Lupinus varius* L. *Pakistan Journal of Botany* 36(1): 65-74.

KarsSEN, C.M. (1982). Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. In: Khan, A.A. (1982). The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination. 547S.

- Kauss, H. (1969). Osmoregulation mit α -Galaktosylglyzeriden bei Ochromonas und Rotalgen. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft 82 (1/2): 115-125.
- Keddy, P.A. (1976). Lakes as islands: the distributional ecology of two aquatic plants, *Lemna minor* L. and *L. trisulca* L.. Ecology 57: 353-359.
- Kent, M. & Coker, P.(1992). Vegetation Description and Analysis: A Practical Approach. John Wiley and Sons, Chichester, 363S.
- Kirk, J. (1994). Light & Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kirst, G.O. & Bisson, M.A. (1979). Regulation of Turgor Pressure in Marine Algae: Ions and Low-molecular-weight Organic Compounds. Australian Journal of Plant Physiology 6: 539-556.
- Kirst, G.O.; Janssen, M.I.B. & Winter, U. (1988). Ecophysiological investigations of *Chara vulgaris* L. grown in a brackish water lake: ionic changes and accumulation of sucrose in the vacuolar sap during sexual reproduction. Plant, Cell and Environment 11: 55-61.
- Kopyra, M. & Gwóźdż, E.A. (2003). Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. Plant Physiology and Biochemistry 41: 1011-1017.
- Korte, E.; Gregor, T. & König, A. (2009). Aquatische Makrophyten in hessischen Stillgewässern. Frankfurt am Main, Botanik und Naturschutz in Hessen 22: 11-45.
- Korte, E.; Krautkrämer, V.; Pätzold, F. & van de Weyer, K. (2010). Brackwasserarmleuchteralge (*Chara canescens*) und Faden-Armleuchteralge (*Chara filiformis*) im Borkener See. Zwei bemerkenswerte Neunnachweise für Hessen. Frankfurt am Main, Botanik und Naturschutz in Hessen 23: 55-62.
- Krause, W. (1997). Charales (Charophyceae). In: Ettl, H.; Gärtner, G.; Heynig,H. & Mollenhauer, D. (Hrsg.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 18, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Kröpelin, S. & Soulié-Märsche, I. (1991). Charophyte Remains from Wadi Howar as Evidence for Deep Mid-Holocene Freshwater Lakes in the Eastern Sahara of Northwest Sudan. Quaternary Research 36: 210-223.
- Kruskal, J.B. & Wish, M. (1978). Multidimensional scaling. Sage University paper series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 11.

- Kuhn, R.; & Linke, F. (1952). Quantitativer Vergleich der enzymatischen Hydrierung von Methylenblau (MB) und von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Justus Liebigs Annalen der Chemie 578(1): 155-159.
- Kuhn, R.; Pfleiderer, G. & Schulz, W. (1952). Über die Reduktion von TTC durch Maissamen. Justus Liebigs Annalen der Chemie 578(1): 159-170.
- Küster, A. (1997). Ökophysiologische Charakterisierung der Characeenbestände an der Küste Mecklenburg-Vorpommerns. Rostock, Universität Rostock, Diplomarbeit. 196S.
- Lakon, G. (1942). Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit von Mais durch Tetrazoliumsalze. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 60(9): 434-444.
- Lakon, G. (1949). The topographical tetrazolium method for determining the germinating capacity of seeds. Plant Physiology 24(3): 389-394.
- Lambers, H. & Posthumus, F. (1980). The Effect of Light Intensity and Relative Humidity on growth Rate and Root Respiration of *Plantago lanceolata* and *Zea mays*. Journal of Experimental Botany 31(125): 1621-1630.
- Lauridsen, T.L.; Jensen, J.P.; Jeppesen, E. & Søndergaard, M. (2003). Response of submerged macrophytes in Danish lakes to nutrient loading reductions and biomanipulation. Hydrobiologia 506-509: 641-649.
- Lehmann, A. & Lachavanne, J.-B. (1999). Changes in the water quality of Lake Geneva indicated by submerged macrophytes. Freshwater Biology 42: 457-466.
- Leitch, A.R. (1989). Formation and ultrastructure of a complex, multilayered wall around the oospore of *Chara* and *Lamprothamnium* (Characeae). British Phycological Journal 24(3): 229-236.
- Lessing, C.F. (1835). Beitrag zur Flora des südlichen Urals und der Steppen. Linnaea 9(2): 145-213.
- Lewandowski, J.; Schäuser, I. & Hupfer, M. (2003). Long term effects of phosphorus precipitations with alum in hypereutrophic Lake Süsser See (Germany). Water Research 37: 3194-3204.
- Loiseleur – Deslongchamps, J.L.A. (1810). Notice sur les plantes à ajouter à la flore de France. Flora Gallica, Paris. 169S.
- Lüttge, U.; Kluge, M. & Bauer, G. (1988). Botanik. Ein grundlegendes Lehrbuch. 1. Auflage; Weinheim, Basel, Cambridge, New York, VCH-Verlagsgesellschaft. 577S.

- Majak, M.; Craigie, J. & McLchlan, J. (1966). Photosynthesis in algae. I. Accumulation products in the Rhodophyceae. Canadian Journal of Botany 44(5): 541-549.
- Makarewicz, J.C. & Bertram, P. (1991). Evidence for the Restoration of the Lake Erie Ecosystem. BioScience 41(4): 216-223.
- Mann, H. & Nambudiri, E.M.V. (2005). Charophytes of Insular Newfoundland II: *Chara evoluta* and *Chara canescens*. Canadian Field-Naturalist 119: 26-37.
- Mannschreck, B. (2003). Genetische und morphologische Differenzierung ausgewählter Arten der Gattung *Chara*. Dissertation, Technische Universität München, München. 166S.
- Matheson, F.E.; de Winton, M.D.; Clayton, J.S.; Edwards, T.M. & Mathieson, T.J. (2005). Responses of vascular (*Egeria densa*) and non-vascular (*Chara globularis*) submerged plants and oospores to contrasting sediment types. Aquatic Botany 83: 141-153.
- Melzer, A. (1999). Aquatic macrophytes as tools for lake management. Hydrobiologia 395/396: 181-190.
- Melzer, A. (2006). Erstellung eines digitalen Kartenprodukts „Makrophytenverbreitung im Goitsche See anhand von Fernerkundungsdaten. Projektbericht, 26S.
- Merritt, D.J.; Turner, S.R.; Clarke, S. & Dixon, K.W. (2007). Seed dormancy and germination stimulation syndromes for Australian temperate species. Australian Journal of Botany 55(3): 336-344.
- Meyer, A.; Combroux, I. & Trémolières, M. (2013). Dynamics of nutrient contents (phosphorus, nitrogen) in water, sediment and plants after restoration of connectivity in side-channels of the river rhine. Restoration Ecology 21:232-241.
- Michalak, A.M.; Anderson, E.J.; Beletsky, D.; Boland, S.; Bosch, N.S.; Bridgeman, T.B.; Chaffin, J.D.; Cho, K.; Confesor, R.; Daloğlu, I.; DePinto, J.V.; Evans, M.A.; Fahnenstiel, G.L.; He, L.; Ho, J.C.; Jenkins, L.; Johengen, T.H.; Kuo, K.C.; LaPorte, E.; Liu, X.; McWilliams, M.; Moore, M.R.; Posselt, D.J.; Richards, R.P.; Scavia, D.; Steiner, A.L.; Verhamme, E.; Wright, D.M. & Zagorski, M.A. (2013). Record-setting algal-bloom in Lake Erie caused by agricultural and meteorological trends consistent with expected future conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 110(16): 6448-6452.
- Middelboe, A.L. & Markager, S. (1997). Depth limits and minimum requirements of freshwater macrophytes. Freshwater Biology 37: 553-568.

- Migula, W. (1898). Die Characeen Deutschlands, Österreich und der Schweiz unter Berücksichtigung aller Arten Europas. In: Kryptogamen Flora von Deutschland, Deutsch-Österreich und der Schweiz. Band 5, E. Kummer, Leipzig, 765S.
- Moeller, R.E.; Burkholder, J.M. & Wetzel, R. G. (1988). Significance of sedimentary phosphorus to a rooted submersed macrophyte (*Najas flexilis* (Willd.) Rostk. and Schmidt) and its algal epiphytes. Aquatic Botany 32: 261-281.
- Mohr, H. & Schopfer, P. (1992). Pflanzenphysiologie. Berlin Heidelberg, Springer Verlag, 4. Aufl., 659S.
- Moss, B. (1989). Shallow lakes biomanipulation and eutrophication. CEEP-Newsletter 29.
- Munda, I.M. & Zavodnik, D. (1967). Algenbestände als Konzentrationen organischen Materials im Meer. Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen 15(1): 622-629.
- Munda, I.M. & Kremer, B.P. (1977). Chemical Composition and Physiological Properties of Fucoids under Conditions of Reduced Salinity. Marine Biology 42: 9-15.
- Muuß, U.; Petersen, M. & König, D. (1973). Die Binnengewässer Schleswig-Holsteins.
- Noldin, J.A.; Chandler, J.M. & McCauley, G.N. (2006). Seed longevity of red rice ecotypes buried in soil. Planta Daninha 24(4): 611-620.
- Nordstedt, O. (1889). De Algis et Characeis. III-VI. Acta Universitat Lundensis. Tom. XXV. 4, 41S.
- Nowak, P.; Schubert, H. & Schaible, R. (2011). Genetic analysis of the Characeae. Report of Project 511 – 2009 – 043384 of the county administrative board of Stockholm, Sweden. University of Rostock, Rostock. 21S.
- Nowak, P. (2015). Artkonzepte bei Makroalgen – Anwendbarkeit genetischer Methoden zur Unterstützung morphologischer Artabgrenzungen an den Gattungen *Chara* und *Fucus*. Universität Rostock, Dissertation, 130S.
- Ogboghodo, I.A.; Iruaga, E.K.; Osemwota, I.O. & Chokor, K.J.U. (2003). An assessment of the effects of crude oil pollution on soil properties, germination and growth of maize (*Zea mays*) using two crude types – forcados light and escravos light. Environmental Monitoring and Assessment 96: 143-152.
- Okazaki, Y.; Shimmen, T. & Tazawa, M. (1984). Turgor Regulation in a Brackish Charophyte, *Lamprothamnium succinctum* II. Changes in K+, Na+ und Cl Concentrations, Membrane Potential and Membrane Resistance during Turgor Regulation. Plant & Cell Physiology 26(4): 573-581.

- Olsen, S. (1944). Danish charophyta. Chorological, ecological and biological investigation. Biologiske skifter, Bind 2, Nr.1. Det Kongelige Danske Videskabernes Selskap, Denmark.
- Omami, E.N.; Haigh, A.M.; Medd, R.W. & Nicol, H.I. (1999). Changes in germinability, dormancy and viability of *Amaranthus retroflexus* as affected by depth and duration of burial. Weed Research 39(5): 345-354.
- Ozimek, T.; Gulati R.D. & van Donk, E. (1990). Can macrophytes be useful in biomanipulation of lakes? The Lake Zwemlust example. Hydrobiologia 200/201: 399-407.
- Pardey, A. (1992). Vegetationsentwicklung kleinflächiger Sekundärgewässer. Untersuchungen zur Flora, Vegetation und Sukzession von Kleingewässerneuanlagen unter Berücksichtigung der Standortverhältnisse in Norddeutschland. J.Cramer, Berlin/Stuttgart, 178S.
- Penfield, S. & King, J. (2009). Towards a systems biology approach to understanding seed dormancy and germination. Proceedings of the Royal Society B - Biological Sciences 276: 3561-3569.
- Porter, R.H.; Durell, M. & Romm, H.J. (1947). The use of 2,3,5 – Triphenyl-tetrazoliumchloride as a measure of seed germinability. Plant Physiology 22(2):149-159.
- Pringsheim, N. (1863). Ueber die Vorkeime und die nacktfüßigen Zweige der Charen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 3. Band. August Hirschwald, Berlin, S 294-324.
- Proctor, V.W. (1962). Viability of *Chara* oospores taken from migratory water birds. Ecology 43(3): 528-529.
- Proctor, V.W. (1967). Storage and germination of *Chara* oospores. Journal of Phycology 3: 90-92.
- Pons, T.L. (2000). Seed Responses to Light. In: Fenner, M. (2000). Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. 2.Auflage, Wallingford, CABI Publishing, 410S.
- Raabe, U.; Pukacz, A.; Peschel, T. & Müller, R. (2012). Die Bart-Glanzarmleuchteralge *Lychnothamnus barbatus* (MEYEN) LEONH., in Deutschland wieder aufgefunden. Verhandlungen des Botanischen Vereins von Berlin und Brandenburg 145: 235-248.
- Reed, R.H.; Collins, J.C. & Russel, G. (1980). The Effect of Salinity upon Galactosyl-Glycerol Content and Concentration of the Marine Red Alga *Porphyra purpurea* (Roth) C. Ag. Journal of Experimental Botany 31 (125): 1539-1554.

- Reitzel, K.; Hansen, J.; Andersen, F.Ø.; Hansen, K.S. & Jensen, H.S. (2005). Lake Restoration by Dosing Aluminium Relative to Mobile Phosphorus in the Sediment. *Environmental Science & Technology* 39: 4134-4140.
- Remmert, H. (1989). Ökologie. Ein Lehrbuch. Berlin Heidelberg, Springer- Verlag, 4. Aufl., 374S.
- Reynolds, T. & Thompson, P.A. (1972). Effects of Kinetin, Gibberellins and (\pm) Abscisic acid on the germination of Lettuce (*Lactuca sativa*). *Physiologia plantarum* 28: 516-522.
- Ridley, H.N. (1930). The Dispersal of Plants throughout the world. Ashford, Kent, Reeve. 744S.
- Rodrigo, M.A.; Alonso-Guillén, J.L.; Soulié-Märsche, I. (2010). Reconstruction of the former charophyte community out of the fructifications identified in Albufera de València lagoon sediments. *Aquatic Botany* 92: 14-22.
- Romanov, R.E. & Kipriyanova, L.M. (2010). Charophyte species diversity and distribution on the South of the West-Siberian Plain. *Charophytes* 2(2): 72-86.
- Sabbatini, M.R.; Argüello, J.A.; Fernández, O.A. & Bottini, R.A. (1987). Dormancy and Growth-inhibitor levels in Oospores of *Chara contraria* A.Braun ex Kütz. (Charophyta). *Aquatic Botany* 28: 189-194.
- Sachs, J. (1874). Die Characeen. Leipzig, Verlag von Wilhelm Engelmann, 295-305.
- Sagert, S. & Schbert, H. (1999). Das Unterwasserlichtklima der Darss-Zingster-Boddenkette. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* 7: 135-155.
- Sand-Jensen, K. & Søndergaard, M. (1978). Growth and production of isoetids in oligotrophic Lake Kalgaard, Denmark. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 20: 659-666.
- Santos, M.A.O.; Novembre, A.D.L.C. & Marcos-Filho, J.(2007). Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. *Seed Science and Technology* 35: 213- 223.
- Sawa, T. & Frame, P.W. (1974). Comparative Anatomy of Charophyta: I. Oogonia and Oospores of *Tolypella* – with Special Reference to the Sterile Oogonial Cell. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 101 (3): 136-144.
- Sawma, J.T. & Mohler, C.L. (2002). Evaluating seed viability by an unimbibed seed crush test in comparison with the tetrazolium test. *Weed Technology* 16: 781-786.

- Schaible, R. ; Gerloff-Elias, A.; Colchero, F. & Schubert, H. (2012). Two parthenogenetic populations of *Chara canescens* differ in their capacity to acclimate to irradiance and salinity. *Oecologia* 168: 343-353.
- Scheffer, M., Hosper, S.H., Meijer, M-L., Moss B. & Jeppesen, E. (1993). Alternative Equilibria in Shallow Lakes. *Trends in Ecology & Evolution* 8(8): 275-279.
- Scheffer, M. (2001). Alternative attractors of shallow lakes. *TheScientificWorld* 1, S 254-263.
- Schlungbaum, G. & Krech, M. (1999). Klassifizierung und Bewertung von Seen – die Entwicklung vom Seetypensystem bis zur EU-Wasserrahmenrichtlinie. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* 7: 45-63.
- Schneider, S.C.; Rodrigues, A.; Fosholt, M.T. & Ballot, A. (2015). DNA barcoding of the genus *Chara*: molecular evidence recovers fewer taxa than the classical morphological approach. *Journal of Phycology* 51(2): 367-380.
- Schubert, H. & Blindow, I. (2004). Charophytes of the Baltic Sea.: Koeltz, Koenigstein, 326S.
- Schubert, H.; Schneider, S.; Bögle, M. & Schaible, R. (2005). Characeen Wiederfunde im Bereich Teutschental – Röblingen – ein Nachtrag zur Roten Liste der Algen des Landes Sachsen - Anhalt. Mitteilungen zur floristischen Kartierung in Sachsen – Anhalt 10: 45-48.
- Schubert, H. (2014). Phylogeny and Taxonomy of Charophytes, good news from a battlefield of concepts. *Journal of Phycology* 50: 773-775.
- Schubert, H.; Holzhausen, A. & Nowak, P. (2016). Individualentwicklung der Characeen. In: AG Characeen (Hrsg.). *Die Armleuchteralgen Deutschlands*. Springer Verlag, Berlin, 618S.
- Schwarz, A.-M.; Hawes, I. & Howard-Williams, C. (1996). The role of photosynthesis/light relationship in determining lower depth limits of Characeae in South Islands. New Zealand lakes. *Freshwater Biology* 35: 69-80.
- Schwarz, A.-M. & Hawes, I. (1997). Effects of changing water clarity on characean biomass and species composition in a large oligotrophic lake. *Aquatic Botany* 56: 169- 181.
- Schwarz, A.-M.; de Winton, M. & Hawes, I. (2002). Species-specific depth zonation in New Zealand charophytes as a function of light availability. *Aquatic Botany* 72: 209- 217.
- Sederias, J. & Coleman, B. (2007). The interaction of light and low temperature on breaking the dormancy of *Chara vulgaris* oospores. *Aquatic Botany* 87: 229-234.

- Sederias, J. & Coleman, B. (2009). Inhibition of *Chara vulgaris* oospore germination by sulfidic sediments. *Aquatic Botany* 91: 273-278.
- Selig, U.; Steinhardt, T. & Schubert, H. (2009). Interannual variability of submerged vegetation in a brackish coastal lagoon on the southern Baltic Sea. *Ekológia* 28(4): 412-423.
- Shapiro, J.; Lamarra, V. & Lynch, M. (1975). Biomanipulation: an ecosystem approach to lake restoration. In: Brezonik, P.L. & Fox, J.L. (eds.) *Proceedings of a Symposium on Water Quality Management through Biological Control*. University of Florida, Gainesville: 69-85.
- Shen, E.Y.F. (1966). Oospore germination in two species of *Chara*. *Taiwania* 12: 39-46.
- Simpson, G.M. (1990). *Seed dormancy in Grasses*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sinkevičienė, Z. (2010). Morphological variation in *Lychnothamnus barbatus* (Meyen) Leonh. in Lake Balsys (Lithuania). *Charophytes* 2(1): 25-30.
- Skurzynski, P. & Bociąg, K. (2011). Vegetative propagation of *Chara rudis* (Characeae, Chlorophyta). *Phycologia* 50(2): 194-201.
- Smith, F.G. (1952). The mechanism of the tetrazolium reaction in corm embryos. *Plant Physiology* 27(3): 445-456.
- Sokol, R.C. & Stross, R.G. (1986). Annual germination window in oospores of *Nitella furcata* (Charophyceae). *Journal of Phycology* 22: 403-406.
- Soulié-Märsche, I. (1979). Etude comparée de gyrogonites de Charophytes actuelles et fossiles et phylogénie des genres actuels. Thesis, University of Montpellier, 341S.
- Soulié-Märsche, I. (1998). Fossil *Lamprothamnium papulosum* (Charophyta), a biomarker for seasonal rainfall in northern Mauritania. *Palaeoecology of Africa and the surrounding islands* 25: 65-76.
- Soulié-Märsche, I.; Benammi, M. & Gemayel, P. (2002). Biogeography of living and fossil *Nitellopsis* (Charophyta) in relationship to new finds from Morocco. *Journal of Biogeography* 29: 1703-1711.
- Soulié-Märsche, I. (2008). Charophytes, indicators for low salinity phases in North African sebkhet. *Journal of African Earth Sciences* 51: 69-76.
- Soulié-Märsche, I. & García, A. (2014). Gyrogonites and oospores, complementary viewpoints to improve the study of the charophytes (Charales). *Aquatic Botany* 120: 7-17.

- Steinhardt, T. & Selig, U. (2007). Spatial distribution patterns and relationship between recent vegetation and diaspore bank of a brackish coastal lagoon on the southern Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74: 205-214.
- Steinhardt, T. & Selig, U. (2008). Diasporen von Characeen und Angiospermen in Sedimenten von Küstengewässern der südlichen Ostseeküste. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* 20: 175-190.
- Steinhardt, T. & Selig, U. (2009). Comparison of recent vegetation and diaspore banks along abiotic gradients in brackish coastal lagoons. *Aquatic Botany* 91: 20-26.
- Steinhardt, T. & Selig, U. (2011). Influence of salinity and sediment resuspension on macrophyte germination in coastal lakes. *Journal of Limnology* 70(1): 11-20.
- Stevens, E. & Stevens, L. (1977). Glucose-6-phosphate Dehydrogenase activity under conditions of water limitation: a possible model system for enzyme reactions in unimbibed resting seeds and its relevance to seed viability. *Journal of Experimental Botany* 28(103): 292-303.
- Stobbe, A.; Gregor, T. & Röpke, A. (2014). Long-lived banks of oospores in lake sediments from the Trans-Urals (Russia) indicated by germination in over 300 years old radiocarbon dated sediments. *Aquatic Botany* 119: 84-90.
- Stravinskas, M. (2014) Einfluss von Umweltfaktoren auf die Morphologie von Characeae. MSc-Thesis, Universität Rostock, Rostock. 78S.
- Sudhir, P. & Murthy, S.D.S. (2004). Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42(4). 481-486.
- Takatori, S. & Imahori, K. (1971). Light reactions in the control of oospore germination of *Chara delicatula*. *Phycologia* 10(213): 221-228.
- Thomasius, H. & Schmidt, P.A. (1996). Wald, Forstwirtschaft und Umwelt. In: Buchwald, K. & Engelhardt, W. (Hrsg.). *Umweltschutz. Grundlagen und Praxis*. Band 10. Economica, Bonn, 436S
- Thompson, K. & Grime, J.P. (1979). Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* 76: 893-921.
- Thompson, K. & Ooi, M.K.J. (2010). To germinate or not to germinate: more than just a question of dormancy. *Seed Science Research* 20: 209-211.
- Throneberry, G.O. & Smith, F.G. (1955). Relation of respiratory and enzymatic activity to corn seed viability. *Plant Physiology* 30(4): 337-343.

- Uremis, I & Uygur, F.N. (2005). Seed viability of some weed species after 7 years of burial in the Cukurova region of Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences* 4(1): 1-5.
- Valk, A.G. van der & Davis, C.B. (1979). A reconstruction of the recent vegetational history of prairie marsh, Eagle Lake, Iowa, from the seed bank. *Aquatic Botany* (6): 29-51.
- Valk, A.G. van der (1986). The impact of litter and annual plants on recruitment from the seed bank of a lacustrine wetland. *Aquatic Botany* 24(1): 13-26.
- Valk, A.G. van der, Bremholm, T.L. & Gordon, E. (1999). The restoration of sedge meadows: Seed viability, seed germination requirements, and seedling growth of *Carex* species. *Wetlands* 19(4): 756-764.
- Vanderploeg, H.A.; Liebig, J.R.; Carmichael, W.W., Agy, M.A.; Johengen, T.H.; Fahnenstiel, G.L. & Nalepa, T.F. (2001). Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 1208-1221.
- Veselova, T.V.; Veselovsky, V.A.; Robin, A.B. & Bochvarov, P.Z. (1985). Delayed luminescence of air-dry soybean seeds as a measure of their viability. *Physiologia Plantarum* 65(4): 493-497.
- Vedder, F. (2004). Morphologie und Taxonomie rezenter und subfossiler Characeen-Oosporen aus der Ostsee. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* 13: 43-54.
- Vegis, A. (1964). Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 15: 185-224.
- Venable, D.L. & Brown, J.S. (1988). The selective interactions of dispersal, dormancy and seed size as adaptions for reducing risk in variable environments. *American Naturalist* 131(3): 360-384.
- Vincent, E.M. & Roberts, E.H. (1977). The interaction of light, nitrate and alternating temperature in promoting the germination of dormant seeds of common weed species. *Seed Science and Technology* 5(2): 659-670.
- Vleeshouwers, L.M.; Bouwmeester, H.J. & Karssen, C.M. (1995). Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* 83: 1031-1037.
- Wade, P.M. (1990). The colonization of disturbed freshwater habitats by Characeae. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica* 25:275-278.
- Walter, H. & Breckle, S.-W. (1983). Ökologie der Erde. Ökologische Grundlagen in globaler Sicht. Band I. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag. 238S.

- Wallman, J. (1853). Försök till en systematisk uppställning af växtfamiljen CHARACEAE. Stockholm, Norstedt & Söner. 103S.
- Wang, H.; Liu, C. & Yu, D. (2015). Morphological and reproductive differences among three charophyte species in response to variation in water depth. *Aquatic Biology* 24: 91-100.
- Wang, H.; Yu, D. & Xiao, K. (2008). The interactive effects of irradiance and photoperiod on *Chara vulgaris* L.: concerted responses in morphology, physiology and reproduction. *Hydrobiologia* 61: 33-41.
- Weyer, K. van de, Schmidt C (2011) Bestimmungsschlüssel für die aquatischen Makrophyten (Gefäßpflanzen, Armleuchteralgen und Moose) in Deutschland: Band 1: Bestimmungsschlüssel. Fachbeiträge des LUGV Brandenburg 119: 164 S. (Hrsg.) Landesamt für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (LUGV) Brandenburg, Potsdam.
- Wichmann, F. & Kirst, G.O. (1989). Adaptation of the Euryhaline Charophyte *Lamprothamnium papulosum* to Brackish and Freshwater: Turgor Ressure and Vacuolar Solute Concentrations During Steady-Stat Culture and After Hypo-osmotic Treatment. *Journal of Experimental Botany* 40 (210): 135-141.
- Wille, N.(1897). Characeae. In: Engler, A. (Hrsg.). Die natürlichen Pflanzenfamilien. Engelmann, Leipzig, S 161-175.
- Winter, U.; Meyer, M.I.B. & Kirst, G.O. (1987). Seasonal changes of ionic concentrations in the vacuolar sap of *Chara vulgaris* L. growing in a brackish water lake. *Oecologia* 74: 122-127.
- Winter, U. & Kirst, G.O. (1991). Partial Turgor Pressure Regulation in *Chara canescens* and its Implications for a Generalized Hypothesis of Salinity Response of Charophytes. *Botanica Acta* 104: 37-46.
- Winter, U. & Kirst, G.O. (1992). Turgor pressure regulation in *Chara aspera* (Charophyta): the role of sucrose accumulation in fertile an sterile plants. *Phycologia* 31(3/4): 240-245.
- Winter, U.; Soulié-Märsche, I. & Kirst, G.O. (1996). Effects of salinity on turgor pressure and fertility in *Tolypella* (Characeae). *Plant, Cell and Environment* 19: 869-879.
- Wood, R.D. (1962). New combinations and taxa in the revision of Characeae. *Taxon* 11: 7-25.
- Wood, R.D. & Imahori,K. (1965). Monograph oft he Characeae. J.Cramer-Verlag, Weinheim. 747S.

Wüstenberg, A., Pörs, Y. & Ehwald, R. (2011): Culturing of stoneworts and submersed angiosperms with phosphate uptake exclusively from an artificial sediment. Freshwater Biology 56: 1531-1539.

Zawadzki, T. & Fensom, D.S. (1986). Transnodal Transport of ^{14}C in *Nitella flexilis*. Journal of Experimental Botany 37(182): 1341-1352.

6 Anhang

Tabelle 23: Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden). Verglichen wurden Populationen der Arten *Lychnothamnus barbatus* (Lych), *Lamprothamnium papulosum* (Lamp), *Tolypella nidifica* (Tol) und *Chara tomentosa* (Chara).

SIGNIFIKANZANALYSE (Global R): 0,997 Signifikanzlevel: 0,01%		
Gruppen	R Statistik	Signifikanz Level %
Lych / Lamp	0,998	0,01
Lych / Tol	0,997	0,01
Lych / Chara	1	0,01
Lamp / Tol	0,998	0,01
Lamp / Chara	0,995	0,01
Tol / Chara	1	0,01

Tabelle 24: Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden). Verglichen wurden Populationen des diplostichen *Chara hispida*-Formenkreises.

SIGNIFIKANZANALYSE (Global R): 0,558 Signifikanzlevel: 0,01%		
Gruppen	R Statistik	Signifikanz Level %
baltica / liliobladii	0,298	0,01
baltica / papillosa (2010)	0,39	0,01
baltica / hispida (Storchenhof)	0,378	0,01
baltica / hispida (Mindelsee)	0,485	0,01
baltica / hispida (Gummanz)	0,456	0,01
baltica / papillosa (2014)	0,418	0,01
baltica / vulgaris	0,585	0,01
baltica / tomentosa	0,615	0,01
baltica / contraria	0,226	0,01
liliobladii / papillosa (2010)	0,468	0,01
liliobladii / hispida (Storchenhof)	0,269	0,01
liliobladii / hispida (Mindelsee)	0,395	0,01
liliobladii / hispida (Gummanz)	0,549	0,01
liliobladii / papillosa (2014)	0,419	0,01
liliobladii / vulgaris	0,922	0,01
liliobladii / tomentosa	0,381	0,01
liliobladii / contraria	0,544	0,01
papillosa (2010) / hispida (Storchenhof)	0,505	0,01
papillosa (2010) / hispida (Mindelsee)	0,648	0,01
papillosa (2010) / hispida (Gummanz)	0,338	0,01
papillosa (2010) / papillosa (2014)	0,216	0,01
papillosa (2010) / vulgaris	0,813	0,01
papillosa (2010) / tomentosa	0,715	0,01
papillosa (2010) / contraria	0,545	0,01
hispida (Storchenhof) / hispida (Mindelsee)	0,059	0,9
hispida (Storchenhof) / hispida (Gummanz)	0,393	0,01
hispida (Storchenhof) / papillosa (2014)	0,403	0,01
hispida (Storchenhof) / vulgaris	0,914	0,01
hispida (Storchenhof) / tomentosa	0,524	0,01
hispida (Storchenhof) / contraria	0,503	0,01
hispida (Mindelsee) / hispida (Gummanz)	0,472	0,01
hispida (Mindelsee) / papillosa (2014)	0,515	0,01
hispida (Mindelsee) / vulgaris	0,98	0,01
hispida (Mindelsee) / tomentosa	0,566	0,01
hispida (Mindelsee) / contraria	0,676	0,01
hispida (Gummanz) / papillosa (2014)	0,51	0,01
hispida (Gummanz) / vulgaris	0,978	0,01
hispida (Gummanz) / tomentosa	0,886	0,01
hispida (Gummanz) / contraria	0,45	0,01
papillosa (2014) / vulgaris	0,916	0,01
papillosa (2014) / tomentosa	0,444	0,01
papillosa (2014) / contraria	0,695	0,01
vulgaris / tomentosa	0,988	0,01
vulgaris / contraria	0,727	0,01
tomentosa / contraria	0,869	0,01

Tabelle 25: Zusammenfassung der Ergebnisse der ANOSIM-Signifikanzanalyse (Material & Methoden). Verglichen wurden parthenogenetisch und bisexuell vermehrende Populationen verschiedener Standorte.

SIGNIFIKANZANALYSE (Global R): 0,712 Signifikanzlevel: 0,01%		
Gruppen	R Statistik	Signifikanz Level %
SG untere Bucht / Weißsee	0,125	0,01
SG untere Bucht / SG obere Bucht	0,086	0,03
SG untere Bucht / Fastensee	0,826	0,01
SG untere Bucht / SG Keimung	0,078	0,1
SG untere Bucht / Poel	0,97	0,01
SG untere Bucht / Haide	0,99	0,01
SG untere Bucht / Angersdorf	0,22	0,01
Weißsee / SG obere Bucht	0,146	0,01
Weißsee / Fastensee,	0,832	0,01
Weißsee / SG Keimung	0,361	0,01
Weißsee / Poel	0,963	0,01
Weißsee / Haide	0,986	0,01
Weißsee / Angersdorf	0,117	0,03
SG obere Bucht / Fastensee	0,708	0,01
SG obere Bucht / SG Keimung	0,203	0,01
SG obere Bucht / Poel	0,901	0,01
SG obere Bucht / Haide	0,964	0,01
SG obere Bucht / Angersdorf	0,092	0,07
Fastensee / SG Keimung	0,932	0,01
Fastensee / Poel	0,519	0,01
Fastensee / Haide	0,739	0,01
Fastensee / Angersdorf	0,893	0,01
SG Keimung / Poel	0,996	0,01
SG Keimung / Haide	1	0,01
SG Keimung / Angersdorf	0,421	0,01
Poel / Haide	0,54	0,01
Poel / Angersdorf	0,97	0,01
Haide / Angersdorf	0,99	0,01

Erklärung zur Selbstständigkeit

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. In diesem Zuge habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und die aus den verwendeten Werken inhaltlich und/oder wörtlich entnommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Des Weiteren erkläre ich, dass ich mich zuvor weder an der Universität Rostock noch an einer anderen Universität um den Doktorgrad beworben habe. Die vorliegende Arbeit wurde zudem bisher bei keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt oder veröffentlicht.

Rostock, den 22.04.2016

Anja Holzhausen

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Anja Holzhausen
Geburtsdatum	10. November 1989
Geburtsort	Potsdam
Anschrift	Neue Werderstr. 43 18057 Rostock
E-Mail	anja.holzhausen@uni-rostock.de

schulische Laufbahn

08/1995 – 06/2001	„Grundschule Im Sternfeld“ in Potsdam
08/2001 – 05/2008	Leibniz – Gymnasium in Potsdam
05/2008	Allgemeine Hochschulreife

beruflicher Werdegang

10/2008 – 06/2013	Studium des Lehramtes für Gymnasium Biologie & Chemie an der Universität Rostock
06/2013	1. Staatsexamen
10/2013 – 11/2016	Promotion

wissenschaftliche Beschäftigungen

07/2013 – 09/2013	studentische Hilfskraft Aquatische Ökologie Keimungsexperimente
-------------------	---

01/2014 – 02/2014	wissenschaftliche Hilfskraft Tierphysiologie Praktikumsbetreuung Bachelor / Lehramt
01/2015 – 02/2015	wissenschaftliche Hilfskraft Tierphysiologie Praktikumsbetreuung Bachelor / Lehramt
10/2015 – dato	wissenschaftliche Hilfskraft Aquatische Ökologie Archivierung von Herbarbelegen

Sonstiges

Sprachkenntnisse	Englisch - gut in Wort und Schrift, Französisch - Grundkenntnisse Latein – Grundkenntnisse
EDV-Kenntnisse	umfassende Kenntnisse in der Anwendung von Microsoft Office, Bildvermessungsprogrammen (ImageJ, CellSens) und Biostatistikprogrammen (Primer)
Fahrerlaubnis Klasse B	

Rostock, den 02.01.2017

Anja Holzhausen