

Universität  
Rostock



Traditio et Innovatio

**Populationsgenetische und phylogeografische Untersuchungen der  
madagassischen austrocknungstoleranten Art**

***Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae)**

**Kumulative Dissertation**

zur

Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlich Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Juliane Rexroth aus Rostock

Rostock, 2023

Betreuer:

Prof. Dr. Stefan Porembski

Universität Rostock

Mathematisch-Naturwissenschaftlich Fakultät

Institut für Biowissenschaften

Allgemeine und Spezielle Botanik

Gutachter:

Prof. Dr. Stefan Porembski

Universität Rostock, Institut für Biowissenschaften, Allgemeine und Spezielle Botanik

Prof. Dr. Dietmar Quandt

Universität Bonn, Nees-Institut für Biodiversität der Pflanzen, AG Biodiversität und Evolution

Jahr der Einreichung: 2023

Jahr der Verteidigung: 2023

Für meinen Großonkel

Man muss das Unmögliche versuchen,  
um das Mögliche zu erreichen.

-Hermann Hesse-

## Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>X</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Madagaskar und Inselberge .....	1
1.2 Die Familie der Bäumchenlilien (Velloziaceae).....	6
1.3 Die Gattung <i>Xerophyta</i> .....	11
1.4 Populationsgenetische Studien von Inselbergarten .....	14
1.4.1 Mikrosatelliten als molekulare Marker.....	17
<b>2. Zielsetzung der Arbeit</b> .....	<b>21</b>
<b>3. Diskussion</b> .....	<b>23</b>
3.1 Eignung und Übertragbarkeit der neu entwickelten Mikrosatellitenmarker .....	23
3.2 Populationsgenetische Untersuchungen .....	26
3.3 Populationsstruktur von inselberg-spezifischen Arten .....	30
<b>4. Abschließende Betrachtung</b> .....	<b>34</b>
<b>5. Publikationen</b> .....	<b>36</b>
5.1 New microsatellite markers for <i>Xerophyta dasyliroides</i> (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs .....	36
5.2 An overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on tropical inselbergs .....	42
5.3 Population genetic structure of the Malagasy inselberg species <i>Xerophyta dasyliroides</i> (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications .....	53
Erklärung über den Eigenanteil an den Publikationen .....	I
Literaturverzeichnis.....	II
Abbildungsverzeichnis .....	III
Abkürzungsverzeichnis .....	III
Danksagung.....	IV
Selbständigkeitserklärung .....	V
Curriculum Vitae.....	VI
Publikationen und Kongressbeiträge.....	VII

## Zusammenfassung

Inselartige Ökosysteme, wie z.B. Inselberge, repräsentieren einen außergewöhnlichen Lebensraum. Aufgrund ihrer besonderen Entstehungsgeschichte bilden sie mitunter sehr alte Landschaftselemente. Ihre extremen edaphischen und mikroklimatischen Bedingungen fördern Pflanzenarten mit einzigartigen Anpassungsstrategien, wie z.B. der Austrocknungstoleranz. Aufgrund einer gewissen geografischen Isolation dieser terrestrischen "Insel"-Systeme sind sie besonders geeignet, um die Auswirkungen von evolutionären Einflüssen auf Artbildungsprozesse zu untersuchen. Obwohl Inselberge in den Tropen weitverbreitet vorkommen, finden sich dennoch regionale Unterschiede bezogen auf ihren Artenreichtum und der Anzahl der endemischen Pflanzen. Nur wenige Pflanzenarten besitzen für diesen Lebensraum die erforderlichen Eigenschaften und können erfolgreich in diesen inselberg-spezifischen Habitaten wachsen. So zeichnen sich diese Lebensräume auch durch das Vorhandensein typischer Pflanzengemeinschaften aus, z.B. mattenbildende Monokotyle. Die monokotyle Familie der Velloziaceae ist dabei ein wichtiges floristisches Element auf Inselbergen oder anderen Felsformationen in Südamerika, Afrika und Madagaskar. Dabei erwies sich die auf Madagaskar endemische austrocknungstolerante *Xerophyta dasyliroides* mit ihrem omnipräsenten Vorkommen als geeignetes Modell, um die genetische Populationsstruktur und den Einfluss der Inselberge als mögliche Fortpflanzungsbarrieren für Arten eingehender zu untersuchen. Insgesamt zeigte sich, dass die paläotropischen Inselberge mitunter eine starke Differenzierung zwischen verschiedenen Regionen Afrikas (West, Ost und Süd), Madagaskars und Indien aufweisen. Die Ergebnisse der populationsgenetischen Untersuchungen von *X. dasyliroides* mittels Mikrosatelliten deuten zudem auf einen geringen Genfluss zwischen den Inselbergpopulationen hin, selbst wenn sie geografisch nahe beieinander liegen. Es zeigte sich außerdem, dass der überwiegende Anteil der genetischen Diversität (> 60%) innerhalb und nur etwa 37% der Gesamtvariation auf Unterschiede zwischen den Populationen zurückgeführt werden kann. Die gefundenen distinkten Genotypen und die hohe genetische Diversität innerhalb der Populationen, womöglich mit einer lokalen Anpassung an den jeweiligen Inselbergstandort, könnten eine denkbare Erklärung für die morphologische Vielfalt innerhalb der *Xerophyta*-Art und für die regionalen beobachteten Unterschiede sein. Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern einen ersten Einblick in die Populationsstruktur von *X. dasyliroides* und in die Auswirkungen eines inselartigen Vorkommens auch von anderen austrocknungstoleranten Inselbergarten. Zudem bieten die gewonnenen Erkenntnisse mögliche Ansatzpunkte für weiterführende Untersuchungen und zur Entwicklung von Strategien zum Schutz und Erhalt dieser außergewöhnlichen Arten.

## Abstract

Island-like ecosystems, such as inselbergs, represent an exceptional habitat. Due to their unique evolutionary history, they sometimes form very ancient landscape elements. Their extreme edaphic and microclimatic conditions support plant species with unique adaptation strategies, such as desiccation tolerance. Due to the pronounced geographical isolation of these terrestrial "island" systems, they are particularly suitable for understanding the effects of evolutionary factors on speciation processes. Although inselbergs are widespread in the tropics, there are regional differences in their species richness and the number of endemic plants. Only relatively few plant species possess the necessary adaptations to cope with the specific environmental conditions on inselbergs. Typically unique plant communities, e.g. mat formed by monocots, occur. The monocotyledonous Velloziaceae is an essential floral element on inselbergs or other rock formations in South America, Africa and Madagascar. In this context, the desiccation-tolerant *Xerophyta dasylirioides*, endemic to Madagascar, with its omnipresent occurrence, proved to be a suitable model to investigate the genetic population structure and the influence of inselbergs as possible reproductive barriers for species in detail. Overall, it was shown that palaeotropical inselbergs sometimes show a strong floristic differentiation between various African (West, East and South), Madagascar and India. The results of the population genetic studies of *X. dasylirioides* using microsatellites indicate low degree of gene flow between inselberg populations, even if they are geographically close to each other. Moreover, it was found that the majority of genetic diversity (> 60%) within and only about 37% of total variation can be attributed to differences between populations. The distinct genotypes and the high genetic diversity within populations could indicate local adaptations to individual inselbergs, which could explain the considerable morphological diversity within *Xerophyta* species. The results of this work provide a first insight into the population structure of *X. dasylirioides* and the effects of an island-like occurrence of possibly other desiccation-tolerant inselberg species too. In addition, the knowledge gained offers possible starting points for further studies and developing strategies for protecting and conserving these unique habitats and their species.

# 1. Einleitung

## 1.1 Madagaskar und Inselberge

Die Naturgeschichte Madagaskars bietet tiefe Einblicke in Schlüsselkonzepte der biologischen Evolution, z.B. in die Dynamik von Ökosystemen, Vikarianz- und Radiationsereignisse oder aber auch in die Widerstandsfähigkeit der biologischen Vielfalt (Ganzhorn et al., 2001). Trotz der geografischen Nähe zu Afrika unterscheidet sich die Artenvielfalt Madagaskars sehr stark von der Afrikas. Madagaskar ist durch ein breites Spektrum von Klima- und Vegetationszonen gekennzeichnet, die von der Dornenstrauch-Halbwüste im Süden, über ein zentralgelegenes Hochplateau, bis zum feuchten Tropenregenwald im Osten reichen (Goodman et al., 2005). Der Grad des Pflanzenendemismus den man hier vorfindet, hängt mit hoher Wahrscheinlichkeit mit dem Alter dieser Insel zusammen. Denn diese war bis zur Kreidezeit (~60 Mio. Jahre) Teil des Superkontinents Gondwana. Nach der tektonischen Trennung konnte sich auf Madagaskar eine einzigartige Pflanzen- und Tierwelt entwickeln (Buerki et al., 2013). Allein die zahlreichen morphologischen Variationen der Pflanzenarten in Verbindung mit der geringen genetischen Divergenz scheint eine Signatur der Diversifizierungsprozesse zu sein, die auf Madagaskar und vielen anderen Inseln wie Hawaii (Gillespie, 2015) stattfanden. Diese natürlichen isolierten Lebensräume, wie sie von ozeanischen Inseln gebildet werden, spielten auch schon eine wesentliche Rolle in Darwins Verständnis zu der Entstehung neuer Arten. In seinen Schriften hob er die Isolation solcher Lebensräume als günstige Voraussetzung für Artbildungsprozesse hervor (Darwin, 1860; Mayr, 1963). Seit diesen ersten wissenschaftlichen Untersuchungen zur Inselbiologie ist bekannt, dass Inseln sehr interessante Phänomene hervorbringen können, wie untypische Untergruppen ökologischer und/oder taxonomischer Gruppierungen (Emerson, 2002; Patiño et al., 2017). Robert H. MacArthur und Edward O. Wilson argumentierten 1967 in ihrer 'Theorie zur Inselbiogeografie', dass Inselsysteme ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Prozessen bilden, die neue Arten ermöglichen und denen, die das Aussterben von Arten verursachen. Grundsätzlich gilt: Je größer eine Insel, desto mehr neue Arten können sich auf ihr entwickeln. Gleichzeitig ist aber auch die Vielfalt der vorherrschenden Lebensräume entscheidend (MacArthur et al., 1967). Der Grad der geografischen Isolation spielt dabei eine wesentliche Rolle und führt dazu, dass sich diese Lebensräume ebenso ökologisch von ihrer Umgebung unterscheiden. Da die beeinflussenden Umweltparameter überschaubarer bzw. kalkulierbarer sind, gelten "Insel"-

Systeme als attraktive Gebiete für die Untersuchung evolutionärer Prozesse (Antonelli et al., 2018).

Der französische Botaniker und Mediziner Philibert Commerçon beschrieb 1771 Madagaskar als „Schatzinsel der Natur“ und als „Gelobtes Land für Naturforscher“. Durch die lange Isolation und späte Besiedlung durch den Menschen, konnte sich auf Madagaskar eine einzigartige Pflanzenwelt entwickeln, die sich nicht nur deutlich von anderen geografischen Regionen unterscheidet, sondern mitunter auch nur hier zu finden ist. Mehr als 80% aller Pflanzenarten (Goodman et al., 2005; Buerki et al., 2013) sind nur auf Madagaskar heimisch. Als viertgrößte Inseln der Welt ist Madagaskar aufgrund seines unvergleichlichen Artenreichtums und seinem hohen Grad an Endemismus, in Verbindung mit dem durch den Menschen verursachten Artensterben zu einem der wichtigsten Hotspots der biologischen Vielfalt auf globaler Ebene geworden (Vences et al., 2009; Mittermeier et al., 2017; Ralimanana et al., 2022). Angesichts dieser einzigartigen Artenvielfalt nicht nur von Flora, sondern ebenso von Fauna, wurde Madagaskar auch der Status eines Megadiversitätszentrum zugesprochen. Nur zwölf Regionen weltweit haben bislang diesen Status erreicht. Sie beinhalten mehr als zwei Drittel der weltweit lebenden Arten (Myers et al., 2000). Madagaskar, aber auch einige andere globale Hotspots der Biodiversität zeichnen sich zudem dadurch aus, dass sie als alte, klimatisch gepufferte, infertile Landschaften charakterisiert sind, den sogenannten OCBILs ("old, climatically buffered, infertile landscapes"; Hopper et al., 2021). Damit sind Landschaften gemeint, die trotz langsamer Oberflächenerosion seit Millionen von Jahren in ihrer generellen Form bestehen. Dabei wurden diese Landschaften durch ihre Nähe zu den Ozeanen über ähnlich lange Zeiträume klimatisch konstant gehalten (Hopper et al., 2021). Die OCBIL-Theorie gibt zugleich auch mögliche Erklärungen zu den Anpassungsstrategien von Arten alter Abstammungslinien an die vorherrschenden edaphisch-klimatischen Bedingungen und deren geringere Ausbreitungsfähigkeit. Letzteres scheint eine gemeinsame Strategie von OCBIL Pflanzenarten zu sein. Allerdings fördert das gleichermaßen die Divergenz lokaler Populationen und trägt zur Entstehung, mitunter lokalen, Endemiten bei (Campos et al., 2021).

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf einen besonderen Lebensraum auf Madagaskar, den Inselbergen (Abb. 1.1). Aufgrund ihrer Entstehung durch intensive, aber auch langsame Verwitterungsprozesse, bilden Inselberge sehr alte Landschaftselemente. Es bedarf annähernd 2-6 Mio. Jahre, um eine Ebene um 100 m abzusenken. Ein 3-400 m hoher Inselberg, kann also 10-20 Mio. Jahre alt sein (Bremer et al., 2000). Daher handelt es sich bei Inselbergen größtenteils um sehr alte kuppelförmige monolithische Gesteinsaufschlüsse oder

–gruppen aus präkambrischem Gestein wie Granit oder Gneis (Abb. 1.1 A-C; Porembski, 2007). In Madagaskar kommen Inselberge vor allem auf dem zentralgelegenen Hochplateau vor und sind für ihre außergewöhnlich reichen, felsliebenden Artengemeinschaften trockenheitsangepasster Pflanzen bekannt (Porembski et al., 2000; Rabarimanarivo et al. 2019). Die für das zentrale Hochplateau typischen Granit-Inselberge werden im Nordwesten und Südwesten Madagaskars durch Kalk- oder Sandsteinfelsformationen abgelöst (Porembski et al., 2000). Inselberge werden auch als 'terrestrische Habitatinseln' bezeichnet. Diese terrestrischen "Insel"-Systeme sind vergleichbar mit ihren ozeanischen Gegenstücken (MacArthur et al., 1967). In beiden Fällen besteht ein gewisser Grad an geografischer Isolation, sodass genetische und phänotypische Anpassungen der Vegetation an die prägenden Bedingungen leicht beobachtet werden können (Emerson, 2002). Inselberge sind oft von offenen, sonnenexponierten Felshängen dominiert. Diese machen üblicherweise den größten Teil ihrer Oberfläche aus (Lüttge, 2008). Die Lebensbedingungen auf ihnen sind extrem harsch und unterscheiden sich deutlich von denen in ihrer Umgebung. Daher bilden Inselberge u.a. bioklimatische "Inseln" (Burke, 2003). Die hohe Sonneneinstrahlung auf den offenen Felsoberflächen führt zu hohen Temperaturen und damit zu einer hohen Verdunstungsrate. Der Mangel an Substrat auf Inselbergen sorgt zusätzlich dafür, dass Niederschläge größtenteils am nackten Felsen runterfließen, ohne gespeichert werden zu können (Lüttge, 2008). Das bedingt mitunter eine geringe Wasserverfügbarkeit für Pflanzen in diesem Lebensraum.

Die Auswirkungen der physikalischen Prozesse (z.B. Oberflächenerosion) auf diesen terrestrischen Inseln sind allerdings unter verschiedenen klimatischen Bedingungen unterschiedlich. Das ermöglicht die Existenz verschiedener Mikrohabitate (z.B. nackte Felsoberflächen, saisonale Felstümpel, erdgefüllte Senken oder Felsspalten; Porembski, 2007) mit unterschiedlichen Lebensgemeinschaften, von denen viele nur auf Inselbergen vorkommen (Porembski et al., 2000). Vielfach lassen sich auf Inselbergen regionale Unterschiede in Bezug auf deren Artenreichtum und den Grad des Endemismus feststellen. Das Auftreten einer einzigartigen Vegetation (Porembski, 2007) auf diesen sehr alten und isolierten Landschaftselementen wird vor allem durch die extremen edaphischen und mikroklimatischen Bedingungen gefördert. Verschiedene phylogeografische Untersuchungen von Inselbergarten, so z.B. von *Eucalyptus caesia* (Myrtaceae; Byrne et al., 2008), verschiedenen Bromeliaceae-Arten aus den Gattungen *Pitcairnia* (Sarthou et al., 2001; Palma-Silva et al., 2011) oder *Alcantarea* (Barbará et al., 2009), sowie von Orchideen-Arten aus der Gattung *Epidendrum* (Pinheiro et al., 2016), haben bereits erste Einblicke in die

evolutionären Prozesse gegeben, die zur Diversifizierung von Arten geführt haben könnten. Hierbei zeigte sich eine ausgeprägte phylogeografische Struktur und eine große genetische Diversität. Aus diesem Grund können Inselberge als Zentren für Artbildungsprozesse betrachtet werden, auf denen zahlreiche Lokalendemiten vorkommen (Pinheiro et al., 2016).

Aufgrund ihrer mitunter schwierigen Zugänglichkeit und/oder auch traditionellen Bedeutung als Stätten ritueller Handlungen (u.a. Begräbnisse) waren Inselberge lange vor anthropogenen Einflüssen geschützt. Gegenwärtig machen sich verstärkt negative menschliche Einflüsse (u.a. Bergbau) bemerkbar (Porembski et al., 2016).

Nur relativ wenige, oft spezialisierte Pflanzenarten besiedeln diese Extremstandorte. Besonders charakteristisch sind mattenbildende Monokotyle, die mit ihren Wurzeln direkt auf den Felshängen fixiert sind (Porembski et al., 2000). Auf diese Weise können dichte teppichartige Matten (Abb. 1.1 D-F), sowohl auf flachen als auch auf nahezu senkrechten Hängen entstehen (Porembski et al., 1998). Diese Matten erleichtern wiederum anderen Pflanzenarten (z.B. Crassulaceae, Cactaceae) die Ansiedlung auf einem Inselberg. Je nach geografischer Lage, kann die floristische Zusammensetzung dieser Matten variieren (Porembski et al., 2000; Porembski, 2007). Auf den Inselbergen Madagaskars sind vor allem Vertreter der Cyperaceae und Velloziaceae prominent (Porembski et al., 2000, Rabarimanarivo et al., 2019). Aus der Vielzahl der mattenbildenden Vertreter, fallen die Velloziaceae mit einer anderen besonderen Anpassungsstrategie auf. Nahezu alle Velloziaceae-Arten scheinen austrocknungstolerant zu sein (Gaff et al., 2013). Diese Pflanzen sind mutmaßlich in der Lage zahlreiche Zyklen von Austrocknung und Rehydratation zu überstehen, ohne dabei ihre Lebensfähigkeit zu verlieren. Dabei tolerieren sie einen Verlust des relativen Wassergehalts der Laubblätter von 80-95% (Oliver et al., 2000). Diese sogenannte vegetative Austrocknungstoleranz (Poikilohydrie) hat sich bei den Angiospermen mehrfach unabhängig entwickelt und tritt in unterschiedlichen Familien auf (Oliver et al., 2000; Tebele et al., 2021). Da man diese Anpassungsstrategie ebenso bei Samen und Pollen finden kann (Lüttge et al., 2011), ist es weniger eine seltene als mehr eine basale Strategie der Landpflanzen um Wassermangel zu überdauern. Bei den Angiospermen tritt Austrocknungstoleranz innerhalb der Eudikotylen bei Cactaceae, Gesneriaceae, Lamiaceae, Linderniaceae, Myrothamnaceae und Scrophulariaceae auf (Marks et al., 2021). Unter den Monokotylen kommt Austrocknungstoleranz bei Boryaceae, Cyperaceae, Poaceae und Velloziaceae vor (Marks et al., 2021). Die Velloziaceae beinhalten die größte Anzahl an austrocknungstoleranten Arten.

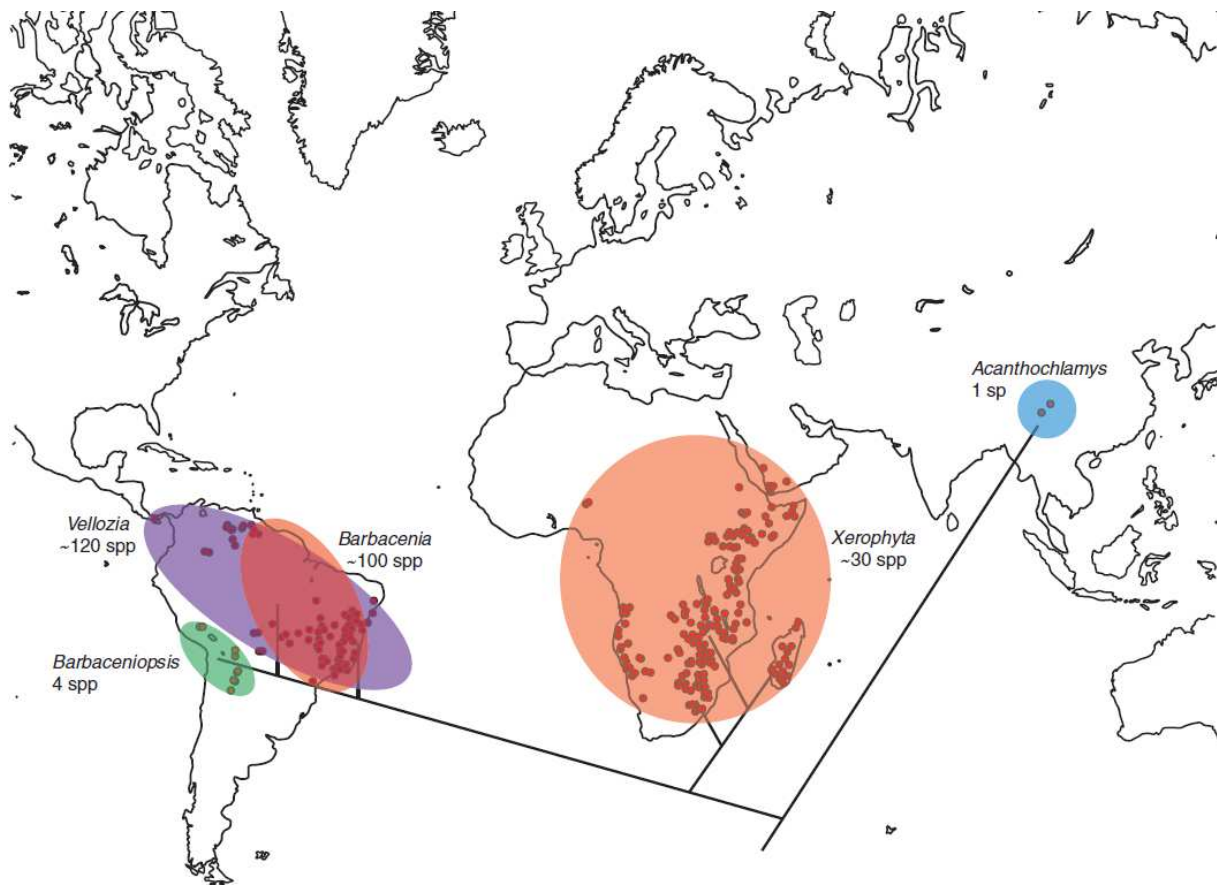


**Abbildung 1.1:** Madagassische Inselberge. A-C: typische Granit- und Gneis-Inselberge. D-F: Mattengesellschaft mit *Xerophyta*. Bilder A-D von S. Porembski, E-F von J. Rexroth.

## 1.2 Die Familie der Bäumchenlilien (Velloziaceae)

Mit bislang ca. 250 bekannten Arten zählen die Velloziaceae (Bäumchenlilien) zu der morphologisch vielfältigen Ordnung der Pandanales (Ibisch et al., 2001; Mello-Silva, 2005; Graças Sajo et al., 2010). Allein schon das disjunkte Verbreitungsmusters macht diese monokotyle Familie, neben vielen anderen Besonderheiten, zu einer ausgesprochen interessanten Pflanzenfamilie. Denn mit einem Vorkommen in China, Afrika, Madagaskar, der Arabischen Halbinsel bis in die Neotropis erstreckt sich das Verbreitungsgebiet der fünf anerkannten Gattungen über ehemalige Gondwanabruchstücke (Abb. 1.2). Die meisten Velloziaceae-Arten kommen in den tropischen Regionen Südamerikas vor. Dort sind sie mit den drei Gattungen *Vellozia* Vand. (~120 Arten), *Barbacenia* Vand. (~100 Arten) und *Barbaceniopsis* L.B.Sm. (4 Arten) vertreten. Die Gattungen *Vellozia* und *Barbacenia* kommen dabei hauptsächlich in Brasilien, aber auch bis Venezuela und Panama vor. Die Gattung *Barbaceniopsis* ist eher in der Andenregion vertreten. Mit gerade einmal ~34 Arten weist die vierte und einzige afrikanische Gattung *Xerophyta* Juss. dabei aber das größte Verbreitungsgebiet von allen Velloziaceae-Gattungen auf (Mello-Silva et al., 2011). *Acanthochlamys bracteata* ist bislang die einzige bekannte Art der fünften Gattung *Acanthochlamys* P.C. Kao. Dieser eher zwergwüchsige Vertreter kommt in den Hochlagen im Südwesten Chinas vor, wo diese Art in Tibet und Sichuan heimisch ist (Bao-Chun, 2017). Diese Gattung bildet das Schwestertaxon zu den anderen Velloziaceae (Abb. 1.2). Obwohl diese Gattung früher auch in die monotypische Familie Acanthochlamydaceae eingeordnet wurde (Deeba et al., 2017), deuten genetische Daten und gemeinsame morphologische Merkmale darauf hin, dass *Acanthochlamys* zu den Velloziaceae gehört (Mello-Silva et al., 2011; Behnke et al., 2013). Erst Mello-Silva et al. reduzierten 2011 die ursprünglich zehn für diese Pflanzenfamilie beschriebenen Gattungen auf die heutigen fünf. Schon auf Gattungsebene erweist sich eine eindeutige taxonomische Einordnung als herausfordernd. Aufgrund ihrer großen morphologischen Variabilität, aber auch der floralen Ähnlichkeiten die man innerhalb der Familie, der Gattungen und mitunter auch innerhalb der Arten finden kann, wurde eine Pflanzenfamilie daher selten phylogenetisch unterschiedlicher interpretiert als die Velloziaceae. So gibt es z.B. innerhalb der neotropischen Gattung *Vellozia* einige Arten die taxonomisch gut abgrenzbar sind und nur wenige morphologische Variationen aufweisen. Andere *Vellozia*-Arten hingegen weisen hoch polymorphe Populationsstrukturen mit zahlreichen morphologischen und anatomischen Variationen auf, so z.B. *V. hirsuta*. Man geht

zwar mittlerweile davon aus, dass es sich dabei um eine Art handelt, allerdings mit etwa 14 morpho-anatomischen Variationen (Barbosa et al., 2012).



**Abbildung 1.2:** Karte der Verbreitung der Velloziaceae, die die phylogenetischen Beziehungen der fünf anerkannten Gattungen der Velloziaceae zeigt (Mello-Silva et al., 2011).

Aufgrund ihrer lilienartigen Blüten werden diese überwiegend krautigen oder strauchartigen, mehrjährigen Gefäßpflanzen auch Bäumchenlilien genannt. Die Sprossachse ist von trockenen, älteren, übereinander gelagerten Blattscheiden und Adventivwurzeln umgeben. Der Hauptanteil des Stammumfangs geht auf die Adventivwurzeln zurück, die ein Velamen radicum aufweisen (Porembski et al., 1995). Dieses begünstigt eine effizientere Wasseraufnahme. Das Überlagern von alten Blattscheiden kann mitunter zu einem erhöhten Umfang der Sprossachse führen. Dieser so gebildet Stamm kann dann das Auftreten kleiner baumartige Vertreter ermöglichen. Innerhalb der Velloziaceae finden sich Vertreter mit einer Höhe von wenigen Zentimetern bis zu mehreren Metern (Porembski et al., 2000; Byng, 2014), z.B. *V. auriculata* mit ca. 4 m (Fiorini et al., 2019). Die wechselständigen, länglichen, meist eher spießförmigen Blätter zeigen eine für Monokotyle typische parallele Blattnervatur und

können eine weiche oder borstige Behaarung und/oder drüsige Auswüchse aufweisen (Martins et al., 2016; Péli et al., 2018). Die Blätter sind vorwiegend in endständigen Rosetten angeordnet. Die überwiegend einzelnstehenden Blüten der Velloziaceae weisen ebenfalls typische Merkmale einer Monokotylen Blüte auf, d.h. sie sind dreizählig und haben ein petaloides Perianth mit sechs in zwei Kreisen angeordneten Tepalen (Graças Sajo et al., 2010). Damit die Velloziaceae-Arten in ihrem extremen Lebensraum blühen können, ist der richtige Blüh-Zeitpunkt von großer Bedeutung. Dafür bedarf es neben einer ausreichend langen Feuchteperiode, auch kühlere Temperaturen sowie einer hohen Lichtintensität, die sich dann begünstigend auf die Blühinduktion auswirken (Myers et al., 2010). Da diese Bedingungen oft nur bei saisonalen Übergängen vorkommen, ist die Blütenzeit oft nur von kurzer Dauer. Dafür ist die Blütenpracht umso auffälliger. Das Spektrum der Blütenfarben reicht von blau, lila, weiß, gelb, orange, rot, violett bis zu grün (Dahlgren et al., 1985). Die Blütenfarbe scheint aber bei einigen Velloziaceae-Arten kein zuverlässiges Bestimmungsmerkmal zu sein, denn z.B. für *Vellozia epidendroides* wurden allein drei Farbvarianten beschrieben (Ibisch et al., 2001). Obwohl der Blütenbau im Wesentlichen dem typischen monokotyledonen Muster folgt, zeigt sich dennoch ebenso eine beträchtliche Variation, womöglich in Anpassung an entsprechende Bestäuber. Die meisten Velloziaceae scheinen selbst-inkompatibel zu sein. Die neotropischen Vertreter werden sowohl von Bienen, als auch Kolibris und Motten bestäubt (Sazima et al., 1989; Oliveira et al., 1991; Jacobi et al., 2006; Franceschinelli et al., 2006). Ohnehin scheint bei Inselberg-Arten mit ~75% die prominenteste Bestäubungsart die Entomophilie zu sein (Porembski et al., 2000). Obwohl für die paläotropischen Vertreter der Velloziaceae bislang nicht viel dazu bekannt ist, kann man dennoch davon ausgehen, dass auch hier Insekten die wichtigsten Bestäuber sind. Die Früchte der Velloziaceae können in nur wenigen Tagen reifen und bilden dann Kapseln (Abb. 1.3), mit apikalen Poren für jedes der drei Karpelle. Die Kapseln können ebenfalls in Form und Größe variieren und ihre Oberfläche kann glatt oder mit borstenlosen oder drüsigen Auswüchsen (Abb. 1.3 B) bedeckt und auch klebrig sein (Kubitzki, 1998; Martins et al., 2016). Innerhalb einer Woche beginnen die Kapseln bereits zu trocknen und sich unregelmäßig oder mit Scheitelspalten zu öffnen (Dahlgren et al., 1985). Diese enthalten dann zahlreiche kleine Samen. Diese werden hauptsächlich durch den Wind und die Schwerkraft verbreitet (Ibisch et al., 2001). Sie können aber ebenso sekundär durch den Regenwasserabfluss entlang der Inselberge (persönliche Beobachtung) oder durch Stürme (z.B. Zyklone) verdriftet werden.



**Abbildung 1.3:** Frucht von *Xerophyta* spec. (A-D). B: Kapsel noch geschlossen mit sichtbaren drüsigen Auswüchsen. C: trockene geöffnete Kapsel. D: trockene Kapsel mit Samen. Bilder A-C von J. Rexroth, D von S. Porembski.

Auch bei den Samen der Velloziaceae gibt es nicht nur eine Formenvielfalt, sondern genauso ein Spektrum an Samenschalenfunktionalitäten. Auf der Suche nach möglichen morpho-anatomischen Merkmalen, die sich gleichermaßen für eine phylogenetische Einordnung eignen, entdeckten Sousa-Baena et al. (2014), dass in der Samenschale basaler Vertreter dieser Familie meistens Tegmen-Schichten und bei jüngeren Vertretern eher Testa-Schichten zu beobachten sind. Im evolutionären Zusammenhang interpretierten die Autoren diesen Unterschied, also das Vorhandensein einer Tegmen-Schicht bei den basalen Vertretern so, dass es sehr wahrscheinlich auf eine mechanische Schutzfunktion zurückzuführen ist (Sousa-Baena et al., 2014), denn diese Tegmen-Schichten enthalten phenolische Substanzen. Phenolische Harze kommen bei verschiedenen Arten der Velloziaceae auch auf Blättern, Blüten, oder Früchten in oberflächlichen Harzdrüsen vor (Sadala-Castilho et al., 2016). Dort schützen sie die Pflanze vor hoher Sonneneinstrahlung, Wasserverlust und Herbivoren. Da die Velloziaceae mitunter an ihren Standorten Feuern ausgesetzt sind, dienen u.a. Terpenharze dazu die Pflanzen vor Feuer zu schützen (Martins et al., 2016; Sadala-Castilho et al., 2016). Die brennbaren Terpenharze und die abgestorbenen Blattscheiden verstärken so die Entflammbarkeit der Pflanzen (Martins et al., 2016) und verhindern so einen letalen Temperaturanstieg im Inneren der Pflanze. Außerdem fungiert das Harz speziell an der Blüte auch als Belohnung für potenzielle Bestäuber (z.B. Bienen), die beim Sammeln des Blütenharzes so gleichzeitig den Pollen indirekt mitsammeln (Sadala-Castilho et al., 2016).

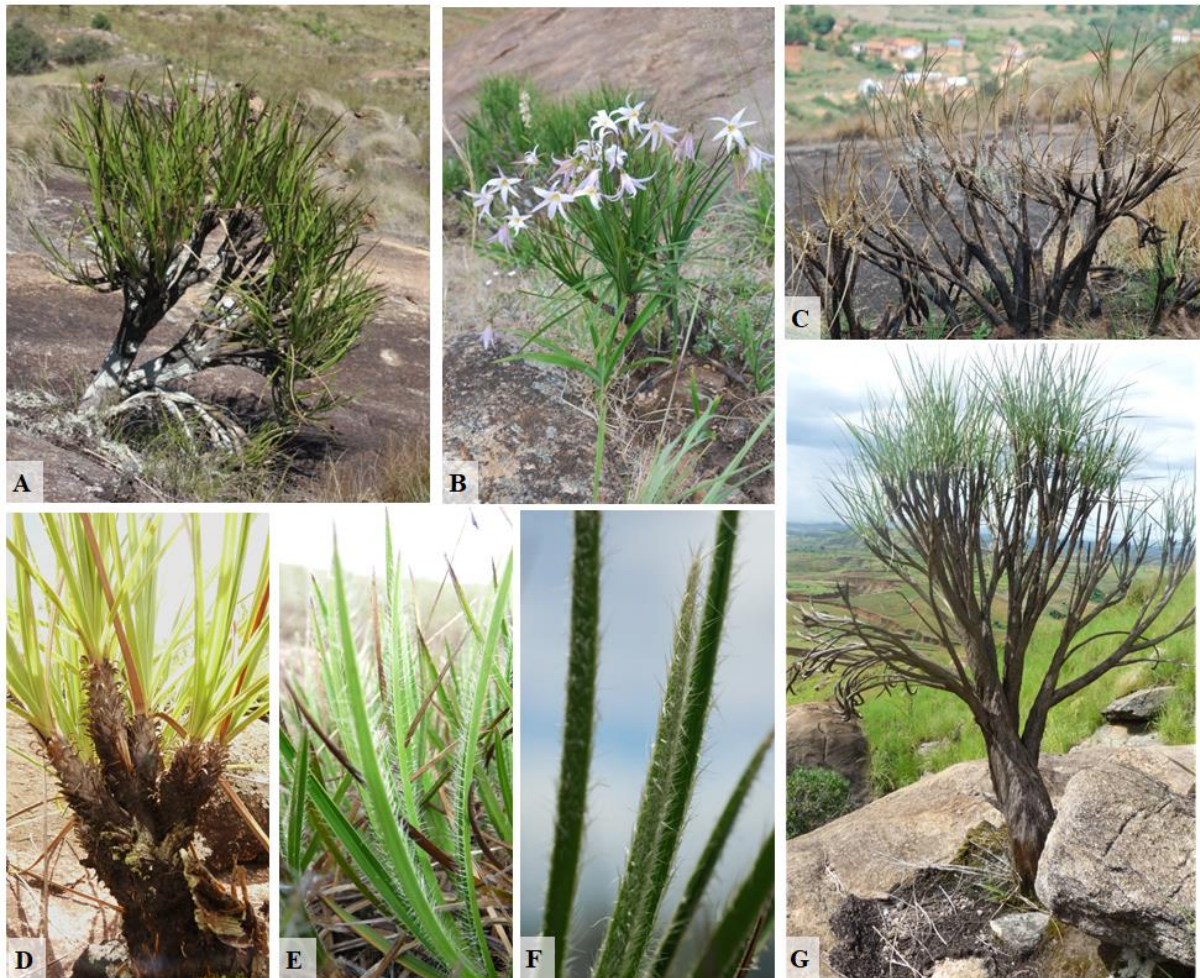
Velloziaceae kommen bevorzugt auf azonalen Standorten in den Tropen vor, d.h. auf armen Sandböden oder Felsformationen aus Quarzit oder Sandstein, vor allem aber auf

Inselbergen (Silveira et al., 2016). Einen großen Einfluss auf ihr Vorkommen scheint dabei ein zu mindestens saisonal trockenes Klima mit hohen Tagestemperaturen zu haben. Denn die Arten innerhalb dieser Pflanzenfamilie sind alle an trockene Bedingungen und spezielle Substrate angepasst (Behnke et al., 2013). Allerdings konnte innerhalb der Velloziaceae beobachtet werden, dass bei den einzelnen Gattungen bzw. Arten unterschiedliche Grade von Vermeidung einer vollständigen Austrocknung bis hin zur Austrocknungstoleranz möglich sind (Alcantara et al., 2015, 2018). Die Fähigkeit zur Austrocknungstoleranz ermöglicht es diesen Pflanzen, während einer periodischen Austrocknung zu überleben. Die Anzahl der Zyklen scheint dabei unbegrenzt zu sein (Farrant, 2007). Wenn diese Pflanzen austrocknen, stoppt das Wachstum und der Stoffwechsel verlangsamt sich, bis er fast zum Stillstand kommt. Die Pflanzen befinden sich dann in einem Zustand der Anabiose (Farrant, 2007). Daher weisen die meisten Velloziaceae-Arten auch ein langsames Wachstum auf (Teodoro et al., 2021). Am Beispiel von *Xerophyta equisetoides*, die eine Höhe von 2,6 m erreichen kann, bedeutet das für das Alter dieser Arten, dass ein solches Exemplar ungefähr 200 Jahre alt sein kann (Gaff et al., 2013). Die neotropischen Vertreter zeigen allerdings mitunter nur eine saisonal bedingte Trockenheitsresistenz oder Austrocknungstoleranz (Aidar et al., 2010). Besonders die Velloziaceae-Arten in der brasilianischen Campos Rupestre Region scheinen meistens nicht austrocknungstolerant, dafür aber extrem trockenheitsresistent zu sein (Alcantara et al., 2015). Dies könnte ebenso eine mögliche Erklärung für die dort so vielfältig vorkommenden Velloziaceae-Arten sein. Dieses Spektrum an ökologischen Strategien bezüglich der Wasserverfügbarkeit im jeweiligen Lebensraum, ist als Schlüsselmerkmal für Pflanzen generell in dieser Region bezeichnend (Alcantara et al., 2018). Es handelt sich dabei um eine feueranfällige Strauchsavannenvegetation und Felsformationen auf Quarzit oder Sandsteinen (Silveira et al., 2016), mit hohen Tagestemperaturen und saisonalen Niederschlägen (Oliveira et al., 2016). Die Vertreter der paläotropischen Gattung *Xerophyta*, sind Alcantara et al. (2015) zufolge alle austrocknungstolerant, d.h. Wiederauferstehungspflanzen (Gaff, 1977; Porembski et al., 2000).

### 1.3 Die Gattung *Xerophyta*

Die Gattung *Xerophyta* wurde von Antoine Laurent de Jussieu 1789 beschrieben (altgriechisch *xerós* „trocken“ und *phytón* „Pflanze“). Allerdings wurde diese Gattung von Jussieu zunächst in die Familie der Bromeliaceae eingeordnet (Behnke et al., 2000). Das ist darauf zurückzuführen, dass die einzige afrikanische Gattung innerhalb dieser Familie sich hauptsächlich durch kleine bis größere Sträucher (Abb. 1.4 A-C) mit wechselständigen spießförmigen Blättern auszeichnet, die mitunter einen rosettenähnlichen Habitus aufweisen und Bromeliaceae daher ähnlich sehen können. In dieser Gattung kommen aber auch kleine baumartige Vertreter (Abb. 1.4 G) vor. So kann z.B. *Xerophyta equisetoides* mitunter 2,6 m groß werden (Gaff et al., 2013).

Da die meisten Vertreter dieser Gattung typische Elemente auf den madagassischen Inselbergen sind (Mello-Silva et al., 2011), weist ihre Blattanatomie typische xeromorphe Merkmale auf. So sind die meisten Blätter sowohl adaxial als auch abaxial auf ihrer Oberfläche gefurcht (Péli et al., 2018), was ein Zusammenfallen der Blätter während einer Trockenphase vereinfacht. Die Blätter können außerdem ausdauernd sein (Abb. 1.4 D). Anhand der Blattanatomie lassen sich die paläotropischen Velloziaceae-Arten zwar in mehrere Gruppen einteilen (z.B. *Barbacenia*-, *Vellozia*-, *Xerophyta*- und *Plicata*-Typ), aber diese sind nicht sehr einheitlich (Behnke et al., 2013). In der Studie von Behnke et al. (2013) ergaben blattanatomische Untersuchungen im Wesentlichen zwei Hauptgruppen. Eine enthielt alle Arten mit dem sogenannten *Barbacenia*-Blattanatomietyp und die andere Gruppe enthielt alle Arten die nicht diesem Anatomietyt entsprachen. Hierbei konnten die untersuchten afrikanischen und madagassischen Arten aber nicht klar der einen oder anderen Gruppe zugeordnet werden. Hinzukommt das die Blattanatomietypen mitunter in einigen Arten auch Sonderformen oder Intermediate aufwiesen, wie z.B. der madagassische *Vellozia*-Typ, der bei den meisten madagassischen Arten zu beobachten war. In Kombination mit dem von Behnke et al. (2013) zusätzlich analysierten *rbcL*-Sequenzen von 44 *Xerophyta*-Arten, konnte ebenfalls keine eindeutige Zuordnung von Blattanatomietyp, Art und Vorkommen generiert werden.



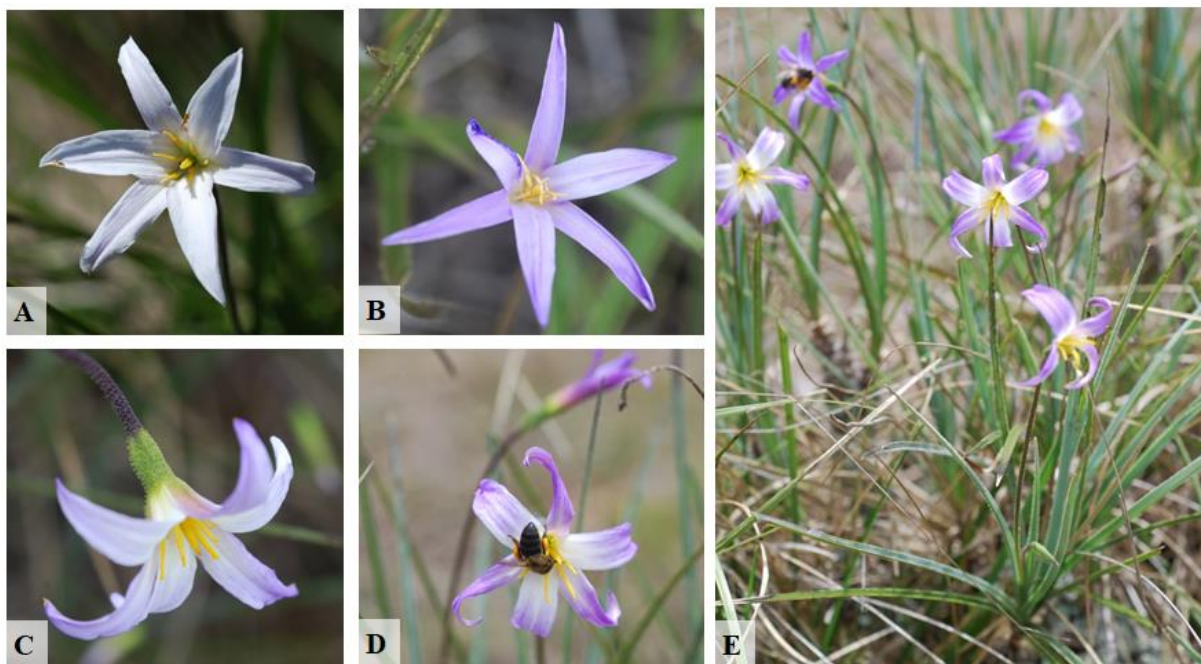
**Abbildung 1.4:** Morphologie von *Xerophyta*. A: Habitus mit Frucht. B: Habitus mit Blüte. C: Habitus im trockenen Zustand. D: Blattanordnung. E: Blatt mit seitlicher borstiger Behaarung. F: Blatt mit weicher Behaarung überall. G: baumartiger Habitus (Höhe ~1,70 m). Bilder A-C von S. Porembski, D-G von J. Rexroth.

Diese Schwierigkeit einer eindeutigen Zuordnung spiegelt sich gleichermaßen in unterschiedlichen Angaben zu der Zahl der Arten innerhalb dieser Gattung wieder. So lassen sich dazu in unterschiedlichen Quellen verschiedene Angaben finden. In den online Datenbanken 'The World Flora Online' sind 80 Arten, bei 'Kew – plants of the world online' sind es 57 Arten, bei 'Tropicos' sind 142 Arten und ihre möglichen Variationen (z.B. *X. retinervis* var. *equisetoides*) gelistet. Mello-Silva et al. (2011) zählten 34 Arten zu der Gattung *Xerophyta*. Behnke et al. (2013) beschrieben etwa 70 Arten. Ein Abgleich mit den online Datenbanken zeigt, dass ungefähr 40 dieser 70 beschriebenen *Xerophyta*-Arten derzeit akzeptierte Arten sind. Diese beinhaltet ~30 afrikanische und ~10 madagassische Arten (Kew Science, 2022). Die Blütenfarbe ist in dieser Gattung kein zuverlässiges

Bestimmungsmerkmal, denn bei der Mehrheit der *Xerophyta*-Arten ist sie weiß, blau oder lila/malve, seltener auch gelb. Die meisten Arten scheinen eher lokale Endemiten zu sein (Behnke et al., 2013), aber es gibt ebenso einige weitverbreitete Arten, z.B. *Xerophyta dasylirioides* (Abb. 1.5) auf dem Hochland Madagaskars.

Diese Art wurde erstmals 1875 von dem britischen Botaniker John Gilbert Baker beschrieben und kommt fast omnipräsent auf den Inselbergen auf dem zentralgelegenen Hochplateau vor. Möglicherweise spielen Bienen als Bestäuber dabei eine wesentliche Rolle (persönliche Beobachtung, Abb. 1.5 D). Außerdem wurden allein für diese Art acht Variationen beschrieben, z.B. *X. dasylirioides* var. *tulearensis*, *X. dasylirioides* var. *pectinata*, *X. dasylirioides* var. *andringitrensis*, *X. dasylirioides* var. *brevifolia*. Vier von diesen Artvarianten gehören zu den zehn akzeptierten madagassischen Arten (Behnke et al., 2013). Das Artepitheton dieser Art leitet sich von den griechischen Worten *dasys* „rau, struppig“ und *leirion* für „Lilie“ ab und wurde vermutlich wegen der langen, xeromorphen Blätter und der lilienähnlichen Blüte gewählt.

Als austrocknungstoleranter Inselberg-Endemit, der in verschiedenen Klimazonen und unterschiedlichen Isolationsgraden, und mit variierenden Populationsgrößen vorkommt, eignet sich diese Art daher als Modell für populationsgenetische Fragestellungen.



**Abbildung 1.5:** Blüten von *Xerophyta dasylirioides* von verschiedenen Wuchsorten in Madagaskar (A-E). Bilder von S. Poremski.

## 1.4 Populationsgenetische Studien von Inselbergarten

Die Populationsgenetik erlaubt es, auf Basis molekularer Daten Einblicke in die genetische Diversität, Differenzierung und Strukturierung von Populationen zu gewinnen. Damit sind auch Aussagen über die Stärke des Genflusses zwischen geografisch isolierten Lebensräumen möglich. Geografisch isolierte Populationen können unterschiedlichen klimatischen, edaphischen und biotischen Faktoren ausgesetzt sein, was eine genetische Differenzierung im Laufe der Zeit wahrscheinlich macht. Dabei können selbst geringfügige genetische Anpassungen einer bestehenden genetischen Variation eine schnelle Bildung von Ökotypen ermöglichen. Daher ist eine der maßgeblichen Größen für populationsgenetischen Studien die Verteilung der Allele, und somit der genetischen Variation, innerhalb und zwischen den betrachteten Populationen.

In einer kürzlich durchgeführten Studie über die brasilianische Gattung *Barbacenia* verglichen Cabral et al. (2021) morphologische und anatomische Merkmale. Es wurden zusätzlich auch phylogenetische Daten ausgewertet. Diese Daten basierten auf phylogenetischen Markern wie plastidären Spacer-Sequenzen (z.B. *atpB-rbcL*) und kerncodierenden Spacer-Sequenzen (z.B. ITS). Die untersuchten 51 *Barbacenia*-Arten ließen sich in zwei Gruppen einteilen, von denen die einen viele Arten aus einem kleinen Gebiet und die andere nur eine Art aus einem größeren Gebiet umfasste. Die Autoren kamen zu dem Schluss dass unterschiedliche ökologische Bedingungen eine entscheidende Rolle bei der Diversifizierung und letztendlich bei der Entstehung der bemerkenswerten Vielfalt innerhalb der Gattung *Barbacenia* spielen. Mit einer ähnlichen Annahme wurden zehn Populationen von *Vellozia compacta* von Lousada et al. (2013) untersucht. In dieser Studie wurde die genetische Variabilität mit ISSR ("inter-simple sequence repeat") Markern untersucht. Es konnte jedoch kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der erheblichen genetischen Vielfalt von *V. compacta* und ihrem fragmentiertem Areal, d.h. Eisenlateritkrusten einerseits und Quarzit andererseits, nachgewiesen werden. Lousada et al. (2011) kamen in einer früheren Studie zu *Vellozia gigantea* und neun untersuchten Populationen zu einer ähnlichen Schlussfolgerung. Die Ergebnisse beider Studien legen nahe, dass der Genfluss durch Pollen begrenzt ist. Ähnliches wurde ebenso in der Studie von Fiorini et al. (2019) gefunden, in der elf Populationen (129 Individuen) von *Vellozia auriculata* ebenfalls mit ISSR-Marker analysiert wurden. Die Autoren kamen hier zu dem Schluss, dass bei *V. auriculata* der zygotische Genfluss selbst auf kurzen Distanzen begrenzt ist. Im Gegensatz dazu ist der gametische Genfluss häufiger, wenn auch durch die Entfernungen und ungeeignete Umweltbedingungen ebenfalls begrenzt. Es scheint daher wahrscheinlich, dass bei

ausreichend langer geografischer und genetischer Isolation die genetische Differenzierung in einer Gruppe von Populationen gemeinsamen Ursprungs zunächst durch die Bildung eines Ökotyps und später durch eine allmähliche Evolution bis zur Artbildung fortschreiten kann (Sikkink et al., 2016). Hinzukommt, dass das Ausmaß und die Richtung genetischer Veränderungen davon abhängen, in welchem Umfang isolierte Populationen vom Genfluss abgeschnitten sind.

In anderen Studien zur Populationsgenetik von endemischen Pflanzenarten auf Inselbergen in der Neotropis wurden hauptsächlich Mikrosatelliten als Marker verwendet, z.B. bei Bromeliaceae. Die Autoren konnten mit diesem Markersystem zeigen, dass die Rate des genetischen Austauschs zwischen Populationen verschiedener Inselbergarten sehr gering ist, selbst wenn sie sich in unmittelbarer Nachbarschaft befinden (z.B. *Alcantarea*: Barbará et al., 2007; Lexer et al., 2016; *Pitcairnia*: Palma-Silva et al., 2011; 2015; Mota et al., 2018; 2020; *Encholirium*: Hmeljevski et al., 2015; Goncalves-Oliveira et al., 2017; *Vriesea*: Dantas-Queiroz et al., 2021). Dasselbe konnte bei Orchideen auf brasilianischen Inselbergen und Mikrosatelliten als Marker der Wahl beobachtet werden (*Epidendrum*: Pinheiro et al., 2014; 2016). Diese Daten deuten auf eine starke genetische Differenzierung zwischen geografisch isolierten Populationen hin, hauptsächlich auf der Chloroplastenebene, denn auf Kernebene konnte durchaus ein gewisser intra- und sogar interspezifischer Genfluss beobachtet werden. Da Plastiden-DNA bei Angiospermen in der Regel maternal vererbt wird, deutet dieses Muster auf einen geringen Genfluss zwischen isolierten Lebensräumen über Samen, aber einen, wenn auch, mäßigen Genfluss über Pollen hin. Darüber hinaus hat das haploide Plastidengenom eine kleinere effektive Populationsgröße, was zu einer robusteren Differenzierung isolierter Populationen führt. Dementsprechend erfolgt die Differenzierung bei Chloroplasten-DNA-Markern, z.B. durch genetische Drift, viel schneller als bei Kern-DNA-Markern. Das kann mitunter zu lokalen Differenzierungsprozessen führen. Diese können dann wiederum eine zuverlässige Artabgrenzung erschweren. Franceschinelli et al. (2006) analysierten die genetische Vielfalt von zwei weiteren brasilianischen *Vellozia*-Arten anhand fünf ko-dominanter Allozym-Marker. Ihr Hauptaugenmerk lag auf der unterschiedlichen räumlichen Verteilung und der Bestäubungsökologie. *Vellozia epidendroides* wird von Bienen bestäubt und hat ein größeres Verbreitungsgebiet als *V. leptopetala*, welche von Bienen und Kolibris bestäubt wird und ausschließlich in kleinen Populationen vorkommt. Die ermittelten populationsgenetischen Parameter unterschieden sich deutlich zwischen den beiden Arten. Für *V. epidendroides* waren alle Indizes der genetischen Vielfalt im Vergleich mit *V. leptopetala* höher. Auch die genetische

Differenzierung zwischen den einzelnen Populationen war bei *V. epidendroides* stärker ausgeprägt. Der Inzuchtindex war allerdings bei *V. leptopetala* wesentlich höher. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass die höhere genetische Vielfalt bei *V. epidendroides* mit dem größeren Verbreitungsradius der Populationen zusammenhängen könnte. Im Gegensatz dazu könnten die niedrigeren Werte für die genetische Vielfalt und die starke Inzucht bei *V. leptopetala* mit den deutlich isolierteren Lebensräumen, der begrenzten Fähigkeit zur Samenverbreitung und der Bestäuberabhängigkeit durch territoriale Kolibris zusammenhängen. Letzteres würde eine Kreuzung zwischen Geschwisterpflanzen erleichtern. Hohe Werte für den durchschnittlichen Inzuchtindex wurden ebenso in einer mikrosatellitenbasierten Studie in einer einzigen großen Population mit 48 Individuen der brasilianischen Art *Vellozia squamata* festgestellt (Duarte-Barbosa et al., 2015). Diese Art wird als selbst-inkompatibel beschrieben, sodass eine mögliche Inzucht wahrscheinlich aus biparentaler Kreuzung zwischen räumlich nahen und eng verwandten Individuen resultiert. Die Evolutionsdynamik zwischen und innerhalb von Populationen ergibt sich aus den intrinsischen Effekten der Pollen- und Samenverbreitung, die immer mit der Besiedlungsgeschichte der Pflanzenpopulation und -art verbunden ist. Durch verschiedene Anpassungsstrategien ist es den Pflanzen aber möglich, einer möglichen Inzucht oder seinen vorangegangenen hemmenden Effekten entgegen zu wirken. Genauso kann ein genetisches Driftereignis die genetische Vielfalt einer Population beeinflussen und z.B. eine Inzuchtdepression verhindern. Eine andere Möglichkeit besteht in einer Polyploidisierung. Polyploidisierungsereignisse wurden in den Evolutionslinien von > 70% aller Angiospermen festgestellt (Adams et al., 2005; Baduel et al., 2018). Diese Häufigkeit der Polyploidisierung deutet darauf hin, dass diese polyploiden Arten evolutionäre oder adaptive Vorteile (z.B. größere abiotische und biotische Toleranzen) gegenüber ihren diploiden Vorfahren haben (Scarrow et al., 2021). Polyploidisierung stellt damit einen wichtigen Mechanismus für die Artbildung dar und hat Auswirkungen auf die Dynamik der biologischen Diversität. Universell einsetzbare Genotypen sind durchaus entscheidend für erfolgreiche Kolonisierungsprozesse. Das spiegelt sich dann ebenso in ihren entwicklungsbedingten Anpassungsfähigkeiten, sowohl in physiologischen Merkmalen als auch in einer phänotypischen Plastizität wieder. Es ist z.B. von *Cruciata coronata* (Rubiaceae) bekannt, dass diese Art eine große phänotypische Diversität aufzeigt und einen polyploiden Art-Komplex bildet. Diese Art kommt in trockenen Regionen des Mittelmeergebiets vor, und ist somit besser an ihren Lebensräume angepasst (Pitrez et al., 2014). Ähnlich könnten die Verhältnisse in der paläotropischen Gattung *Xerophyta* sein, deren Arten im Vergleich zu den

vorwiegend diploiden neotropischen Vertretern der Velloziaceae alle polyploid sind (Mello-Silva et al., 2005, 2011; Costa et al., 2017).

### 1.4.1 Mikrosatelliten als molekulare Marker

Seit ihrer Entdeckung in den 1980er Jahren (Tautz et al., 1984) sind Mikrosatelliten zum bevorzugtem Marker in der molekularen Züchtung von Kulturpflanzen, aber auch für ökologische und evolutionäre Studien vom Individuum bis zur Populationsebene geworden (Vigouroux et al., 2002; Guicking et al., 2013; Ali et al., 2019). Das vor allem ko-dominante molekulare Marker (z.B. Mikrosatelliten) dabei weit verbreitet sind, ist auch den Fortschritten in der molekulargenetischen Methodik zuzuschreiben.

In der Literatur werden Mikrosatelliten (Litt et al., 1989), auch als 'simple sequence repeats' (SSRs; Jacob et al., 1991), 'simple sequence length polymorphism' (SSLPs; Tautz et al., 1989) oder 'short tandem repeats' (STRs; Edwards et al., 1991) bezeichnet. Dabei handelt es sich um tandemartige Wiederholungen von kurzen DNA-Sequenzmotiven, basierend auf ein bis sechs Nukleotiden (z.B.  $(GA)_n$ ). Mikrosatelliten konnten ubiquitär im Genom aller Prokaryonten und Eukaryonten nachgewiesen werden (Field et al., 1998). Im pflanzlichen Genom konnten sie erstmals 1991 dokumentiert werden (Weising et al., 1992). Dort sind die Mikrosatelliten weit über das gesamte Genom verteilt, und kommen sowohl in codierenden genauso wie in nicht-codierenden Bereichen (z.B. Introns) vor. Das häufigste Motiv in Pflanzen scheint das Mikrosatellitenmotiv  $(AT)_n$  (Morgante et al., 2002) zu sein. Neben dem pflanzlichen Kerngenom sind sie aber gleichermaßen in der DNA der meisten maternal und ohne Rekombinationen vererbten Zellorganellen zu finden, z.B. im Plastom (Provan et al., 2001; Shaw et al., 2007). Es handelt sich bei diesen Mikrosatelliten daher um mitunter besonders schnell evolvierende Genombereiche. Da es im Chloroplastengenom keine Rekombination gibt, treten Mikrosatelliten hier mit einer viel geringeren Häufigkeit als im Zellkern auf. Dabei ist das Mononukleotid-Motiv  $(A)_n$  im Plastom am häufigsten vertreten (Powell et al., 1995). Gewöhnlich überwiegen Mono- und Dinukleotide-Wiederholungen. Tri- und Hexanukleotide sind meistens in codierenden Bereichen (z.B. Exons) zu finden, da sie keinen Einfluss auf die Triplet-Periodizität nehmen (Tóth et al., 2000). Die kürzeren Mikrosatellitenmotive (z.B. Dinukleotide) weisen in der Regel mehr Wiederholungen auf als die längeren Motive (z.B. Tetranukleotide). Bei kürzeren Motiven besteht mitunter die Möglichkeit, dass es während einer PCR ("polymerase chain reaction"; Mullis et al., 1986) zu

einer Fehlpaarung (Stottern) kommen kann (Kelkar et al., 2008). Abhängig von der Reinheit und Komplexität des Mikrosatellitenmotivs werden drei Typen unterschieden (Weber, 1990): a) perfekte Mikrosatelliten bestehen aus der regelmäßigen Abfolge eines einzigen Motivs; b) bei imperfekten Mikrosatelliten ist die Abfolge durch eine oder mehrere Basen unterbrochen; c) zusammengesetzte Mikrosatelliten bestehen aus mehreren Motiven perfekter oder imperfekter Abfolge die miteinander vermischt sind.

Es gibt verschiedene Methoden, die die Polymorphismen (Längenvariationen) dieser Mikrosatelliten als molekulare Marker nutzen. Die am Häufigsten verwendete Methode ist die locus-spezifische PCR-Amplifikation von Mikrosatellitenmotiven mit flankierenden Marker-Regionen. Diese Mikrosatellitenregionen stellen in der Regel einen hoch multiallelischen Locus dar, weil sie sich durch ein hohes Maß an Längenpolymorphismen auszeichnen. Diese ergeben sich aus den Variationen zwischen den Allelen in der Anzahl der sich tandemartig wiederholenden Einheiten an dem jeweiligen Locus (Tautz, 1989). So können innerhalb einer Art oder sogar einer einzigen Population mehrere unterschiedliche Längenvarianten bzw. Allele an ein und demselben Locus auftreten (Gupta et al., 1996). Es wird angenommen, dass der Polymorphismus in der Anzahl an Wiederholungseinheiten und die damit verbundene Instabilität von Mikrosatelliten vor allem durch einen spezifischen Mutationstyp, dem 'slipped strand mispairing' (SSM; Levinson et al., 1987; Schlötterer, 2000), verursacht wird. Aufgrund der repetitiven Natur der Mikrosatelliten wird ein 'Verrutschen' der DNA-Polymerase während des Replikationsprozesses begünstigt. Dieser Mutationsmechanismus kann zu Fehlpaarungen führen. Werden solche Mutationen nicht durch DNA-Mismatch-Reparaturen korrigiert, kann dies dann entweder zu einer Zunahme (wenn der neu synthetisierte Strang betroffen ist) oder Abnahme (wenn der Template-Strang betroffen ist) in der Anzahl der Wiederholungseinheiten in einem Tochtermolekül führen (Wierdl et al., 1997).

Eine bedeutsame Eigenschaft von Mikrosatelliten ist ihre hohe Mutationsrate. Im pflanzlichen Genom variiert die Mutationsrate von  $10^{-2}$  bis  $10^{-5}$  Mutationen pro Locus und Generation (Vigouroux et al., 2002; Ellegren, 2004; Raquin et al., 2008). Wobei sich gezeigt hat, dass die Mutationsraten je nach Locus, Länge des Wiederholungsmotivs, Vorkommen im nukleären oder organellen Genom, nach Organismus und manchmal auch der Allele stark variieren können. Eine hohe Anzahl von Motiv-Wiederholungseinheiten ist daher mit einer größeren genotypischen Diversität verbunden. Die polymorphsten und daher für viele verschiedene Zwecke am praktikabelsten sind die perfekten Mikrosatelliten (Hancock, 1999). Denn bei diesem Mikrosatellitentyp ist die Mutationsrate oft positiv mit der Gesamtlänge korreliert (Kelkar et al., 2008). So kann man eine deutlich größere Anzahl an

Polymorphismen bei längeren Mikrosatelliten finden, als bei kürzeren. Folglich weisen längere, perfekte Mikrosatelliten eine höhere Anzahl verschiedener Längenvarianten und damit eine größere allelische Variabilität auf (Kelkar et al., 2008). Allerdings birgt eine Zunahme an Wiederholungseinheiten mitunter ebenso das Risiko einer Unterbrechung eines Mikrosatellitenmotivs. Dadurch können sich aber auch ständig die Mutationsraten an einem Locus ändern (Guichoux et al., 2011).

Um den hohen Grad an Polymorphismen zu erklären, wurden verschiedene theoretische Mutationsmodelle zur Evolution eines Mikrosatelliten betrachtet. Diese sind für die Populationsgenetik notwendig, um die genetischen Distanzen zwischen mindestens zwei Gruppen von Individuen aus deren Allelfrequenzen ableiten zu können (Bhargava et al., 2010). Das 'infinite alleles'-Modell (IAM; Kimura et al., 1964) geht davon aus, dass jede Mutation eine zufällige Anzahl an Wiederholungseinheiten erzeugen kann. Dabei ist die Länge (bzw. Größe) eines neuen Allels unabhängig von der Größe des ursprünglichen Allels. Außerdem können alle möglichen Varianten mit der gleichen Wahrscheinlichkeit auftreten, sofern alle Mutationen neu und die Mutationsraten für alle Loci gleich sind. Das 'stepwise mutation'-Modell (SMM; Kimura et al., 1978) beschreibt hingegen die Mutation als Zugewinn oder Verlust einer Wiederholungseinheit, und zwar mit der gleichen Wahrscheinlichkeit in beide Richtungen. Dieses Modell nimmt an, dass die Variationen ausgehend vom ursprünglichen Allel schrittweise erzeugt werden. Hierbei gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Längenunterschied zwischen zwei Mikrosatellitenallelen und der Zeit, die seit ihrer Differenzierung vergangen ist. Da die Mutationsrate eines Mikrosatelliten allerdings von verschiedenen Faktoren (z.B. Allelgröße, Zusammensetzung der Wiederholungseinheit, Position im Genom etc.) beeinflusst werden kann, scheint das Mutationsverhalten mitunter ein komplexes Phänomen zu sein. Auch der Grad der Reinheit eines Mikrosatelliten beeinflusst die Mutationsrate. So weisen imperfekte Mikrosatelliten einen geringeren Polymorphismus auf als die perfekten mit demselben Motiv. Sofern ein Mikrosatellit eine wichtige Funktion im Genom ausübt, kann ein Selektionsereignis direkt oder indirekt Einfluss auf die Variabilität eines Mikrosatellitenlocus haben. So wurde in einigen Studien die Konservierung von Mikrosatelliten an entsprechend gelegenen Promotorregionen von codierenden Sequenzen über verschiedene Arten hinweg beobachtet (Kashi et al., 1999). Das ist oft ein Hinweis auf eine Funktion, wie z.B. Proteinbindungsstellen, Regulierung der Transkription, Beteiligung an der Genexpression und/oder DNA-Replikation (Varshney et al., 2005; Scaglione et al., 2009). Von

Mikrosatelliten in nicht-codierenden Regionen wird angenommen, dass sie neutraler gegenüber Selektion sind.

Mitte der 2000er Jahre wurden modernere Sequenzierungsmethoden entwickelt, die sogenannten 'next generation sequencing' (NGS)-Methoden. Dadurch sind kosten- und zeitaufwendige Klonierungsverfahren zur Generierung von Mikrosatelliten als Marker nicht mehr notwendig (Weising et al., 2005). Die NGS-Methoden ermöglichen die Identifizierung einer großen Anzahl von Mikrosatellitenloci, mittlerweile ebenso für Nicht-Modellarten, zu deutlich geringeren Kosten (Abdelkrim et al., 2009; Zalapa et al., 2012). In Kombination mit adäquaten Computerprogrammen sind einige der früheren Nachteile (z.B. Stotterbanden) von Mikrosatelliten als molekulare Marker ebenfalls kaum noch von Bedeutung. Sie haben sich aber aufgrund ihrer vorteilhaften Eigenschaften, wie der hohe Grad an Längenpolymorphismen, hohe Reproduzierbarkeit, ko-dominante Vererbung, das multiallelische Verhalten und die PCR-basierte Amplifikation bewährt (Wöhrmann et al., 2011). Daher fanden und finden Mikrosatelliten seit Ende der 80er Jahre zunehmend in zahlreichen Forschungsrichtungen wie genetischen Kartierungen, Forensik, Verwandtschaftsanalysen, Artabgrenzungen in nahe verwandten Artkomplexen, Identifizierung von Hybriden oder Naturschutzgenetik Anwendung (Lemes et al., 2003; Ellegren, 2004; Jones et al., 2010; Farrell et al., 2013).

## 2. Zielsetzung der Arbeit

Die strauchförmige Art *Xerophyta dasylirioides* kann man fast allgegenwärtig auf den Inselbergen Madagaskars finden. Sie kommt ausschließlich auf Inselbergen vor und weist eine beeindruckende Anpassungsfähigkeit an ihren extremen Standort auf. Obwohl derartige austrocknungstolerante Gefäßpflanzen eine besondere Relevanz gerade im heutigen Kontext der Wasserverfügbarkeit haben, wissen wir noch nicht viel über sie. Es werden zwar zunehmend die physiologischen und genetischen Prozesse die bei der Austrocknungstoleranz eine Rolle spielen erforscht und entschlüsselt, aber über das evolutionäre Verhalten derartiger Pflanzen in ihren isolierten Lebensräumen ist bislang nur wenig bekannt. Vor allem wenn bei austrocknungstoleranten Arten wie z.B. *X. dasylirioides* die Problematik besteht, dass es morphologische und anatomische Diskrepanzen gibt und daher verschiedene Artvarianten beschrieben sind. Was durchaus auch ein wiederkehrendes Phänomen innerhalb dieser Familie, aber auch kein Seltenes bei austrocknungstoleranten Gefäßpflanzen zu sein scheint. Um jene evolutiven Prozesse zu beleuchten, die eine genetische Differenzierung bis hin zur Artbildung bei der hier im Fokus stehenden madagassischen Velloziaceae-Art beeinflussen, ist die Populationsgenetik ein entscheidendes Werkzeug. Denn die Evolution von Arten hat ihren Ausgangspunkt auf der Ebene von Populationen.

Ein wesentliches Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Rolle der madagassischen Inselberge bei der Artbildung zu verstehen. Inselberge mit ihren gegebenenfalls bestehenden Fortpflanzungsbarrieren zwischen ihnen ermöglichen es zu verstehen, wie z.B. genetische Drift und/oder unterschiedliche Selektionsdrücke die Differenzierung von Populationen, lokale Anpassungen oder Artbildungen beeinflussen können. Da die Art *X. dasylirioides* ein inselartig isoliertes Verbreitungsmuster aufweist, stellt sich die Frage, ob einzelne Populationen von geografisch unterschiedlich weitentfernten Inselbergen signifikant über Genfluss miteinander verbunden sind oder ob sich einzelne Populationen infolge mangelnden genetischen Austauschs voneinander differenziert haben und auf dem Weg zur allopatrischen Artbildung sind.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens sollten dafür zunächst erstmalig hochsensitive molekulare Marker für populationsgenetische Studien für *X. dasylirioides* generiert werden. Hierfür wurden Mikrosatellitenmarker unter Verwendung der Illumina-Sequenzierung, einer 'next generation sequencing'-Methode, etabliert.

Mit Hilfe dieser molekularen Marker wurden Freilandpopulationen von *Xerophyta dasylirioides* auf folgende Fragen hin untersucht:

- Wie gut sind die Mikrosatellitenmarker zwischen verschiedenen *Xerophyta*-Arten Madagaskars und Afrikas transferierbar?
- Wie ausgeprägt ist der Genfluss zwischen den Populationen und wie hoch ist die genetische Diversität von *X. dasylirioides*, auch im Vergleich zu den neotropischen Vertretern von inselberg-spezifischen Arten?
- Korreliert das inselartige Verbreitungsmuster dieser Art mit einer genetischen Differenzierung zwischen den einzelnen *X. dasylirioides* Populationen?
- Spiegelt sich die Vielfalt der morphologischen Merkmale auch genetisch wieder und lässt sich ein geografisches Muster erkennen?
- Welche potenziellen Faktoren (Ökologie, Geografie, evolutionäre Ereignisse, z.B. genetische Drift) haben einen Einfluss auf die Differenzierungsprozesse zwischen geografisch isolierten Populationen?
- Können mittels Mikrosatellitendaten Aussagen über die Pollenverbreitung und Rückschlüsse auf mögliche Bestäuber getroffen werden?

### 3. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss von Inselbergen im Hinblick auf mögliche evolutionäre Auswirkungen auf Artbildungsprozesse im Besonderen auf inselberg-spezifischen austrocknungstolerante Arten untersucht. Dabei wurde die auf Madagaskar endmische und häufig vorkommende Art *Xerophyta dasyliroides* als Modell gewählt.

Zu Beginn dieser Arbeit standen nur für zwei *Vellozia*-Arten (*V. gigantea*: Martins et al., 2012; *V. squamata*: Duarte-Barbosa et al., 2015) Mikrosatellitenmarker zur Verfügung. Für die einzige afrikanische Gattung lagen keine vor. Ein wesentliches Ziel der ersten Publikation bestand daher in der Etablierung von Mikrosatellitenmarkern für *Xerophyta dasyliroides* um populationsgenetische Studien durchführen zu können. Die zunächst für diese Art neu entwickelten Mikrosatellitenmarker erwiesen sich als geeignetes Hilfsmittel zur Bewertung der genetischen Vielfalt und Populationsstruktur von *X. dasyliroides* (Publikation 1). Ein Vergleich mit anderen austrocknungstoleranten mattenbildenden Monokotylen auf Inselbergen in den Tropen zeigte zudem, dass es durchaus regionale Unterschiede sowohl in der Zusammensetzung der Mattengemeinschaften, als auch in der Antwort der dort vorkommenden Arten auf ökologische, aber auch evolutionäre Einflüsse gibt (Publikation 2). Im letzten Teil der vorliegenden Arbeit erfolgte die Anwendung der neu entwickelten Mikrosatellitenmarker auf 15 natürlich isolierte Inselbergpopulationen von *X. dasyliroides*. Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass jeder untersuchte Inselberg einen distinkten Genotyp aufweist. Das spiegelt sich auch in der hohen genetischen Diversität innerhalb der Populationen und einem geringen Genfluss zwischen den Inselbergpopulationen wieder. Dabei konnte keine Korrelation zwischen den genetischen und den geografischen Distanzen der einzelnen Inselbergpopulationen detektiert werden (Publikation 3).

#### 3.1 Eignung und Übertragbarkeit der neu entwickelten Mikrosatellitenmarker

Aufgrund der großen morphologischen Variabilität einerseits und floraler Ähnlichkeiten von Velloziaceae-Arten andererseits, erwies sich die taxonomische Zuordnung innerhalb dieser Familie bislang als herausfordernd. Die Abgrenzung von Arten erweist sich je nach Gattung mitunter als schwierig, da es unterschiedlich geeignete Bestimmungsmerkmale zu geben scheint. So ist die Blütenfarbe nur bedingt ein zuverlässiges Merkmal zur eindeutigen Bestimmung der Arten. Für z.B. *Vellozia epidendroides* wurden allein drei Blütenfarben

angegeben (Ibisch et al., 2001). Ähnlich verhält es sich mit der Blattanatomie innerhalb der paläotropischen Gattung *Xerophyta*. Blattanatomische Untersuchungen von Behnke et al. (2013), zeigten zwar unterschiedliche Blattanatomietypen, aber eine eindeutige Unterscheidung z.B. zwischen den afrikanischen und den madagassischen *Xerophyta*-Arten war damit kaum möglich. Diese Schwierigkeit findet sich auch mitunter in den unterschiedlichen Angaben zur Anzahl der Arten in online Datenbanken wieder (vgl. Kapitel 1.3). Die Abgrenzbarkeit von Arten ist aber von grundlegender Bedeutung für eine phylogenetische Analyse. Die Schwierigkeit der Zuordnungen einzelner Taxa innerhalb der Velloziaceae, im Besondern bei den madagassischen *Xerophyta*-Arten, war Ausgangspunkt für diese Arbeit. Ihr einzigartiger Inselberg-Lebensraum und die damit verbundenen Anpassungen an die herausfordernden Bedingungen, lassen vermuten, dass darin auch eine mögliche Erklärung für die mitunter schwierige taxonomische Einordnung liegen könnte. Da die Auflösung der Phylogenie der Velloziaceae für die Abgrenzung von Artgrenzen mitunter nur bedingt auszureichen schien, können sensiblere Markersysteme wie Mikrosatelliten hilfreich sein, um zunächst auf Populationsebene zu klären, ob z.B. ein genetischer Austausch zwischen den einzelnen Inselbergen bzw. Populationen besteht oder ob sich bereits einzelne Populationen voneinander differenziert haben.

Da zu Beginn dieser Arbeit nur vergleichsweise wenige Mikrosatellitenmarker für Velloziaceae zur Verfügung standen, bestand ein wesentliches Ziel in der Etablierung von Mikrosatellitenmarkern für *X. dasylirioides* für populationsgenetische Studien (Publikation 1). Schon mit dieser Publikation konnte gezeigt werden, dass die neu entwickelten Mikrosatellitenloci bereits in einem vergleichsweise kleinen Probenet dazu geeignet sind die genetische Diversität aufzuzeigen und dadurch Informationen über die Strukturen der Populationen liefern können, die mit phylogenetischen Marken nur schwer zu erhalten sind. Mit Hilfe einer NGS-Methode konnten in der genomischen DNA von *Xerophyta dasylirioides* 7110 perfekte nukleäre Mikrosatelliten identifiziert werden (Publikation 1). Die hohe Mutationsrate und der daraus hervorgehende Längenpolymorphismus machen diese Mikrosatelliten zu einem geeigneten Hilfsmittel für weitere populationsgenetische Analysen. Ein wesentlicher Vorteil ist dabei die einfache PCR-basierte Amplifikation aufgrund von flankierenden und spezifischen Primerpaaren.

Alle neu etablierten Mikrosatellitenmarker wurden auch auf ihre Übertragbarkeit auf acht weitere madagassische und zwei afrikanische *Xerophyta*-Arten getestet. Je nach Locus-Art Kombination lag die Erfolgsrate zwischen 0% bis 70% (Publikation 1). Die Kreuzamplifikation mit den madagassischen Arten war dabei deutlich erfolgreicher als bei

den afrikanischen Arten. Dieses Ergebnis entsprach den Erwartungen. Denn aufgrund der langen Isolation Madagaskars von Kontinentalafrika, schien eine erfolgreiche Übertragung derartiger Marker eher unwahrscheinlich. Auch nicht ganz überraschend waren die etwas erfolgreichereren Kreuzamplifikationen mit den nahe verwandten madagassischen Arten, wie z.B. *Xeropyhta pinifolia* oder *X. tulearensis*. Zumal für beide Arten auch Varianten von *X. dasyliroides* beschrieben sind (z.B. *X. dasyliroides* var. *pinifolia* und *X. dasyliroides* var. *tulearensis*; Behnke et al., 2013). Auch was deren Blattanatomie betrifft gibt es durchaus Ähnlichkeiten zwischen diesen Arten. Eine erste Untersuchung in diese Richtung wurde im Rahmen einer von mir betreuten Bachelorarbeit (Heldt, 2021) durchgeführt. In dieser Arbeit wurden Blattproben von 12 der 15 *X. dasyliroides*-Standorte anatomisch untersucht. Dabei sind vor allem im untersuchten Südcluster partielle Ähnlichkeiten bzw. übereinstimmende Merkmale zu den Blattanatomien von fünf nahe verwandten Arten aufgefallen, so z.B. zu *X. tulearensis*. Aber auch zu *X. pectinata*, *X. andringitrensis*, *X. brevifolia* und *X. spinulosa*. Vier von diesen Arten gehören zu den zehn für Madagaskar akzeptierten Arten (vgl. Kapitel 1.3). Die von Behnke et al. (2013) dazu beschriebenen Standorte zeigten außerdem eine gewisse Ähnlichkeit mit denen in der vorliegenden Arbeit verwendeten *X. dasyliroides*-Proben auf. Möglicherweise deutet das entweder auf ein deutlich größeres Spektrum an phänotypischen Variationen von *X. dasyliroides* oder auf Hybridisierungsereignisse zwischen den Arten hin. Auch wenn nach Hopper et al. (2018) Hybridisierungsereignisse von Arten in OCBILs eher selten sind, kann das im Rahmen dieser Arbeit nicht komplett ausgeschlossen werden. Im Wesentlichen, weil hier nur *X. dasyliroides* und ihre Vorkommen auf Inselbergen im Fokus der populationsgenetischen Untersuchungen stand. Allerdings konnten vor allem bei den Proben aus der dritten Publikation unterschiedliche morphologische Variationen der Art beobachtet werden. Eine Hybridisierung kann durch den Genfluss und eine mögliche Rekombination zwischen divergierenden Arten allerdings für die Entstehung bzw. den Erhalt einer Art sowohl einen positiven Einfluss auf die Artenvielfalt haben, z.B. durch eine gesteigerte Vitalität (Heterosis-Effekt) oder durch die Fähigkeit sich mit einem oder beiden Eltern kreuzen zu können. Mögliche Hybride können aber auch durch einen Verlust der biologischen Vielfalt ein evolutionäre Sackgasse darstellen. Mota et al. (2018) konnten in einer Studie zu zwei sympatrisch vorkommenden *Pitcairnia*-Arten auf neotropischen Inselbergen zeigen, dass Hybridisierung hier einen positiven evolutionären Einfluss auf die Diversifizierungsprozesse hat und somit zum Erhalt der genetischen Vielfalt in lokal isolierten Inselbergpopulationen beiträgt. Zudem können Hybridisierungsereignisse auch das Anpassungspotenzial an z.B. lokale Umweltbedingungen durch das Einbringen von

genetischen Variationen und die Bildung vorteilhafter Genkombinationen mitunter erhöhen (Cannon et al., 2015). Allerdings kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei den Artvariationen von *X. dasyliroides* um allopatrische Artbildung handeln könnte. Denn bei den generierten Kreuzamplifikaten in der ersten Publikation konnten hauptsächlich monomorphe Bandenmuster beobachtet werden. Eine mögliche Ursache dafür könnten sogenannte Nullallele sein. Nullallele resultieren aus Mutationen in einer oder beiden Mikrosatelliten-flankierenden Primerbindestellen und sind nicht amplifizierbar. Bei heterozygoten Individuen wird dann nur ein Allel mittels PCR korrekt amplifiziert. Dadurch kann mitunter eine Heterozygotie fälschlicherweise als Homozygotie eingestuft werden. Das Auftreten von Nullallelen kann deshalb zu einer leichten Überschätzung von genetischen Distanzen bei populationsgenetischen Analysen führen. Aber durch entsprechend Software-gestützte Korrekturen kann man diese Diskrepanz in den statistischen Auswertungen kompensieren (van Oosterhout et al., 2006). Nullallele werden häufiger zwischen Arten beobachtet, gelegentlich aber auch innerhalb von Arten (Nascimento de Sousa et al., 2005). Dementsprechend können sie manchmal eine Übertragbarkeit von Mikrosatellitenmarkern auf andere Arten erschweren (Vornam et al., 2004).

### 3.2 Populationsgenetische Untersuchungen

Die Abschätzung der genetischen Diversität in Freilandpopulationen ist eine der wichtigsten Aufgaben der Populationsgenetik. Grundsätzlich gilt je höher die genetische Diversität ist, desto wahrscheinlicher kann sich eine Population an veränderte Lebensbedingungen anpassen. Sowohl isolierte Habitate, als auch Inzucht und genetische Drift können einen negativen Einfluss auf die genetische Diversität haben (Young et al., 1996). Um die genetische Diversität und mögliche Einflüsse auf natürlich isolierte Populationen von *X. dasyliroides* zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit nukleäre Mikrosatellitenloci verwendet. Dazu wurde ein Probenset bestehend aus 320 Individuen aus 15 Freilandpopulationen in einem Gebiet von 440 km Länge und entlang eines Höhengradienten von ca. 700 m bis 1700 m.ü.M. der madagassischen Art *X. dasyliroides* genotypisiert (Publikation 3). Die in der dritten Publikation erzielten Mikrosatellitendaten stützen die Ergebnisse der ersten Publikation. Auch zwischen den 15 Freilandpopulationen konnte nur ein geringer Genfluss nachgewiesen werden. Dabei erwiesen sich die einzelnen Populationen als deutlich voneinander differenziert (Publikation 3). Eine Bayesian Cluster-

Analyse ergab dabei für jeden Inselberg einen eigenen distinkten Genotyp mit einer hohen genetischen Diversität. Eine Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) zeigte ebenfalls, dass der größte Teil der genetischen Vielfalt (> 60%) innerhalb der Population und nur etwa 37% der Gesamtvariation auf Unterschiede zwischen den Populationen zurückgeführt werden kann. Zwischen den beiden sich aus den Beprobungen ergebenden Gruppierungen der Inselbergpopulationen (Nord- und Südcluster) lag ein Abstand von ca. 200 km. Der Wert für die genetische Vielfalt zwischen diesen beiden Cluster war deutlich niedriger als zwischen den einzelnen Inselbergen und lag bei nur 9,42% (Publikation 3).

Die Ergebnisse beider Analysen legten die Annahme nahe, dass dem vielleicht ein phylogeografisches Muster zugrunde liegen könnte bzw. der Einfluss einer Isolationsbarriere durch die Distanzen zwischen den Inselbergen nachweisbar ist. Denn wenn eine positive Korrelation zwischen genetischen und geografischen Distanzen besteht, würde der Genfluss zwischen den Populationen mit zunehmender Entfernung abnehmen. Die Analysen ergaben, dass der Genfluss zwischen den 15 *Xerophyta*-Populationen grundsätzlich eher gering ausgeprägt ist, unabhängig von der geografischen Distanz. Ein mögliches phylogeografisches Muster konnte in dem Neighbour-Net-Splits Graf (Publikation 3) dementsprechend nicht beobachtet werden. Für diese Grafik wurde eine Korrelation zwischen der genetischen Differenzierung und der geografischen Herkunft der Populationen berechnet, ohne vorab anzugeben, welches Individuum zu welcher Population gehört. Hier wird deutlich, dass jeder Inselberg seinen eigenen Genotyp besitzt und dass die Abgrenzung zu den anderen Inselbergpopulationen signifikant ist. Das wurde auch von der Bayesian Cluster-Analyse ohne Angaben zu der geografischen Herkunft der einzelnen Individuen bestätigt. Das lässt vermuten, dass die geografische Entfernung der Inselberge zwar durchaus eine Isolationsbarriere darstellt, aber es sich dabei zumindest auf nukleärer Ebene nur um eine bedingt effektive geografische Isolation handelt. Möglicherweise ist diese unvollkommene reproduktive Barriere der Grund für den, wenn auch eingeschränkten, Genfluss der hier untersuchten *X. dasylirioides* Populationen. Grundsätzlich kann ein Genfluss zwischen den Populationen entweder über Pollen oder aber auch über die Verbreitung von Samen erfolgen (Enno, 1994). Im Rahmen der Populationsdifferenzierung ist ein mögliches Maß den Genfluss zwischen Populationen zu erfassen, eine indirekte Methode mit der das Gleichgewicht zwischen Migration und genetischer Drift berechnet werden kann ( $N_m$ ; Publikation 3). Allerdings ist das kein absolutes Maß und eine Unterscheidung zwischen einem Genfluss mittels Pollen oder Samen damit nicht möglich. Da aber bei Angiospermen in der Regel Plastiden-DNA maternal und die nukleäre DNA biparental vererbt wird (Ennos, 1994), deuten

die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf hin, dass der Genfluss zwischen den Inselbergpopulationen über Samen weniger effizient ist als womöglich über die Pollen. Eine mögliche Konsequenz einer Schwerkraft begünstigten Verbreitung der kleinen Samen auf einem Inselberg wäre eine Fremdbestäubung von Geschwisterpflanzen, wie es z.B. für die Gattung *Vellozia* angenommen wird (Franceschinelli et al., 2006). Das könnte einen Austausch von Pollen verringern und folglich auch zu einem geringeren Genfluss zwischen Inselbergpopulationen führen. Somit scheint ein entscheidender Faktor der Lebensraum 'Inselberg' als Isolationsbarriere in Kombination mit der scheinbar begrenzten Fähigkeit der Samenverbreitung von *X. dasyliroides* zu spielen. Ebenfalls dafür spricht, dass die generierten Mikrosatellitendaten keine Korrelation im Sinne eines Gradienten zwischen der geografischen Entfernung der Inselberge zueinander und den genetischen Distanzen der einzelnen Inselbergpopulationen aufzeigen. So konnten für die meisten Populationen  $\geq 5$  sogenannte 'private' Allele nachgewiesen werden (Publikation 3), d.h. diese Allele kommen nur in einer Population vor und sind nur dann häufig vertreten, wenn der Genfluss gering ist (Slatkin, 1985). Daher ermöglichen diese Allele auch eine Differenzierung von Populationen. Grundsätzlich deutet ein hohes Maß an genetischer Differenzierung in geografisch isolierten Populationen auf ein unterschiedliches Ausmaß an reproduktiver Isolation hin.

Da bei Blütenpflanzen prinzipiell eine große Flexibilität an Reproduktionsstrategien vorhanden ist, kann das bei Feldstudien beobachtete Auftreten von Stolonen in den Freilandpopulationen von *X. dasyliroides* ein Hinweis darauf sein, dass vegetative Vermehrung durch klonales Wachstum eine Rolle für die Populationsstruktur spielen könnte. Verschiedene sexuelle und/oder asexuelle Strategien können durchaus Vorteile bieten, insbesondere für die Etablierung und das Überleben in einem extremen Lebensraum wie den Inselbergen. Eine asexuelle Reproduktion kann dabei entweder durch Apomixis oder eben eine vegetative Vermehrung erfolgen. Die Art der Reproduktion hat wiederum einen erheblichen Einfluss auf die genetische Vielfalt und schlussendlich auch auf die Morphologie einer Art. Da angenommen wird, dass die meisten Velloziaceae-Arten selbst-inkompatibel sind (Jacobi et al., 2007; Costa et al., 2017), könnte klonales Wachstum hier eine Strategie sein um mögliche Reproduktionsbarrieren zu umgehen. Eine Abhängigkeit von der Verfügbarkeit eines Bestäuber könnte damit, wenn mitunter auch nur fakultative bzw. temporär, ebenfalls überbrückt werden. In den statistischen Auswertungen der vorliegenden Arbeit konnten in nur drei der *Xerophyta*-Populationen über alle Loci hinweg sogenannte gleiche 'Multilocus-Genotypen' als genetisch identisch (Klon) festgestellt werden (Publikation 3). Interessanterweise außerschließlich im Nordcluster. Da zu einer möglichen

Apomixis bzw. apomiktisch gebildeten Samen bei Velloziaceae bislang nichts bekannt ist und Stolone beobachtet wurden, die als Rameten eigenständig existieren können, handelt es sich dabei mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit um klonales Wachstum. Zu diesem Zweck wurde ein Inselberg aus dem Nordcluster mit ca. 200 gesammelten Proben eingehender untersucht. Dabei konnten zwar Klone identifiziert werden, aber deutlich weniger als angenommen und auch nur in den jeweils eigenen Matten (Publikation 3). Da die meisten Velloziaceae-Arten Matten bilden und somit wie "Inseln auf Inseln" wachsen, die mitunter auch eine gewisse Distanz zueinander aufweisen, lag außerdem die Vermutung nahe, dass diese Mattenbildung möglicherweise auch einen Einfluss auf die Struktur der gesamten Inselbergpopulation haben könnte. Obwohl die in fünf Vektoren eingeteilten Individuen dieses Inselbergs über zahlreichen statistischen Berechnungen hinweg als eigenständige Populationen behandelt wurden, haben sie sich immer wieder zusammen gruppiert und somit einem Genotyp zugeordnet. Infolgedessen kann angenommen werden, dass unabhängig von einer vorkommenden Mattenstruktur auf einem Inselberg ein ausreichender genetischer Austausch auf selbigem vorhanden zu sein scheint. Da allerdings in acht der hier untersuchten Inselbergpopulationen eine Abweichung von dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) beobachtet wurde, scheint es denkbar, dass die Inselbergpopulationen vielleicht selbst Subpopulationen darstellen. Wenn man die Matten zudem als kleinere Teilpopulationen innerhalb eines Inselbergs betrachtet, könnten möglicherweise einzelne von ihnen von z.B. Gründereffekten betroffen sein. Eine denkbare Folge daraus wäre, dass die einzelnen Populationen sich somit weiter differenzieren und den sogenannten Wahlund-Effekt auf diese Weise verstärken könnten. Was dann bedeuten würde, dass die Heterozygotie einer größeren Population durch Strukturierung in reproduktiv isolierten Subpopulationen reduziert wäre (Hatterer, 1982). Wenn sich allerdings mehrere zuvor getrennte Populationen wieder vereinen, könnte eine andere Konsequenz des Wahlund-Effektes auch eine Abnahme der Homozygotenhäufigkeit sein.

Die nördlichste der 15 Populationen nahm in fast allen populationsgenetischen Analysen eine besondere Position ein. Hier wurden u.a. die meisten der Klone gefunden. Aufgrund eines bei dieser Population vorliegenden HWE und eines nachgewiesenen Flaschenhals-Effektes, lag die Vermutung nahe, dass sich dort entweder eine *Xerophyta*-Population neu etabliert oder ein Ereignis wie z.B. ein Feuer, die Populationsgröße drastisch verringert hat. Partiiell auftretende Feuer auf Inselbergen sind für eine Vielzahl der dort vorkommenden austrocknungstoleranten Monokotylen keine Seltenheit. Da Velloziaceae brennbare Terpenharze besitzen (Martins et al., 2016), die im Falle eines Feuers die Entflammbarkeit der

Pflanze beschleunigen, können sie so z.B. einen letalen Temperaturanstieg innerhalb der Pflanze vermeiden. Bei erwachsenen Pflanzen befindet sich Blattrosetten außerdem oft über den Flammen der brennenden Krautschicht (de Freitas Larocca et al., 2022). Wenn aber einige Pflanzenindividuen noch zu klein sind, somit länger einem Feuer ausgesetzt bzw. vielleicht noch nicht genügend abgestorbenes Blattmaterial und/oder mengenmäßig zu wenig Terpenharze vorhanden sind, könnte das für einige Individuen letale Folgen haben und so mitunter zu einer Reduktion der Populationsgröße führen.

### 3.3 Populationsstruktur von inselberg-spezifischen Arten

Vergleichbare Ergebnisse bezüglich der genetische Diversität wie in der vorliegenden Arbeit, konnten bereits bei anderen inselberg-spezifischen Arten aus der Neotropis beobachtet werden (Velloziaceae: *Vellozia*; Bromeliaceae: *Pitcairnia*, *Alcantarea*, *Encholirium*, *Vriesea*; Ochidaceae: *Epidendrum*; vgl. Kapitel 1.4). Morphologische Variationen innerhalb einer Art in Verbindung mit einer geringen genetischen Divergenz, wie z.B. bei *Vellozia hirsuta* (Barbosa et al., 2012), scheinen charakteristisch für die natürlich isolierten Lebensräume der Velloziaceae zu sein. Bei den beobachteten morphologischen Unterschieden, der in der vorliegenden Arbeit untersuchten *Xerophyta*-Populationen, handelt es sich womöglich um Anpassungen an die ökologischen Bedingungen an den jeweiligen Inselbergstandort. Wenn Inselbergarten also in der Lage sind sich den jeweiligen lokalen Habitatbedingungen anzupassen, zugleich aber nur ein geringer genetischer Austausch vorhanden ist, besteht die Möglichkeit, dass sie so zunächst Ökotypen generieren und über eine evolutionäre Zeitspanne mitunter auch neue Arten, sofern kein sekundärer Kontakt bzw. genetische Austausch erfolgt. Das könnte eine denkbare Erklärung für die beobachteten Unterschiede sowohl in der Zusammensetzung der Mattengemeinschaften und als auch das mitunter stark begrenzte regionale Vorkommen der Arten auf Inselbergen entlang der Tropen sein (Publikation 2).

Die Ergebnisse der populationsgenetischen Untersuchungen zu den natürlich isolierten *X. dasylirioides*-Populationen zeigen einen nur gering vorhandenen Genfluss auf nukleärer Ebene. Dieser scheint zwar nicht auszureichend um eine effektive Durchmischung des Genpools zu bedingen, aber dennoch scheint der vorhandene genetische Austausch der *Xerophyta*-Populationen ausreichend, um einem Effekt durch eine geografische Isolationsbarriere entgegenzuwirken. Die distinkten Genotypen und die hohe genetische Diversität innerhalb der untersuchten *Xerophyta*-Populationen, womöglich mit einer lokalen

Anpassung an den jeweiligen Inselbergstandort, könnten die morphologische Vielfalt innerhalb der Art erklären. Da eine hohe genetische Diversität bereits auch bei einigen neotropischen Inselbergarten beobachtet werden konnte, könnte dieses scheinbar wiederkehrende Phänomen auch eine mögliche Erklärung für die regionalen beobachteten Unterschiede sein. Bei Feldstudien konnten bislang 32 austrocknungstolerante mattenbildende Monokotyledonen auf tropischen Inselbergen identifiziert werden. Diese gehören im Wesentlichen zu nur drei Familien (Cyperaceae, Poaceae, Velloziaceae; Publikation 2). Der oft vorherrschende Trockenstress auf den Inselbergen stellt dabei für die Pflanzen einen multidimensionalen Stress dar. Dieser verursacht Veränderungen sowohl in den morphologischen, physiologischen, als auch den molekularen Merkmalen der dort vorkommenden Pflanzen. Jede dieser Veränderungen ist auch genetisch verankert. Das Ausmaß der genetischen Variationen in den Arten und ihre Verteilung innerhalb und zwischen den Populationen wird daher durch eine Vielzahl von Faktoren bestimmt, z.B. durch zahlreiche ökologische Faktoren, historische Ereignisse und das Ausmaß des Genflusses. So können z.B. selbst kleine regulatorische Veränderungen zu einer schnellen phänotypischen Divergenz zwischen isolierten Populationen führen. Zudem können diese geringfügigen genetischen Anpassungen auch eine schnelle Bildung von Ökotypen ermöglichen. Angesichts der Vielfalt der möglichen Einflüsse ist eine Bandbreite von Genotyp-Umwelt-Interaktionen möglich. Die daraus resultierende morphologische Diversität, auch bekannt als phänotypische Plastizität, kann eine Diversifizierung zudem fördern. Seit den frühen 1960 Jahren ist bekannt, dass phänotypische Plastizität ein grundlegendes Merkmal vieler adaptiver Reaktionen ist (Moran, 1992, Sikkink et al., 2016) und eine Möglichkeit um auf veränderte Umweltbedingungen reagieren zu können. Auch die bei *X. dasyliroides* auftretenden morphologischen Variationen erschweren eine klare Abgrenzung dieser Art. Insbesondere gegenüber naheverwandten Arten wie z.B. *X. tulearensis*. Wenn dazu auch noch morphologische Artvarianten beschrieben sind, z.B. *X. dasyliroides* var. *tulearensis* die zudem noch Ähnlichkeiten in der Blattanatomie aufweisen und damit scheinbar fließende Übergänge zwischen den Arten darstellen, ist eine eindeutige Bestimmung problematisch. Dieses Phänomen ist innerhalb dieser Familie auch schon von Barbosa et al. (2012) für *Vellozia hirsuta* mit 14 morpho-anatomischen Variationen beschrieben worden. Es scheint aber ein durchaus wiederkehrendes Muster auch bei anderen austrocknungstoleranten Monokotylen auf Inselbergen zu sein (Publikation 2). Daher liegt die Vermutung nahe, dass diese Variationen mit physiologischen Merkmalen z.B. im Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt, Gasaustausch und der Photosynthese assoziiert werden und damit für eine

Anpassung an die Inselbergbedingungen bedeutsam sein können (Givnish et al., 1998). Diese mitunter lokalen Anpassungen, können wiederum auch in morphologischen Variationen einer Art sichtbar werden, die dann auch als Ochlospesies bezeichnet werden (Cronk, 1998). So beeinflusst der Standort 'Inselberg' die große morphologische Bandbreite einiger Arten in mehrfache Weise. Zum einen aufgrund seiner Bedeutung als isolierter Lebensraum, der einen genetischen Austausch mitunter erschwert. Zum anderen als bioklimatische "Insel" durch die extremen edaphischen und mikroklimatischen Bedingungen die den Pflanzen besondere Anpassungsstrategien abverlangen. Das kann eine mögliche Erklärung für die regionalen Unterschiede bei Inselbergarten sein (Publikation 2). Beides für sich genommen könnte sich über die Zeit genetisch manifestieren und zu Artbildungen führen.

Eine Möglichkeit eine morphologische Diversität zu generieren ist die Polyploidie. Mehr als die Hälfte aller Gefäßpflanzen sind polyploiden Ursprungs. Dementsprechend hat dieser Prozess einen wesentlich Einfluss auf die Evolution der Pflanzen (Vamosi et al., 2007). Dabei scheint die Polyploidie den Pflanzen einen evolutionären Vorteil zu verschaffen. Weil polyploide Art eine größere genetische Vielfalt aufweisen, sind sie oft auch widerstandfähiger gegenüber extremen Umwelteinflüssen (van de Peer et al., 2020). De Melo et al. (1997) teilten die Velloziaceae aufgrund ihre unterschiedlichen Grade an Ploidie in drei Gruppen ein: die diploiden *Vellozia*-Arten, die tetraploiden *Barbacenia*-Arten und die hexaploiden *Xerophyta*-Arten (de Melo et al., 1997). Vor allem die Vertreter der afrikanischen Gattung *Xerophyta* weisen dabei einen hohen Grad an Ploidie auf, so hat z.B. *X. viscosa* einen achtfachen Chromosomensatz (Costa et al., 2017). Während Alcantara et al. (2015) die vermeintlich diploide Art *Vellozia variabilis* als nicht-poikilohydrisch einstufen, zeigten neuere Untersuchungen, dass fast alle *Xerophyta* und mindestens drei *Barbaceniopsis*-Arten poikilohydrisch sind (Publikation 2). Das legt zu mindestens für die Velloziaceae die Vermutung nahe, dass es vielleicht eine Korrelation zwischen dem Grad der Ploidie und dem Grad der Austrocknungstoleranz geben könnte. Außerdem scheint eine Polyploidie zudem eine zentrale Bedeutung für die Verbreitung gerade auch über weite Entfernungen (Linder et al., 2014), das Überleben kleinerer Populationen (Rodriguez, 1996) und die Entwicklung neuartiger Merkmale (Soltis et al., 2014) zu haben. Eine Polyploidisierung kann dabei auf unterschiedliche Weise entstehen. Entweder innerhalb einer Art durch eine Duplikation der Chromosomenanzahl (Autopolyploidie) oder zwischen genetisch unterschiedlichen Arten durch Hybridisierung (Allopolyploidie). Besonders für Arten die Inseln (wie z.B. Hawaii) neu besiedeln, kann die Allopolyploidie ein geeigneter Mechanismus darstellen, um ihre sonst oft eher geringe genetische Vielfalt zu erhöhen (Gracia-Verdugo et al., 2019). Dabei kann eine

Vervielfachung des Genoms wiederum veränderte Phänotypen hervorrufen. So unterscheiden sich polyploide Arten mitunter deutlich von diploiden in Morphologie, Entwicklung und Physiologie. Meudt et al. (2021) schlussfolgerten sogar, dass ein höherer Grad an Polyploidie die endemische Vielfalt auf Inselsystemen direkt fördert. Da ozeanische Inseln und 'terrestrische Habitatinseln' durchaus vergleichbare Systeme darstellen, kann ein Einfluss von Polyploidie auch für inselberg-spezifische Arten angenommen werden. Außerdem unterstützt diese Schlussfolgerung die OCBIL-Theorie, die von einer Förderung der Divergenz lokaler Populationen durch entsprechende Anpassungsstrategien von Pflanzenarten alter Abstammungslinien und deren geringe Ausbreitungsfähigkeit ausgeht (Campos et al., 2021). Grundsätzlich erfordert die Bildung von polyploiden Arten auch eine Reproduktionsbarriere gegenüber den Elternindividuen. Sofern Hybridisierungsereignisse aus sekundärem Kontakt von zuvor getrennten Populationen oder Arten in Hybridzonen resultieren, müssen sie aber nicht zwangsläufig auch zu neuen Arten führen. Diese Form der so weitergegebenen Gene von einer Art an eine andere wird Introgression genannt (Harland, 1950), und wäre ebenfalls eine denkbare Erklärung. Denn die Auswirkungen einer Introgression findet man in morphologischen Übergangsformen wieder. Prozesse, wie z.B. die Introgression, ermöglichen aber auch einen horizontalen Genaustausch zwischen sich ansonsten unabhängig entwickelnden Arten (Pease et al., 2015). So spielt auch dieser Prozess in der Pflanzenevolution eine wesentliche Rolle und wurde mit schnellen Radiationen in einigen Taxa in Verbindung gebracht (Seehausen, 2004).

Die bisherigen Erkenntnisse über die phylogenetischen Beziehungen, die Morphologie, das Vorhandensein von Polyploidie und über die Populationsstruktur bei der in der vorliegenden Arbeit im Fokus stehenden *X. dasylirioides* könnte durchaus auch ein Hinweis auf ein mögliches Artennetzwerk bei dieser Art sein. Eine derartige netzartige (retikulate) Evolution von Arten ist durch ein Zusammenspiel von genetischem Austausch (Genfluss), Isolation (Gendrift), Durchmischung und Rückkreuzung charakterisiert (Nge et al., 2021). Der Umfang des genetischen Austausches zwischen Populationen bestimmt, ob eine Art in eine einheitliche Richtung evolviert oder ob die Populationen in separate Richtungen divergieren. Dabei können auch genetisch heterogene Arten entstehen, bei denen Introgression, Hybridisierung und/oder Allopolyploidisierung zwischen Populationen und Arten eine wesentliche Rolle spielen.

#### 4. Abschließende Betrachtung

Über die genetische Diversität und Strukturierung, sowie über den Genfluss innerhalb und zwischen Populationen von Arten in Inselberg-Lebensräumen, ist bislang nicht viel bekannt. Genauso rudimentär ist noch das Wissen darüber welchen Einfluss Inselberge auf die Artbildungsprozesse, im Besondern von austrocknungstoleranten Inselbergarten, haben. Kenntnisse darüber sind von großer Bedeutung, nicht nur für eine Phylogenie, sondern auch im Hinblick auf erfolgreiche Strategien zum Schutz und Erhalt dieser außergewöhnlichen Arten.

Zu diesem Zweck wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit versucht ein detailliertes Verständnis über die genetische Populationsstruktur der auf Madagaskar endemischen inselberg-spezifischen *X. dasylirioides* zu erhalten. Zusätzlich wurde auch der Einfluss der Inselberge als mögliche Fortpflanzungsbarrieren und/oder bioklimatische "Inseln" eingehender betrachtet. Da die Velloziaceae mit ihrem disjunkten Verbreitungsmuster entlang der Tropen und bevorzugt auf azonalen Standorten mit unterschiedlichen Einflüssen (Bsp. Campos Rupestre Region) vorkommen, eignet sich diese Familie für derartige Fragestellungen im Besonderen. In früheren Studien konnte bereits für einige neotropische Vertreter der Gattung *Vellozia* genauso wie für die hier im Fokus stehende paläotropische *X. dasylirioides* ein eingeschränkter Genfluss zwischen den Populationen und eine hohe genetische Diversität innerhalb der Inselbergpopulation nachgewiesen werden. Eine mögliche Konsequenz einer Isolation von Populationen durch einen eingeschränkten Genfluss kann die Bildung neuer Arten sein. Der Genfluss über Samen und/oder Pollen ist dabei ein wesentlicher Faktor für die genetische Divergenz zwischen Populationen. Bei dem Großteil der bislang untersuchten Inselbergarten, ebenso wie bei *X. dasylirioides*, konnte eine begrenzte Fähigkeit der Samenverbreitung aufgezeigt werden. Damit scheint der Bestäuberbiologie in diesem besonderen Habitat eine besondere Rolle zuteil zu werden. Diese Annahme ist aber bislang rein hypothetisch. Gezielt durchgeführte Felduntersuchungen könnten dafür aufschlussreich sein, auch im Hinblick auf eine mögliche Bestäuber-Inselberg-Wechselwirkung auf der Ebene der Population. Überdies sollte auch ergänzend das Plastidengenom berücksichtigt werden. Da bei Angiospermen Plastiden-DNA in der Regel maternal vererbt wird, evolviert sie mitunter schneller als Kern-DNA. Die Auswirkungen einer z.B. genetischen Drift würden somit auch schneller zu lokaler Differenzierung führen, ähnlich wie es bereits für Orchideen auf brasilianischen Inselbergen beobachtet wurde (*Epidendrum*: Pinheiro et al., 2014; 2016).

Auch die Annahme, dass eine polyploide Art wie *X. dasylirioides* diesen Status nutzen könnte, um gegebenenfalls einem Defizit in der Verfügbarkeit eines Bestäuber zu überbrücken, ist bislang hypothetisch und bedarf weitere Untersuchungen. Aufgrund der immer wieder zu beobachteten vielfältigen Variationen in der Morphologie mitunter innerhalb einer Art, erfordert es vergleichende populationsgenetische Analysen mit nahe verwandten Arten bzw. von Artvarianten um z.B. die Frage nach Hybridisierungsereignissen beantworten zu können. Um die Konsequenzen einer gegebenenfalls bestehenden fakultativen oder obligaten Klonalität aufzuzeigen, wären auch hier weiterführende Untersuchungen angebracht. Zusätzliche populationsgenetische Daten von weiteren Inselbergstandorten von *X. dasylirioides* inklusive anatomischer Daten könnten ebenfalls dazu beitragen ein detaillierteres Bild von dem Variationsspektrum dieser Art zu erhalten. Angesichts der gewonnenen Erkenntnisse, wären auch weitere Analysen bezüglich eines möglicherweise vorliegenden Artennetzwerk von *X. dasylirioides* sinnvoll. Informationen über Artbildungsprozesse wären wichtig in Bezug auf den Schutz sowohl der Art als auch der Inselberghabitate. Denn viele der inselberg-spezifischen Arten sind durch Habitatzerstörung stark gefährdet, insbesondere die endmischen und an diesen einzigartigen Lebensraum in besonderer Art und Weise angepassten Arten. Besonders im Rahmen der zunehmenden globalen Wasserverknappung, könnten gerade die austrocknungstoleranten Inselbergarten viele Einblicke von dem (Über-) Leben in einer Welt mit u.a. wenig verfügbarem Wasser ermöglichen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern einen ersten Einblick in die Welt der außergewöhnlichen *X. dasylirioides* und anderer austrocknungstoleranter Inselbergarten. Für weiterführende Untersuchungen bieten die erzielten Erkenntnisse zudem auch mögliche Ansatzpunkte zur Entwicklung von Naturschutzstrategien sowohl für die Inselberg-Habitate als auch ihre besonderen Pflanzenarten.

## 4. Publikationen

### 4.1 New microsatellite markers for *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs

J. Rexroth, L. Krebes, T. Wöhrmann, D. Harpke, M. Rabarimanarivo, P. Phillipson, K. Weising und S. Porembski

Applications in Plant Sciences 7:e11282. doi: 10.1002/aps3.11282.

#### Zusammenfassung

Aufgrund der auf Inselbergen herrschenden extremen mikroklimatischen und edaphischen Bedingungen (z.B. hohe Temperaturen, Trockenheit, felsige Böden, Nährstoffmangel), unterscheidet sich ihre Ökologie deutlich von der sie umgebenden Vegetation. Nur wenige Pflanzenarten besitzen für diesen Lebensraum die erforderlichen Eigenschaften und können erfolgreich in diesen Inselberg-Habitaten wachsen. Die monokotylen Velloziaceae sind dabei wichtige floristische Elemente auf den Inselbergen oder anderen Felsformationen in Südamerika, Afrika und Madagaskar. *Xerophyta dasylirioides* ist auf Madagaskar endemisch und kommt fast omnipräsent auf Inselbergen des zentralgelegenen Hochplateaus vor. Um die Auswirkungen ihrer inselartigen Verbreitung und den Genfluss zu untersuchen, wurden nukleäre Mikrosatellitenmarker unter Verwendung der Illumina-Sequenzierung generiert. Insgesamt 7110 perfekte Mikrosatellitenloci wurden mithilfe einer MiSeq-Plattform gewonnen. Primerpaare wurden dann für 40 zufällig ausgewählte Loci entworfen. Fünfzehn dieser Primer erzeugten distinkte Amplifikate und wurden für die Genotypisierung von 80 Individuen aus drei Inselberg-Populationen von *X. dasylirioides* verwendet. Alle neuen Mikrosatellitenmarker wiesen einen hohen Grad an Polymorphismus auf und bis auf zwei Individuen der Inselberg-Populationen zeigten alle unterschiedliche Multilocus-Genotypen. Zudem wurde auch die Übertragbarkeit dieser Marker auf acht weitere *Xerophyta*-Arten aus Madagaskar und zwei aus Kontinentalafrika getestet. Je nach Locus-Art Kombination lag die Rate der erfolgreichen Kreuzamplifikation bei 0 bis 70%. Dabei wurde deutlich, dass eine Kreuzamplifikation mit den madagassischen Arten deutlich effizienter als bei den afrikanischen Arten war.

## New microsatellite markers for *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs

Juliane Rexroth<sup>1,7</sup> , Lukas Krebs<sup>1</sup>, Tina Wöhrmann<sup>2</sup>, Dörte Harpke<sup>3</sup>, Marina Rabarimanarivo<sup>4</sup>, Peter Phillipson<sup>5,6</sup>, Kurt Weising<sup>2</sup>, and Stefan Porembski<sup>1</sup>

Manuscript received 21 March 2019; revision accepted 13 May 2019.

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, University of Rostock, D-18057 Rostock, Germany

<sup>2</sup>Plant Molecular Systematics, Department of Sciences, University of Kassel, D-34132 Kassel, Germany

<sup>3</sup>Taxonomy and Evolutionary Biology, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Research (IPK), D-06466 Gatersleben, Germany

<sup>4</sup>Missouri Botanical Garden, P.O. Box 3391, Antananarivo 101, Madagascar

<sup>5</sup>Missouri Botanical Garden, P.O. Box 299, St. Louis, Missouri 63166-0299, USA

<sup>6</sup>Département Systématique et Evolution Muséum National d'Histoire Naturelle, 75231 Paris CEDEX 05, France

<sup>7</sup>Author for correspondence: juliane.rexroth@uni-rostock.de

**Citation:** Rexroth, J., L. Krebs, T. Wöhrmann, D. Harpke, M. Rabarimanarivo, P. Phillipson, K. Weising, and S. Porembski. 2019. New microsatellite markers for *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs. *Applications in Plant Sciences* 7(8): e11282.

doi:10.1002/aps3.11282

**PREMISE:** Microsatellite markers were developed for *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae), a species endemic to the Malagasy inselbergs, to explore the impact of its island-like distribution on genetic diversity and gene flow.

**METHODS AND RESULTS:** A total of 7110 perfect microsatellite loci were recovered by shotgun sequencing on an Illumina MiSeq platform. Primer pairs were designed for 40 arbitrarily selected loci. Fifteen primer pairs that generated distinct PCR products were used to genotype 80 individuals of *X. dasyliroides* from three inselberg populations. All markers were polymorphic, revealing two to 17 alleles in the overall sampling. Levels of observed and expected heterozygosity per locus ranged from zero to 1.000 and from zero to 0.850, respectively. Success rates of cross-amplification in 10 additional species of *Xerophyta* (*X. croatii*, *X. decaryi*, *X. isaloensis*, *X. labatii*, *X. lewisiae*, *X. pinifolia*, *X. retinervis*, *X. setosa*, *X. spekei*, *X. tulearensis*) ranged from zero to 70%.

**CONCLUSIONS:** Fifteen newly developed microsatellite markers provide a toolkit for assessing population genetic parameters of *X. dasyliroides* in its unique island-like habitats.

**KEY WORDS** desiccation-tolerance; genetic diversity; Illumina sequencing, Madagascar; rock outcrops; Velloziaceae; *Xerophyta dasyliroides*.

Inselbergs are isolated, often dome-shaped monolithic rock outcrops (either single or groups) that mainly consist of granite or gneiss (Porembski, 2007). Because inselbergs are ecologically separated from the surrounding matrix, these ecosystems are often referred to as terrestrial or sky islands (Porembski and Barthlott, 2000; Emerson, 2002). Only a few plant species possess traits that enable them to grow successfully in inselberg habitats, which are usually characterized by high temperatures, strong aridity, rocky soils, and extreme nutrient deficiency. The Velloziaceae are desiccation-tolerant vascular plants that are important floral elements on inselbergs and other rock outcrops in South America, Africa, and Madagascar (Mello-Silva et al., 2011). Studies of Velloziaceae (e.g., Lousada et al., 2013) and Bromeliaceae (e.g., Barbará et al., 2007) in South America, as well as of Gesneriaceae in Asia (e.g., Hughes et al., 2007), have indicated that rates of genetic exchange between populations located on different inselbergs can be very low even when in close proximity, thus emphasizing the potential role of isolated rock outcrops as drivers of population differentiation and ultimately speciation.

Microsatellites are informative and versatile DNA-based markers for the evaluation of intraspecific variation, population structure, and speciation (Selkoe and Toonen, 2006). Whereas microsatellite markers have been developed in two South American *Vellozia* Vand. species (Martins et al., 2012; Duarte-Barbosa et al., 2014), no such markers are yet available for Velloziaceae from the Old World. The genus *Xerophyta* Juss. (Velloziaceae) contains approximately 30 desiccation-tolerant species that are distributed from Madagascar to sub-Saharan Africa and southwestern Arabia (Behnke et al., 2013). *Xerophyta dasyliroides* Baker is an endemic species on Madagascar, where it occurs on inselbergs mainly of the Central Highlands. The delimitation of taxa within the Velloziaceae is notoriously difficult, and little is known about genetic differentiation patterns among *Xerophyta* species and populations from African and Malagasy inselbergs. We developed 15 polymorphic microsatellite markers by next-generation sequencing on an Illumina MiSeq platform to analyze the genetic diversity and population structure of *X. dasyliroides* in Madagascar and evaluate the significance of its island-like distribution in terms of speciation. We also tested the transferability

*Applications in Plant Sciences* 2019 7(8): e11282; <http://www.wileyonlinelibrary.com/journal/AppsPlantSci> © 2019 Rexroth et al. *Applications in Plant Sciences* is published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of the Botanical Society of America. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

1 of 5

of these markers to eight other *Xerophyta* species from Madagascar (*X. pinifolia* Lam. ex Poir., *X. decaryi* Phillipson & Lowry, *X. labatii* Phillipson & Lowry, *X. setosa* Phillipson & Lowry, *X. croatii* Phillipson & Lowry, *X. isaloensis* Phillipson & Lowry, *X. lewisiae* Phillipson & Lowry, *X. tulearensis* (H. Perrier) Phillipson & Lowry) and two from continental Africa (*X. spekei* Baker, *X. retinervis* Baker; see Appendix 1).

## METHODS AND RESULTS

Genomic DNA was extracted from lyophilized leaves of one individual plant of *X. dasyliroides* (JR1432; see Appendix 1) using a modified cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method (Štorchová et al., 2000). A 5- $\mu$ g DNA aliquot was used for library preparation. DNA was sheared to generate fragments of on average 600-bp length, followed by adapter and barcode ligation according to Meyer and Kircher (2010). The library was size-selected by gel electrophoresis, and fragment size distribution and DNA concentration were evaluated on an Agilent BioAnalyzer High Sensitivity DNA Chip and using the Qubit DNA Assay Kit in a Qubit 2.0 fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Darmstadt, Germany). The final library was sequenced on an Illumina MiSeq platform (Illumina, San Diego, California, USA) generating 250-bp paired-end reads. After removal of adapters and low-quality reads, a total of 6,980,938 clean reads were obtained. These were de novo assembled into 321,971 contigs using CLC Genomic Workbench version 3.2.0

(CLC bio, Aarhus, Denmark). Using the MISA module (Thiel et al., 2003) and considering a minimum of 10 repeat units for di-, eight for tri-, seven for tetra-, six for penta-, and five for hexanucleotide repeats, respectively, a total of 7110 perfect microsatellites were detected. For the initial screening, 40 loci were arbitrarily selected for the design of microsatellite-flanking primers using BatchPrimer3 (You et al., 2008). The criteria for primer design were (1) product size from 100 to 300 bp; (2) primer size from 18 to 23 bp; (3) annealing temperature from 50°C to 70°C; and (4) GC content of primers between 30% and 70% (Wöhrmann and Weising, 2011).

DNA amplifications were performed in 10- $\mu$ L reactions containing 5 ng of template DNA, 1 $\times$  Mango-*Taq* reaction buffer (Bioline, Luckenwalde, Germany), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 0.05 units of *Taq* DNA polymerase (Mango-*Taq*, Bioline), and 0.5  $\mu$ M of each primer. Forward primers were fluorescently labeled with FAM, VIC, NED, or PET (Applied Biosystems, Foster City, California, USA; see Table 1). All loci were amplified using a touchdown PCR program with an initial denaturation at 94°C for 6 min; followed by a 12-cycle touchdown of 94°C for 45 s, 62–50°C for 30 s, and 65°C for 45 s; 18 additional cycles at 94°C for 45 s, 50°C for 30 s, and 65°C for 45 s; and a final elongation at 65°C for 10 min.

PCR products were electrophoresed on an ABI Prism 3100 sequencer (Applied Biosystems) along with a fluorescently labeled internal size standard (GeneScan 600 LIZ Size Standard; Applied Biosystems). Allele sizes were determined manually using Peak Scanner Software version 1.0 (Applied Biosystems). Numbers of alleles and levels of observed and expected heterozygosity were

**TABLE 1.** Characteristics of 15 microsatellite markers developed for *Xerophyta dasyliroides* from Malagasy inselbergs.

Locus	Primer sequence (5'–3')	Repeat motif	Fluorescent label	Allele size range (bp)	T <sub>a</sub> (°C)	GenBank accession no.
Xeda_01	F: AGTTCGGCTCGATTACACTA R: GCGAGTCTAACAACACTTTCCT	(CTCGAA) <sub>7</sub>	FAM	106–124	55	MG407664
Xeda_04	F: TCGATTAGCAATATAGCATCC R: CCACTAAGCGTAATAATGTTTG	(ATGTGG) <sub>5</sub>	NED	38–42	55	MH427346
Xeda_12	F: ATTCTCATGCACAGGAATTA R: TGAAGAAAACAAGATTTGAGG	(TAT) <sub>17</sub>	PET	105–117	55	MH427347
Xeda_13	F: GAAAAAGACAAACACACAAGC R: GTTGCTCAGGGAGGTAATAAT	(TAT) <sub>15</sub>	VIC	74–107	55	MG407665
Xeda_15	F: TAAAGAGATGCTGAGAAGGAG R: TTTTCGCTCGATATTATACA	(GAA) <sub>12</sub>	NED	123–144	55	MG407665
Xeda_18	F: TCAAATCAAATTAACAGCTGAG R: CTCTCTCTCGTTCCTCGTTCCT	(TCT) <sub>11</sub>	PET	121–136	55	MG407667
Xeda_20	F: TCTTTATCAGGTCCATGATTC R: TGGATTGAGAAATACCTGAG	(CTT) <sub>11</sub>	FAM	104–116	55	MG407668
Xeda_23	F: CTTTACGGCTATTTCGTGTATG R: CGTATAAGAATCAGGCATCTG	(TGA) <sub>10</sub>	NED	128–146	55	MH427348
Xeda_25	F: AACATCATCCCCAATTT R: TTTTTCATCTTGGGGTTTAGT	(TCC) <sub>10</sub>	VIC	144–159	55	MG407669
Xeda_26	F: AAGAAGATGAGAAAGGTGAGC R: GTTAATCAAGGAAGCCTGTCT	(GAA) <sub>10</sub>	NED	177–198	55	MG407670
Xeda_28	F: AGGATAAGCATGGTTTACTGA R: AAAACAATGGTCTCTCTTCG	(CGG) <sub>10</sub>	PET	152–167	54	MG407671
Xeda_31	F: TGTGACAGAAAGAGACACAGA R: TGTGGAGCCTTTACTTGATAA	(AG) <sub>32</sub>	FAM	144–188	55	MG407672
Xeda_34	F: TAATGCACCTTCAAACCTTCC R: AGGTATGACCCCTTCTATTG	(CT) <sub>25</sub>	PET	114–156	55	MH427349
Xeda_39	F: CAAGCCTGCTGACTAGATAAA R: CACCTAGGCCTTTAGTACCTC	(GA) <sub>15</sub>	FAM	164–212	55	MH427350
Xeda_40	F: ATCGTCGATCTATCATTCAA R: ATCTCTCTCTCTCTCAACC	(AG) <sub>25</sub>	VIC	104–142	55	MG407673

Note: T<sub>a</sub> = annealing temperature.

**TABLE 2.** Genetic variation of 15 microsatellite loci in three natural populations of *Xerophyta dasyliroides* from Madagascar inselbergs.<sup>a</sup>

Locus	Angavokely (N = 30)			Andronovelona (N = 30)			Quarry II (N = 20)			
	A	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	A	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	A	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	A <sub>m</sub>
Xeda_01	2	0.700 <sup>b</sup>	0.455	1	0.000	0.000	2	0.050	0.049	3
Xeda_04	2	0.500	0.375	2	0.621 <sup>b</sup>	0.428	2	0.950 <sup>b</sup>	0.499	2
Xeda_12	1	0.000	0.000	1	0.000	0.000	1	0.000	0.000	2
Xeda_13	9	0.700	0.783	1	0.000	0.000	1	0.000	0.000	10
Xeda_15	6	0.800	0.737	6	0.567	0.538	2	0.200	0.180	7
Xeda_18	2	0.367	0.455	4	0.138 <sup>b</sup>	0.628	2	0.000 <sup>b</sup>	0.388	5
Xeda_20	1	0.000	0.000	2	0.067 <sup>b</sup>	0.358	3	0.053 <sup>b</sup>	0.467	4
Xeda_23	3	0.333	0.339	4	0.767	0.675	3	0.550	0.626	6
Xeda_25	3	0.467	0.456	5	0.467	0.462	1	0.000	0.000	5
Xeda_26	2	0.214	0.191	3	0.200 <sup>b</sup>	0.331	2	0.000 <sup>b</sup>	0.305	4
Xeda_28	3	0.633	0.615	3	0.267 <sup>b</sup>	0.518	1	0.000	0.000	5
Xeda_31	6	0.739 <sup>b</sup>	0.683	9	0.700 <sup>b</sup>	0.850	6	0.611	0.765	17
Xeda_34	5	0.379 <sup>b</sup>	0.719	9	0.600 <sup>b</sup>	0.841	2	0.150	0.219	14
Xeda_39	4	1.000 <sup>b</sup>	0.559	3	1.000 <sup>b</sup>	0.589	2	1.000 <sup>b</sup>	0.500	7
Xeda_40	6	0.423 <sup>b</sup>	0.541	9	0.429 <sup>b</sup>	0.786	2	0.105 <sup>b</sup>	0.432	14
Mean	4	0.484	0.461	4.133	0.388	0.467	2.133	0.245	0.295	7
Total	55	—	—	62	—	—	32	—	—	105

Note: — = not applicable; A = number of alleles; A<sub>m</sub> = mean number of alleles across all 80 *Xerophyta dasyliroides* samples; H<sub>e</sub> = expected heterozygosity; H<sub>o</sub> = observed heterozygosity; N = number of individuals sampled.

<sup>a</sup>Voucher and locality information are provided in Appendix 1.

<sup>b</sup>Significant departure from Hardy–Weinberg equilibrium (chi-square,  $P < 0.05$ ).

calculated with GenAlEx version 6.5 (Peakall and Smouse, 2012). GENEPOP version 4.2 (Raymond and Rousset, 1995) was used to test for deviations from Hardy–Weinberg equilibrium and for linkage disequilibrium among markers, using the default values of Markov chain parameters suggested by the program.

Marker cross-amplifications were initially tested in five *X. dasyliroides* individuals (including JR1432 as a positive control). Out of the 40 primer pairs developed, 15 primer pairs that yielded distinct, polymorphic, and easy-to-score PCR products were selected for genotyping 30, 30, and 20 individuals of *X. dasyliroides* from three Malagasy inselberg populations (see Appendix 1 for details and geographical coordinates). Genomic DNA of these plants was extracted from silica gel–dried leaf material according to Storchová et al. (2000). Locus characteristics, primer sequences, and GenBank accession numbers of the 15 selected microsatellite loci are listed

in Table 1, and population genetic parameters are summarized in Table 2. Allele numbers ranged from two to 17 alleles per locus (average = 7.0). Levels of observed and expected heterozygosity ranged from zero to 1.000 and from zero to 0.850, respectively. All but two individuals had different multilocus genotypes, ruling out clonal growth. However, some loci proved to be monomorphic and homozygous in one or two populations (Table 2). Significant deviations ( $P < 0.05$ ) from Hardy–Weinberg equilibrium were observed in all three populations. There was no evidence of linkage disequilibrium for any locus pair.

We also tested cross-species transferability of these 15 markers in one individual each of eight other Malagasy species, one individual of the African species of *X. spekei*, and five individuals of the African species *X. retinervis* (Appendix 1, Table 3), using the same PCR protocol as described above. The success rates for

**TABLE 3.** Cross-amplification of primers developed in *Xerophyta dasyliroides* in 10 other species of *Xerophyta*.<sup>a,b</sup>

Locus	XePin	XeDec	XeLab	XeSet	XeCro	XeSlsa	XeLew	XeTul	XeSpe	XeRet1	XeRet2	XeRet3	XeRet4	XeRet5	Total
Xeda_01	112	—	106/112	112	—	112	112	112	—	—	—	—	—	—	6
Xeda_04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Xeda_12	123	—	—	105	105*	—	—	—	—	126*	—	—	—	—	4
Xeda_13	95	74*	71	62/86	86/98	—	74	—	—	—	—	—	—	—	6
Xeda_15	—	—	120/123	120/126	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Xeda_18	—	130	—	—	127	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Xeda_20	—	116	—	—	—	110	—	116*	—	—	—	—	—	—	3
Xeda_23	137	—	—	—	—	—	—	—	—	140	140	140	—	—	4
Xeda_25	153	141	—	153	—	153	—	—	—	—	—	—	—	—	4
Xeda_26	183	201	201	183	—	—	189	—	—	—	—	—	—	—	5
Xeda_28	152*	155	—	152	—	—	155	161*	—	—	—	—	—	—	5
Xeda_31	154*	158*	166	176	186	—	168	154	—	—	—	—	—	—	7
Xeda_34	—	138/166	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Xeda_39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Xeda_40	—	—	—	—	—	—	—	116	—	—	—	—	—	—	1

Note: — = no amplification; \* = weak amplification; Malagasy species: XePin = *Xerophyta pinifolia*; XeDec = *X. decaryi*; XeLab = *X. labatii*; XeSet = *X. setosa*; XeCro = *X. croatii*; XeSlsa = *X. isaloensis*; XeLew = *X. lewisia*; XeTul = *X. tularensis*; African species: XeSpe = *X. spekei*; XeRet = *X. retinervis*.

<sup>a</sup>Values represent single PCR products with allele size in base pairs.

<sup>b</sup>Voucher and locality information are provided in Appendix 1.

cross-amplifications ranged from zero to 70%, depending on the locus–species combination (Table 3). Cross-amplification in the Malagasy species was clearly more efficient than in the two African species, in which only two markers could be amplified in *X. retinervis* (Xeda\_12 and Xeda\_23). Both microsatellite loci turned out to be monomorphic across the individuals of *X. retinervis* tested (Table 3). The limited cross-amplification between African and Malagasy species is in accordance with expectations from the long-lasting isolation of Madagascar from continental Africa.

## CONCLUSIONS

We developed 15 new nuclear microsatellite markers for the desiccation-tolerant plant *X. dasylirioides*, an endemic to Madagascar. The novel markers display high levels of polymorphism among 80 individual plants derived from three inselberg populations and thus provide a promising toolbox for assessing the genetic diversity and population structure of *X. dasylirioides*. These markers are expected to contribute to our understanding of the significance of inselbergs regarding species diversification on terrestrial islands.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Dr. F. Blattner from IPK Gatersleben for the help with sequencing and microsatellite development, Dr. R. Bastrop, L. de Paula, and B. Leal for support in genetic analyses, and the Institute of Pharmacy and Molecular Biotechnology of the University of Heidelberg for the kind supply of plant material. The authors acknowledge funding for open access publication within the framework of the Wiley-Projekt DEAL agreement.

## DATA ACCESSIBILITY

Raw sequencing data used for the development of microsatellite markers are available through the European Nucleotide Archive (ENA) (ERS2600133; study ID: ERP113401). Sequence information for the developed primers has been deposited to the National Center for Biotechnology Information's GenBank, and accession numbers are provided in Table 1.

## LITERATURE CITED

Barbará, T., G. Martinelli, M. F. Fay, S. J. Mayo, and C. Lexer. 2007. Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical high-altitude 'inselbergs': *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). *Molecular Ecology* 16: 1981–1992.

- Behnke, H. D., E. Hummel, S. Hillmer, H. Sauer-Gürth, J. Gonzalez, and M. Wink. 2013. A revision of African Velloziaceae based on leaf anatomy characters and *rbcl* nucleotide sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 172: 22–94.
- Duarte-Barbosa, M., M. M. Bajay, M. I. Zucchi, and V. R. Pivello. 2014. Development and characterization of 47 novel microsatellite markers for *Vellozia squamata* (Velloziaceae). *Applications in Plant Sciences* 3: 1400087.
- Emerson, B. C. 2002. Evolution on oceanic islands: Molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular Ecology* 11: 951–966.
- Hughes, M., M. Möller, T. J. Edwards, D. U. Bellstedt, and M. De Villiers. 2007. The impact of pollination syndrome and habitat on gene flow: A comparative study of two *Streptocarpus* (Gesneriaceae) species. *American Journal of Botany* 94: 1688–1695.
- Lousada, J. M., M. B. Lovato, and E. L. Borba. 2013. High genetic divergence and low genetic variability in disjunct populations of the endemic *Vellozia compacta* (Velloziaceae) occurring in two edaphic environments of the Brazilian campos rupestres. *Brazilian Journal of Botany* 36: 45–53.
- Martins, A. P. V., K. Proite, E. Kalapothakis, F. R. Santos, A. V. Chaves, and E. L. Borba. 2012. Microsatellite markers for *Vellozia gigantea* (Velloziaceae), a narrowly endemic species to the Brazilian campos rupestres. *American Journal of Botany* 99: e289–e291.
- Mello-Silva, R., D. Y. A. C. Santos, M. L. F. Salatino, L. B. Motta, M. B. Cattai, D. Sasaki, J. Lovo, et al. 2011. Five vicarious genera from Gondwana: The Velloziaceae as shown by molecules and morphology. *Annals of Botany* 108: 87–102.
- Meyer, M., and M. Kircher. 2010. Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing. *Cold Spring Harbour Protocols*. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5448>
- Peakall, R., and P. E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5.: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28: 2537–2539.
- Porembski, S. 2007. Tropical inselbergs: Habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. *Brazilian Journal of Botany* 30: 579–586.
- Porembski, S., and W. Barthlott. 2000. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centres of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecology* 151: 19–28.
- Raymond, M., and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248–249.
- Selkoe, K. A., and R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecological Letters* 9: 615–629.
- Štorchová, H., R. Hrdličková, J. Chrtek, M. Tetera, D. Fitze, and J. Fehrer. 2000. An improved method of DNA isolation from plants collected in the field and conserved in saturated NaCl/CTAB solution. *Taxon* 49: 97–84.
- Thiel, T., W. Michalek, R. Varshney, and A. Graner. 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 106: 411–422.
- Wöhrmann, T., and K. Weising. 2011. In silico mining for simple sequence repeat loci in a pineapple expressed sequence tag database and cross-species amplification of EST-SSR markers across Bromeliaceae. *Theoretical and Applied Genetics* 123: 635–647.
- You, F. M., N. Huo, Y. Q. Gu, M. C. Luo, Y. Ma, D. Hane, G. R. Lazo, et al. 2008. BatchPrimer3: A high throughput web application for PCR and sequencing primer design. *BMC Bioinformatics* 9: 253.

**APPENDIX 1.** Voucher and location information of samples of *Xerophyta dasylirioides* and related species used in the microsatellite analysis.

Species	Voucher specimen accession no. <sup>a</sup>	Collection locality / source	Geographic coordinates	N
<i>X. dasylirioides</i> Baker	JR1432	Botanischer Garten Rostock	NA	1
<i>X. dasylirioides</i>	JR1463–JR1492	Madagascar, Angavokely	18°55'17"S, 47°44'19"E	30
<i>X. dasylirioides</i>	JR1493–JR1522	Madagascar, Andronovelona	18°38'05"S, 47°16'58"E	30
<i>X. dasylirioides</i>	JR1523–JR1542	Madagascar, Quarry II	18°30'44"S, 47°11'04"E	20
<i>X. pinifolia</i> Lam. ex Poir.	P5458	Madagascar/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. decaryi</i> Phillipson & Lowry	P6669	Madagascar, Toliara/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. labatii</i> Phillipson & Lowry	P6671	Madagascar, Fianarantsoa/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. setosa</i> Phillipson & Lowry	P6675	Madagascar, Fianarantsoa/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. croatii</i> Phillipson & Lowry	P6668	Madagascar, Fianarantsoa/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. isaloensis</i> Phillipson & Lowry	P6651	Madagascar, Fianarantsoa/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. lewisiae</i> Phillipson & Lowry	P6652	Madagascar, Fianarantsoa/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. tulearensis</i> (H. Perrier) Phillipson & Lowry	P6802	Madagascar, Toliara/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. spekei</i> Baker	P6425	Africa, Tanzania/IPMB Heidelberg	NA	1
<i>X. retinervis</i> Baker	P6276, P6419, P6563, P6678, P6686	Africa, Swaziland/IPMB Heidelberg	NA	5

Note: IPMB Heidelberg = Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie der Universität Heidelberg; N = number of individuals; NA = data not available.

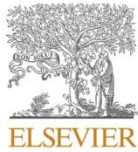
<sup>a</sup>Voucher deposited at the Department of Botany, University of Rostock (ROST), Rostock, Germany.

## 4.2 An overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on tropical inselbergs

S. Porembski, J. Rexroth, K. Weising, L. Bondi, R. Mello-Silva, D. C. Centeno, M. N. Datar, A. Watve, A. Thiobano, E. Tindano, M. N. Rabarimanarivo, L. F.A. de Paula  
Flora 285:151953. doi: 10.1016/j.flora.2021.151953.

### Zusammenfassung

Inselberge aus Granit und/oder Gneis sind besonders weitverbreitet in den Tropen. Aufgrund ihrer besonderen Entstehung durch intensive, aber auch langsame Verwitterungsprozesse, können Inselberge sehr alte und isolierte Felsformationen bilden. Angesichts der rauen Umweltbedingungen (z.B. fehlender Boden, eingeschränkte Wasserverfügbarkeit, hohe Temperaturen) die hier vorherrschen, unterscheidet sich ihre Vegetation deutlich von der umgebenden Vegetation. Sie zeichnen sich durch das Vorhandensein typischer Pflanzengemeinschaften aus, z.B. austrocknungstoleranten mattenbildenden Monokotylen (DTMFM). Inselberge bilden Diversitätszentren für DTMFM-Arten zu sein und finden sich sowohl in der Neotropis (hauptsächlich Brasilien), so wie in der Paläotropis (Afrika, Madagaskar, Indien). Es wurden 32 DTMFM-Arten aus drei Familien (Cyperaceae: 6 spp.; Poaceae: 7 spp.; Velloziaceae: 19 spp.) von tropischen Inselbergen auf ausgewählte biogeografische, ökologische und molekulare Aspekte hin untersucht. Auf neotropischen Inselbergen sind Velloziaceae-Arten, im Besonderen mit den Gattungen *Barbacenia* und *Vellozia*, dominierende Mattenbildner. Paläotropische Inselberge weisen mitunter eine starke Differenzierung zwischen verschiedenen Regionen Afrikas (West, Ost und Süd), Madagaskars und Indien auf. Am artenreichsten sind dabei die monokotylen Matten in Ostafrika, wo zahlreiche Velloziaceae-Arten aus der einzigen afrikanischen Gattung *Xerophyta* vorkommen. Es wurde deutlich, dass die Velloziaceae die Mehrzahl an austrocknungstoleranten Arten auf Inselbergen darstellen. Die Fähigkeit der DTMFM-Arten auf Inselbergen zu überleben ist mit einigen Anpassungen verbunden, die die austrocknungstoleranten Pflanzen zu einer besonderen Pflanzengruppe machen. Da sich Austrocknungstoleranz mehrfach unabhängig entwickelt hat, unterschieden sich verschiedene Taxa im Hinblick auf ihre unterschiedlichen Anpassungsmechanismen.



Contents lists available at ScienceDirect

Flora

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/flora](http://www.elsevier.com/locate/flora)

## An overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on tropical inselbergs

Stefan Porembski<sup>a,\*</sup>, Juliane Rexroth<sup>a</sup>, Kurt Weising<sup>b</sup>, Luiz Bondi<sup>c</sup>, Renato Mello-Silva<sup>d</sup>, Danilo C. Centeno<sup>e</sup>, Mandar N. Datar<sup>f</sup>, Aparna Watve<sup>g</sup>, Adjima Thiombano<sup>h</sup>, Elycée Tindano<sup>i</sup>, Marina N. Rabarimanarivo<sup>j</sup>, Luiza F.A. de Paula<sup>k</sup>

<sup>a</sup> Institut für Biowissenschaften, Allgemeine und Spezielle Botanik, Universität Rostock, Wismarsche Str. 44/45, Rostock D-18051, Germany

<sup>b</sup> Institut für Biologie, Fachgebiet Botanik, Universität Kassel, Heinrich-Plett-Straße 40, Kassel D-34132, Germany

<sup>c</sup> Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ 20550-900, Brazil

<sup>d</sup> Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Rua do Matão, 277, São Paulo, SP 05508-090, Brazil

<sup>e</sup> Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, SP 09606-045, Brazil

<sup>f</sup> Biodiversity and Paleobiology Group, Agharkar Research Institute, Gopal Ganesh Agarkar Road, Pune 411004, India

<sup>g</sup> Biome Conservation Foundation, 34/6, Gulawani Maharaj Rd., Pune 411004, India

<sup>h</sup> Laboratoire Biologie et Ecologie Végétales, Université Joseph Ki-Zerbo, UFR-SVT, 03 BP 7021 03, Ouagadougou, Burkina Faso

<sup>i</sup> UFR/ST, Université Ouaga II, 12 BP 417 12, Ouagadougou, Burkina Faso

<sup>j</sup> Missouri Botanical Garden, P.O. Box 3391 101, Antananarivo, Madagascar

<sup>k</sup> Departamento de Genética, Universidade Federal de Minas Gerais, Ecologia e Evolução, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil

### ARTICLE INFO

Edited by Hermann Heilmeyer

#### Keywords:

Adaptive traits  
Cyperaceae  
Poaceae  
Poikilohydry  
Resurrection plants  
Rock outcrops  
Velloziaceae

### ABSTRACT

Desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons (DTMFM) are typical constituents of the vegetation of tropical inselbergs. The latter are old granitic / gneissic rock outcrops that rise abruptly above the surrounding landscape. Due to unpredictable droughts, they are centers of diversity for dry adapted species such as vascular resurrection plants (poikilohydric species). Carpet-like mats formed by highly specialized DTMFM occur on open, partly steep slopes where they are firmly glued to the underlying rock. These mats are widespread on both Neotropical (mainly Brazil) and Paleotropical (Africa, Madagascar, India) inselbergs. Within angiosperms, exclusively members of Cyperaceae, Poaceae and Velloziaceae are DTMFM. Here, we compiled 32 DTMFM species on tropical inselbergs. Nevertheless, since ecophysiological studies focused on this particular group of plants are still incipient, we expect that many more species display this strategy on tropical inselbergs. Our overview provides updated insights into selected biogeographical, ecological and molecular aspects of DTMFM.

### 1. Introduction

Granitic and / or gneissic inselbergs are particularly widespread on crystalline continental shields in the tropics. They usually form old and isolated rock outcrops that rise steeply above their surroundings (Porembski and Barthlott, 2000a). Due to harsh environmental conditions (e. g. lack of soil, restricted water availability, high temperatures) their vegetation is clearly demarcated against that of the surrounding matrix. Inselbergs are characterized by the presence of certain typical plant communities (e.g. cryptogamic crusts, ephemeral flush vegetation, monocotyledonous-mats; see Porembski et al. 2000). In many regions, monocotyledonous-mats (from here on referred to as monocot-mats) are

formed by desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons (DTMFM) (de Paula et al., 2021).

In a general concept, desiccation-tolerant vascular plants (i.e., poikilohydric species) are characterized by their ability to survive cycles of dehydration and rehydration without losing viability (Hartung et al., 1998). Species with this adaptation follow one of two main strategies: either they are able to keep their photosynthetic apparatus active under water deficit (i.e. homoiochlorophyllous) or they adjust their photosynthetic apparatus to degeneration when dehydrating and rebuild it when water is available again (i.e. poikilochlorophyllous) (Bewley, 1979; Tuba, 2008; Porembski, 2011).

In the following account we will provide an overview on DTMFM

\* Corresponding author.

E-mail address: [stefan.porembski@uni-rostock.de](mailto:stefan.porembski@uni-rostock.de) (S. Porembski).

<https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151953>

Received 19 March 2021; Received in revised form 22 September 2021; Accepted 16 October 2021

Available online 21 October 2021

0367-2530/© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

from inselbergs along the tropics, especially in South America, Africa (incl. Madagascar) and India, which are hotspots of inselberg plant diversity (Porembski, 2007). Although a number of studies (e.g. Parmentier et al 2006, Porembski et al. 1996, Porembski and Barthlott 2000b) have been published over the last three decades about mat-forming resurrection plants, no general treatment is available for this group of plants.

## 2. Monocot-mats

Inselbergs are dominated by open, sun-exposed rocky slopes, which usually cover most of their surface. Monocot-mats are common and form one of the most characteristic plant communities on tropical inselbergs (Porembski et al., 1998; de Paula et al., 2021) (Figs. 1 and 2). Certain species, for instance *Afrotrilepis pilosa* (Cyperaceae) (Fig. 1A) in the Paleotropics and *Vellozia plicata* (Velloziaceae) (Fig. 2C, D) in the Neotropics, are present on inselbergs along a climatic gradient from rainforests to savannas (Porembski et al., 1996; Couto et al., 2017; de Paula et al., 2016; de Paula et al., 2021). Monocot-mats occur on rocky slopes of different degrees of inclination (from level to 90°, Fig. 1). Dicots do not play a role as mat-formers on inselbergs whereas some lycophytes such as spikemosses (*Selaginella* spp.) do so, and occur along broad geographical ranges in the tropics (Fig. 3).

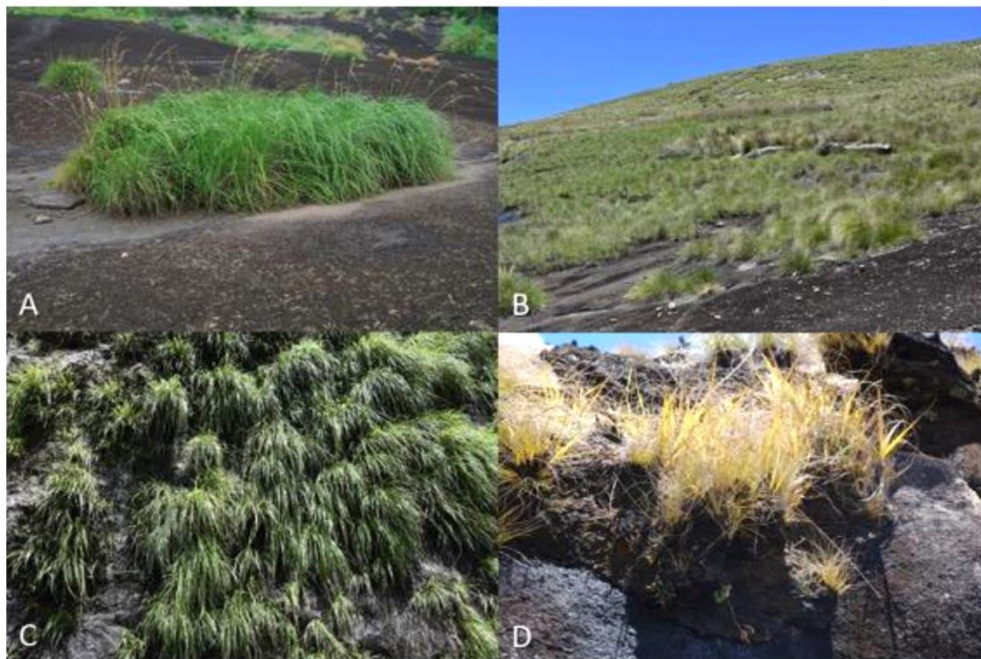
The unique character of monocot-mats is that they are virtually glued to the underlying smooth rock by dense wiry roots. The underlying mechanisms of their ability to firmly fix themselves to the ground over long periods of time (even decades, own personal observations) and to hold a considerable weight are not completely understood (but see Abrahão et al. 2020). Only with considerable force these mats can be lifted like a carpet (Fig. 4A). Mat-forming monocots thus do not have to rely on fissures or crevices for their establishment and persistence.

Frequently, monocot-mats have a circular outline and form patches

of varying sizes (de Paula et al. 2015; de Paula et al., 2021) (Figs. 2, 4A), ranging from few centimeters to several square meters. Occasionally they form continuous stands that are able to cover entire rock slopes (Fig. 1B). Depending on the species, mats can attain a thickness between 2 and 25 cm (de Paula et al., 2015; Ottaviani et al., 2016). During the rainy season, they act like sponges and can absorb large amounts of water and can hold it for a considerable time. Over longer periods when sufficient organic material accumulates, other mostly short-lived, herbaceous species become also established. In addition, succulents like Cactaceae in Brazil (Taylor and Zappi, 2004) and Crassulaceae in Madagascar (Rabarimanarivo et al., 2019) may colonize the mats. Very shallow (i.e. less than 2 cm in depth) fringes of the mats are often colonized by mosses, liverworts, ferns and orchids.

On Neotropical inselbergs different genera of bromeliads (e.g. *Alcantarea*, *Encholirium*, *Orthophytum*, *Pitcairnia*) occur as non-desiccation-tolerant mat-formers. They are particularly rich in southeastern Brazil (i.e. “Sugarloaf Land”; de Paula et al. 2016, 2020) where they co-occur with poikilohydric mat-formers. For instance, de Paula et al. (2021) recorded 110 Brazilian mat-forming species (including angiosperms, ferns and lycophytes) and found Bromeliaceae (36 spp.), Orchidaceae (14 spp.), Cyperaceae (13 spp.), Poaceae (nine spp.), Cactaceae (eight spp.) and Velloziaceae (eight spp.) as the richest families.

Over the last decade it became apparent that most monocot-mats on tropical inselbergs are formed by poikilohydric species that belong to three families: Cyperaceae, Poaceae and Velloziaceae (Porembski and Barthlott, 2000a). Current knowledge indicates that most of these species propagate vegetatively by underground stolons (Biedinger et al., 2000). This allows them to rapidly form dense clonal stands and to occupy large surface areas for long periods.



**Fig. 1.** Overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on paleotropical inselbergs. A: *Afrotrilepis pilosa* (Cyperaceae), Mt de Niangbo in Ivory Coast (West Africa); B: *Coleochloa setifera* (Cyperaceae), in Madagascar; C: *Tripogon lisboae* (Poaceae), Western Ghats in India; D: *Stypeiochloa hitchcockii* (Poaceae), in Madagascar. Photos by S. Porembski.



Fig. 2. Overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on neotropical inselbergs during the dry and wet season, respectively. A and B: *Barbacenia tomentosa* (Velloziaceae), C and D: *Vellozia plicata* (Velloziaceae), E and F: *Trilepis lhotzkiana* (Cyperaceae). Photos by L.F.A. de Paula.

### 3. Geographic distribution of desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons

As far as is known DTMFM are mainly occurring on smooth, open slopes on granitic/gneissic inselbergs. Only rarely have they been recorded on near vertical rocky cliffs, which have a different geology (sandstone or basalt, e.g. in Guinea: Fouta Djallon, India: Western Ghats). They are also very rare on flat ironstone outcrops, which are widespread in the seasonal tropics. However, certain Velloziaceae widely occur on ferricretes in Brazil (Jacobi et al., 2007).

On tropical inselbergs, DTMFM are widespread from sea level to more than 2000 m asl. (e.g. on Mt. Mulanje, Malawi) where nocturnal freezing temperatures are common in the dry season. Certain species are present on inselbergs along a climatic gradient from rainforests to savannas, e.g. *Afrotrilepis pilosa* in Africa (Porembski et al., 1996) and *Vellozia plicata* in Brazil (de Paula et al., 2021). So far desiccation-tolerant plants have rarely been found in truly arid regions; however, detailed information concerning their exact climatic limits with regard to frequency of droughts, length of droughts and amount of precipitation are scarce (but see Jenks and Wood 2008). Until now, there

are no reports about poikilohydric mats on inselbergs in temperate and arctic regions, but they are present on granite inselbergs in the Mediterranean climate region of the Southwest Australian Floristic Region, formed by e.g. *Borya* spp. (Boryaceae) and *Cheilanthes* (Pteridaceae) (Hopper et al., 2021).

#### 3.1. Desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on Neotropical inselbergs

Poikilohydric members of Velloziaceae are dominant mat-formers on Neotropical inselbergs (Porembski, 2021). Of particular importance are species of *Barbacenia* and *Vellozia*, which occasionally occur sympatrically on the same outcrops (Meirelles et al., 1999) (Fig. 2A–D). Whereas numerous species form local endemics (e.g. the recently described *Vellozia inselbergae*; Cabral et al. 2021a), there are certain taxa that have a large distributional area (e.g. *Vellozia plicata*; de Paula et al. 2021).

Most species of Velloziaceae in Brazil occur on quartzitic outcrops in Campo Rupestre (Mello-Silva et al., 2011), the most updated inventory shows 200 species belonging to this family in this rocky vegetation type (Flora do Brasil, 2020). Here too, they can be mat-forming but it seems



Fig. 3. Patches of desiccation-tolerant mat-forming lycophytes on Brazilian inselbergs, comprising dehydrated (gray) and hydrated leaves (green). A: *Selaginella convoluta* (Selaginellaceae), B: *Selaginella sellowii* (Selaginellaceae). Photos by L.F.A. de Paula.

as if not all of them are desiccation-tolerant (see Alcántara et al. 2015). Certain species can also be found on ironstone outcrops (locally known as “Cangas”) in Minas Gerais (Jacobi et al. 2007) and Pará (Mello-Silva, 2018).

Desiccation-tolerant Cyperaceae are represented by several species of *Trilepis*, which possess stems not higher than 20 cm. Most common and widespread is *T. lhotzkiana* (Fig. 2E,F) that frequently forms mixed mats with Velloziaceae. Poikilohydric, mat-forming Poaceae have not yet been found on Neotropical inselbergs (Porembski, 2021).

With regard to the species richness of DTMFM, Brazilian rock outcrops belong to the richest in the world due to the presence of many Velloziaceae (Porembski and Barthlott, 2000a; de Paula et al., 2021). Moreover, numerous poikilohydric pteridophytes and lycophytes (e.g. species of *Anemia*, *Cheilanthes*, *Doryopteris* and *Selaginella*) co-exist in these mat communities (Fig. 3). Besides, many other, non-poikilohydric species such as cacti and bromeliads are particularly prominent.

### 1.2. Desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on Paleotropical inselbergs

Paleotropical inselbergs show a strong differentiation between different parts of Africa (West, East and South), Madagascar and India. Most abundant in terms of species richness are monocot-mats in East Africa (Seine et al., 1998) where numerous species of *Xerophyta* (Velloziaceae) occur (Fig. 5).

In West Africa monocot-mats almost exclusively consist of poikilohydric Cyperaceae. Most common is *Afrotrilepis pilosa* which covers a vast area between Senegal and Gabon where it is present on nearly all inselbergs both in rainforest and savanna regions. Typically the species

forms mono-dominant mats (Porembski et al., 1996) that are not shared with other desiccation-tolerant species (except *Microdracoides squamosa* in Cameroon). Striking is the morphological plasticity of *A. pilosa* with regard to, for example, leaf width and growth form (i.e. stems prostrate vs upright) (Porembski et al., 1996). A second species of *Afrotrilepis* (*A. jaegeri*) is endemic to the Loma Mountains (Sierra Leone). No details are known about the ecology of this species. Morphologically it strongly resembles members of the Neotropical genus *Trilepis*.

The Cyperaceae *Microdracoides squamosa* (Fig. 4B) possesses a disjunct distribution between Guinea / Sierra Leone and Nigeria / Cameroon. The species forms stems that reach a height of up to 1.8 m and forms mats on inselbergs and ferricretes. Very localized is the occurrence of *Coleochloa abyssinica* in West Africa where it only occurs in northern Nigeria (Jos Plateau). Remarkably, the only species of Velloziaceae in West Africa (*Xerophyta schnitzleinia*) occurs here too. It forms an isolated outlier of the family and is at least 2300 km separated from the next member of the same family.

Velloziaceae mainly occur in Africa’s Zambebian savanna region (eastern and southern Africa, incl. Angola). The only genus here is *Xerophyta* which includes numerous species whose delimitation is difficult. Monocot-mats in the Zambebian region are rich in co-existing poikilohydric (incl. *Coleochloa*, *Myrothamnus*, *Selaginella*, *Xerophyta*) and succulent (e.g. *Aloe*, *Euphorbia*) taxa and their diversity is similar to that in Madagascar and southeastern Brazil.

Malagasy inselbergs are mainly located on the central highland where they are characterized by high numbers of species (Rabarinanarivo et al., 2019). Here, desiccation-tolerant Velloziaceae (*Xerophyta* spp.) (Fig. 5) and Cyperaceae (only *Coleochloa setifera*) (Fig. 1B) occur as mat-formers. Mostly they are found in multi-species mats. The



**Fig. 4.** General morphological aspects of desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons. A: Patches of *Tripogon* spec. (Poaceae), in Bengaluru; B: Stems of more than 1 m height in *Microdracoides squamosa* (Cyperaceae), which bear their leaves apically, in West Africa; C: Leaf color changes in *Vellozia plicata* (Velloziaceae) in the dehydrated stage and D: in the hydrated stage, in Brazil. Photos by S. Porembski.

genus *Xerophyta* is present with at least 25 species and with several still undescribed taxa (P. Phillipson, pers. comm.). All Malagasy species of *Xerophyta* are endemic and no species is shared with continental Africa. Certain species (e.g. *X. dasytiroides*; Rexroth et al. 2019) are widespread, but a number of local endemics occur. *Coleochloa setifera* is present on nearly all Malagasy inselbergs (showing no clear signs of morphological variability) and is shared with inselbergs in East Africa. A surprising new record of a mat-forming Poaceae has been made only recently. Hitherto the grass genus *Styppetochloa* was known to occur on Malagasy inselbergs with *S. hitchcockii* (possibly more species of this genus occur on Malagasy inselbergs; P. Phillipson, pers. comm.). Up to recently it was overlooked that this species is in fact one of the most common mat-formers on Malagasy inselbergs (Fig. 1D) and that it is a resurrection plant. Similarly like in Brazil and East Africa, the Malagasy mat communities are rich in poikilohydric ferns (e.g. *Pellaea*), lycophytes (*Selaginella*) and succulents (e.g. *Aloe*, *Euphorbia*, *Pachypodium*).

Inselbergs on granitic islands of the Seychelles are not colonized by DTMFM. There are, however, mats formed by *Costularia hornei* (Cyperaceae), which has stems more than 1 m in height (Fleischmann et al., 1996).

In Asia (especially India), DTMFM exclusively belong to poikilohydrous Poaceae. The most common genus showing this trait is *Tripogon*, which is observed on inselbergs and cliffs of peninsular India (Western Ghats, Eastern Ghats and Deccan plateau). Species of *Tripogon* are seen on the majority of rock outcrops including inselbergs in semiarid as well as moist / wet areas. Typically they form mono-dominant mats, which are not shared with other species of the region. *Tripogon trifidus*, *T. bromoides* and *T. jacquemontii* are common on south Indian inselbergs while *T. lisboae*, *T. trifidus*, *T. bromoides*, *T. filiformis* and *T. capillatus* are common on vertical cliffs in the Western Ghats (Datar and Watve, 2018). There has been no detailed study of mat-formations made by these species yet. However, personal observations indicate that *T. lisboae*, *T. trifidus* and *T. bromoides* have mat-forming ability. All are reported as desiccation-tolerant by Gaff and Bole (1986). We strongly suspect that all mat-forming species of *Tripogon* on Indian inselbergs are desiccation-tolerant. As in the other regions, poikilohydrous lycophyte and fern species of *Selaginella*, *Actiniopteris*, *Cheilanthes* and *Hemionitis* are associated with these mats. Monocot-mats act as refuges for other non-desiccation tolerant tuber bearing species such as *Ceropegia santapauii*, *Ceropegia huberi*, *Habenaria brachyphylla* and *Chlorophytum* spp.



Fig. 5. Desiccation-tolerant Velloziaceae (*Xerophyta dasyliroides*) from Malagasy inselbergs. A: Leaves of *X. dasyliroides* fully green during the wet season, B: Patches of *X. dasyliroides* in the hydrated and C: dehydrated stages. Photos by L.F.A. de Paula.

*Tripogon lisboae* (Fig. 1C) is perhaps the most abundant DTMFM seen on steep basaltic cliffs of the Western Ghats mountain range, which is characterized by a highly seasonal monsoon climate, and which is probably the largest mountain ecosystem worldwide which is dominated by poikilohydric species.

4. Systematic overview

It was estimated that in total c. 1500 species of vascular plants are desiccation-tolerant, and inselbergs form a center of diversity for such plant species (Gaff and Oliver, 2013; Porembski and Barthlott, 2000b; Porembski, 2011). Until now, we compiled 32 DTMFM on tropical inselbergs belonging to three families (Cyperaceae, Poaceae, and Velloziaceae) (Table 1). This list is a result of our own field observations, i.e., we have already seen the species in their hydrated and dehydrated stages. However, we expect that up to 100 DTMFM may occur on tropical inselbergs, which could be checked with the help of more ecophysiological studies. In our list, the majority of DTMFM species belongs to Velloziaceae (19 spp.) whereas Poaceae (7 spp.) and Cyperaceae (6 spp.) are less speciose.

4.1. Cyperaceae

All poikilohydric mat-forming Cyperaceae belong to the tribe Trilepideae (subfamily Cyperoideae). It contains the genera *Afrotrilepis* (two species in West Africa), *Coleochloa* (7 species mainly East Africa and Madagascar), *Microdracoides* (only *M. squamosa* in West Africa) and *Trilepis* (five species in South America). Nearly all species exclusively grow on rock outcrops and some are epiphytes (e.g. *C. domensis* endemic to Cameroon; Muasya et al. 2010).

4.2. Poaceae

DTMFM are found within *Styppeiochloa* (Arundinoideae; three species in Africa, Madagascar) and within *Tripogon* (Chloridoideae;

Table 1  
List of desiccation-tolerant mat-forming monocotyledonous on tropical inselbergs.

Species	Family	Distribution
<i>Afrotrilepis jaegeri</i>	Cyperaceae	West Africa
<i>Afrotrilepis pilosa</i>	Cyperaceae	West Africa
<i>Barbacenia brevifolia</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia pabstiana</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia purpurea</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia rogeri</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia spectabilis</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia squamata</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Barbacenia tomentosa</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Coleochloa setifera</i>	Cyperaceae	East Africa, Madagascar
<i>Microdracoides squamosa</i>	Cyperaceae	West Africa
<i>Styppeiochloa hitchcockii</i>	Poaceae	Madagascar
<i>Trilepis lhotzkiana</i>	Cyperaceae	mostly Brazil
<i>Trilepis microstachya</i>	Cyperaceae	Brazil
<i>Tripogon bromoides</i>	Poaceae	India
<i>Tripogon capillatus</i>	Poaceae	India
<i>Tripogon filiformis</i>	Poaceae	India
<i>Tripogon jacquemontii</i>	Poaceae	India
<i>Tripogon lisboae</i>	Poaceae	India
<i>Tripogon trifidus</i>	Poaceae	India
<i>Vellozia albiflora</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia bahiana</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia candida</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia inselbergae</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia plicata</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia pulchra</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Vellozia variegata</i>	Velloziaceae	Brazil
<i>Xerophyta dasyliroides</i>	Velloziaceae	Madagascar
<i>Xerophyta pectinata</i>	Velloziaceae	Madagascar
<i>Xerophyta pinifolia</i>	Velloziaceae	Madagascar
<i>Xerophyta sessiliflora</i>	Velloziaceae	Madagascar
<i>Xerophyta splendens</i>	Velloziaceae	Malawi

probably more than a dozen species from India). The Malagasy *S. hitchcockii* is one of the most important mat-formers on inselbergs and is fairly widespread on the central highland. No information is available on the two African species of *Styppeiochloa*. On inselbergs in certain parts of southern India (e.g. Karnataka, Odisha) three desiccation-tolerant species of *Tripogon* (*T. lisboae*, *T. trifidus* and *T. bromoides*) have been observed to form mats. Apart from mat-formers there are other desiccation-tolerant *Tripogon* species such as *T. capillatus*, *T. filiformis*, *T. polyanthus* that grow on vertical cliffs as well as epiphytically.

Desiccation-tolerant Poaceae which are not mat-forming are represented e.g. within the genera *Oropetium*, *Sporobolus*, *Micraira*, *Eragrostis* and *Microchloa*. Species of these genera sometimes can be seen as colonizers within mat communities or occasionally they grow on small pockets of soil on different types of rock outcrops (e.g. ferricretes).

#### 4.3. Velloziaceae

Desiccation-tolerant species of Velloziaceae have been listed by several authors (e.g. Alcantara et al. 2015, Gaff 1987, Marleen et al. 2010, Sugiyama et al. 2014, Tuba et al. 1994, VanBuren 2017). Altogether, they add up to nearly 50 species, most of them from campos rupestres (Silveira et al., 2016). They belong to four of the five genera nowadays recognized in Velloziaceae, viz., *Barbacenia* (11 species), *Barbaceniopsis* (three species), *Vellozia* (19 species), and *Xerophyta* (16 species). *Vellozia variabilis* (synonym *V. verruculosa*) proved to be non-poikilohydric (Alcantara et al., 2015). The distribution of the desiccation-tolerant species in a recent and comprehensive phylogeny (Mello-Silva et al., unpubl. data) shows that almost all *Xerophyta* and three of the four *Barbaceniopsis* species are poikilohydric. Distribution patterns in clades within *Barbacenia* and *Vellozia* are less evident and do not show any obvious phylogenetic significance. The inclusion of 12 potentially poikilohydric species based on field observations, also listed, does not change the situation within *Barbacenia* and *Vellozia*, but suggests the ancestral Velloziaceae to be poikilohydric. Investigations of the physiology of key-species in the phylogenies, such as *Acanthochlamys bracteata*, *Vellozia andina*, a species of the *Vellozia hemisphaerica* group (Mello-Silva and Sasaki, 2016), and the *Barbacenia blanchetii*, *B. purpurea* and *B. riparia* clades would shed light on the role of desiccation-tolerance in the evolution of Velloziaceae.

#### 5. Genetic and evolutionary aspects of desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons

Inselberg DTMFM grow in geographically isolated populations where dozens of kilometres can separate them. Even on individual inselbergs, mats occur separated from each other where they grow like "islands on islands" (Porembski et al., 2000). There is clear evidence that populations of species with different life-forms, geographic ranges and seed dispersal modes have different levels of variation. These variations may or may not be adaptively significant. However, they can often be 'linked' to adaptive physiological traits, e.g. concerned with water economy, gas exchange and photosynthesis (Givnish et al., 1997). Furthermore, desiccation-tolerance as an adaptation is not subject to a single evolutionary force. Instead, it is an interplay of several evolutionary forces reflected in complex tissue structures and occurring across divergent genetic lineages and diverse genotypes (Marks et al., 2021). The effects have been associated with faster rates of climatic niche evolution (Angert et al., 2020). Therefore, each genotype could be able to produce different phenotypes in different environments. The key processes to examine population variation are natural selection, chance events and gene flow.

Previous studies on the genetic population structure of inselberg-specific species have shown that rates of genetic exchange between isolated populations are low (e.g. Barbará et al. 2007a for the bromeliad *Alcantarea imperialis*; Hmeljevski et al. 2015 for the bromeliad *Encholirium horridum*). Furthermore, studies on South American Velloziaceae, e.

g. *Vellozia epidendroides* and *V. leptopetala* (Franceschinelli et al., 2006), *V. gigantea* (Lousada et al., 2011) and *V. compacta* (Lousada et al., 2013), have shown that there is also a high genetic divergence between populations, primarily associated with the disjunct distribution.

First studies of the population structure of the desiccation-tolerant Malagasy Velloziaceae *Xerophyta dasyliroides* from inselbergs confirm these results (Rexroth et al., 2019; Rexroth et al., in prep.). Based on newly developed microsatellite markers, these authors showed that geographically separated inselberg populations of *X. dasyliroides* displayed reduced gene flow, significant genetic drift and high levels of population divergence, supporting the idea of inselbergs as centres of species diversity and endemism. In addition, a cross-amplification within the genus *Vellozia* was carried out in the study of de Paula et al. (2017) and showed that the rates of marker transferability from *Vellozia* species of campos rupestres to *V. plicata*, a widespread species on inselbergs, were lower than those reported for cross-amplification within other monocot families (Barbará et al., 2007b). Firstly, this could be related to the fact that *V. plicata* forms the sister clade of all other *Vellozia* species in the phylogeny of the genus (Mello-Silva et al., 2011) and thus was phylogenetically distant from the species considered in the study from de Paula et al. (2017). Secondly, the ancient origin of Velloziaceae might have also influenced different levels of sequence divergence within the family, making the cross-amplification within the genus *Vellozia* more difficult.

#### 6. Morphology, anatomy and ecophysiology of desiccation-tolerant monocots

In the following account on the morphology, anatomy and ecophysiology of DTMFM, only a brief outline is provided. For more details the reader should refer to Porembski (2006). One remarkable feature is the parallel evolution of the tree-like habit within certain Cyperaceae and Velloziaceae. In the case of Cyperaceae, *Afrotrilepis pilosa* and *Microdracoides squamosa* form stems more than 1 m high that bear their leaves apically (Fig. 4B). The stems mainly consist of adventitious roots which possess a *velamen radicum* (Porembski and Barthlott, 1995) that could help with rapid water uptake during rain events. The French botanist Chevalier (1933) proposed the hypothesis that individuals of these species grow like epiphytes on themselves. According to this author only the apical portions of the stems contain living tissues whereas the majority of the stems mainly consists of dead adventitious roots and leaf bases. However, whether this assumption generally holds true has still to be tested.

Usually, the stems are only sparingly branched and attain a height of between a few centimeters up to more than 5 m (e.g. *Xerophyta splendens* on Mt. Mulanje, Malawi). In the latter case the trunk diameter can reach more than 20 cm. It has been estimated that tall specimens of *Vellozia subscabra* (as *V. kolbekii*) attain an age of more than 500 years (Alves, 1994).

Frequently, DTMFM show a large spectrum of morphological variation, which greatly complicates taxonomic treatment (Mello-Silva, 2004). These polymorphic species are also called ochlopecies, whose variation is partly correlated with ecology and geography (Cronk, 1998). These variations can also be observed in populations of non-desiccation-tolerant inselberg monocots, e.g. *Anthurium* (Araceae), *Alcantarea*, *Encholirium* and *Pitcairnia* (Bromeliaceae). However, they also occur in desiccation-tolerant taxa such as *Trilepis* (Cyperaceae), *Vellozia* (Velloziaceae; de Paula et al., 2017) and *Xerophyta* (Velloziaceae; Rexroth et al., in prep.). However, in some other DTMFM taxa, morphology appears to be conserved across species, e.g. within *Barbacenia* (Velloziaceae). This could be attributed to possible ecological adaptations to certain environmental factors on inselbergs (Cabral et al., 2021b).

Recently it has been shown that specific leaf anatomical traits are structuring plant communities in different inselberg microhabitats: species growing in monocot-mats displayed more traits related to water

retention and drought resistance while species occurring in the more favorable conditions of shallow depressions showed more diversified resource strategies (de Paula et al., 2019). In this study, drought resistance traits included desiccation-tolerant characteristics of Velloziaceae, such as the presence of mucilage, sclerenchyma and glandular trichomes. These results reinforce the idea of the occurrence of ecologically different niches in inselberg microhabitats (Porembski et al., 2000) and also suggest the existence of a phylogenetic effect on certain traits (e.g. desiccation-tolerance in Velloziaceae).

Both own fieldwork and laboratory experiments have demonstrated that mat-forming Cyperaceae (*Afrotrilepis pilosa*, *Coleochloa setifera*, *Microdracoides squamosa*, *Trilepis lhotzkiana*), Poaceae (e.g. *Styppelochloa hitchcockii*, *Tripogon* spp.) and Velloziaceae (e.g. species of *Barbacenia*, *Vellozia* and *Xerophyta*) are poikilohydric and possibly poikilochlorophyllic (Bondi et al., in prep.). Throughout the tropics, we visited inselbergs several times during both rainy and dry seasons and in transitional periods, and we realized that leaf color changes could serve as a proxy for ecophysiological processes during dehydration / hydration of DTMFM (see also Porembski 2021). On the peak of the dry season, individuals of all DTMFM possess greyish or brownish (rarely tinged violet) leaves (Figs. 2A, C, E; 3). At their natural growth sites they persist in this condition for several months (e.g. 7 months, *Afrotrilepis pilosa* in Burkina Faso, West Africa; 6 months, *Xerophyta dasyliroides*, Madagascar; 8 months *Tripogon* spp., Western Ghats, India). After rain, all species react similarly and leaf color changes within 5–24 h and leaves turn yellowish (Figs. 2A, C, E; 4C; 5C). Subsequently (after max. 10 h more), the leaves are green (Figs. 2B, D, F; 3; 4D; 5A,B). During desiccation, the leaves lose their green color and turn yellowish first and then reach the grey or brownish state. Concerning chlorophyll levels during dehydration / hydration information is available for the Brazilian endemic *Barbacenia purpurea* (Suguiyama et al., 2014; do Nascimento et al., 2020).

## 7. Omics and mechanisms of desiccation-tolerance

The ability to survive in hostile environments, such as inselbergs, is associated to different mechanisms of protection, which make the desiccation-tolerant plants a special group. Desiccation-tolerance evolved independently at least eight times (Oliver et al., 2000) and the mechanisms behind might be particular for different taxa. This is of great importance for inselberg specialists, which face extremely hostile conditions. Lately, an increasing number of transcriptomic, proteomic, and metabolomic studies have been performed in desiccation-tolerant plants (e.g. Challabathula and Bartels 2013, Farrant et al. 2015, Chalabathula et al. 2016, Oliver et al. 2020), and they explore the molecular basis of desiccation-tolerance.

An omics approach was recently used to understand the desiccation-tolerance in *Craterostigma plantagineum*. The authors evaluated an integrative analysis of transcriptome, proteome and metabolome, focusing mainly on primary metabolism. The authors indicate a high flexibility of energy metabolism, considering both photosynthesis and cell respiration (Xu et al., 2021), which is of great importance to diminish the chances of oxidative damage.

Transcriptional analysis of *C. plantagineum* showed also that repeated dehydration / rehydration events might induce a memory response. Late embryogenesis abundant (LEA) and early dehydration responsive (EDR) genes are upregulated after cycles of dehydration / rehydration. Other water deficit response, such as accumulation of sucrose and proline, was identified after repeated dehydration / rehydration cycles (Liu et al., 2019). Similarly, desiccation-tolerant microalgae presented memory response when the transcripts and metabolites were analyzed, especially considering enzymatic antioxidant responses and the presence of osmoregulators, such as polyols (Hell et al., 2019; Hell et al., 2021).

Recently, the complete genome sequencing of *Selaginella tamariscina*, a phylogenetically old desiccation-tolerant fern-related lycophyte species which is widespread on rocks e.g. in China, showed the presence of

desiccation-tolerance related genes. Among them are ROS scavenger genes and abscisic acid (ABA) synthesis-related genes, both classes overexpressed during desiccation, besides the LEA genes. For example, the sensitive relative *Selaginella moellendorffii* lacks dehydrin genes, which are part of the LEA family, and their higher expression levels in *S. tamariscina* highlights the importance of this gene family for desiccation-tolerant species. Even more interesting is the finding that the genome was two times larger than that of the desiccation-sensitive *S. moellendorffii*. This difference was attributed to the higher number of miRNAs and repetitive DNA in the desiccation-tolerant species, markedly the pentatricopeptide repeat (PPR) gene family, involved in plant growth and development. It suggests a potential role of these DNA sequences and the pattern of gene expression under extreme conditions (Xu et al., 2018), like severe water loss. The desiccation-tolerant inselberg species *Myrothamnus flabellifolius*, for instance, shows a high amount of differentially expressed genes during dehydration / rehydration processes (Ma et al., 2015). Most of them are genes for transcription factors, which implies a downstream regulation of desiccation-tolerance-related genes. Despite the expected cascade of events concerning gene expression regulation during the dehydration process, not only the changes in expression pattern might result in the defense against severe water loss, but also post-transcriptional changes must be considered, since transcriptome and proteome might not have high correlations (Xu et al., 2021). Thus, the mechanisms must include the complete synthesis of proteins whose functions vary greatly (Farrant et al., 2015). Dehydration of the rock outcrop-occurring species *Xerophyta viscosa*, for example, induces the synthesis of structural proteins in its tissues, such as heat shock proteins and histones, and of functional proteins that can be associated to the production of osmoregulators or protective molecules (Abdalla and Rafudeen, 2012). Similarly, in the desiccation-tolerant *Selaginella tamariscina*, protein levels related to photosynthetic metabolism were mainly reduced, and the synthesis of heat shock proteins and proteins involved in osmoregulator accumulation was stimulated by desiccation (Wang et al., 2010).

Desiccation-tolerance related genes can be found in different species; however, their expression might be related to the environment where the organisms are found. The expression patterns of these genes vary and can be sometimes induced or be constitutively expressed. In addition to Crick's central dogma of molecular biology (Crick, 1970), the protective metabolites, which are the closest step of a phenotype presented by an organism, can be synthesized through the activity of a set of proteins when water deprivation occurs. However, the period in which an individual can reach the desiccation state seems to affect the set of metabolites; long-term desiccation would then be necessary to achieve the complete metabolome adjustment (Bentley and Farrant, 2020). Alternatively, protective metabolites might be constitutively produced, without a specific trigger, as a response to the different environments inhabited by desiccation-tolerant species (Centeno et al., 2016).

For certain inselberg specific DTMFM (e.g. *Barbacenia purpurea*) it could be shown that seasonality affects the levels of protective metabolites even in well-watered plants (Suguiyama et al., 2014). This leads to the question whether induced or constitutive mechanisms or a balance of different strategies dominate. It seems as if besides availability of water also temperature and luminosity seem to be important factors that influence survival strategies of desiccation-tolerant vascular plants on inselbergs.

## 8. Conservation

Inselbergs nowadays are influenced by various human impacts (Porembski et al., 2016), which also influence mat communities. The latter are particularly sensitive to fire, grazing, invasive weeds and vandalism. In particular, where access to inselbergs is easy one can frequently observe that whole mats have been upturned or that the stems of the mat-formers were cut. The restoration of completely destroyed mats seems to be not possible.

It has to be emphasized that invasive species are one of the most serious threats to inselberg plant communities and especially mats (Porembski et al., 1998; Porembski, 2000; de Paula et al., 2015; Porembski et al., 2016). The critical point is that, when disturbance regimes are altered, rock outcrops become particularly vulnerable to invasion by non-native exotic species (Hopper, 2009). Inselberg plant communities, as well as other outcrop vegetation types (e.g. Jacobi et al. 2007), have low abilities to persist and recover, especially because many of their species have low growth rates and low dispersability (Hopper, 2009). Thus, the opportunities for the establishment of invasive organisms increase, and restoration becomes significantly more challenging for this type of vegetation.

## 9. Conclusions and perspectives

Based on extensive fieldwork over the last 25 years it can be stated that DTMFM are widespread on inselbergs throughout the tropics. However, the knowledge about their detailed floristic composition varies among regions and for certain parts of the tropics (e.g. eastern Africa, southeast Asia) information is very scarce. At any rate it became evident that there are considerable differences in species numbers with inselbergs in southeastern Brazil and central Madagascar forming centers of diversity. In contrast, inselbergs in West Africa are rather poor in DTMFM. The reasons for this divergence are not fully clear but the absence of Velloziaceae may be a central part of the explanation.

Concerning the ecology of this highly specialized group of plants many questions are still not answered. For example, it is not known whether individual species are distinguished with regard to their extent of desiccation-tolerance, speed of recovery after desiccation or concerning their ability to propagate vegetatively. All mat-forming species seem to be glued to the underlying rock where they persist over long periods. Future studies are planned in order to understand e.g. the root fixation mechanism under the harsh environmental conditions which prevail on inselbergs.

It is clear that Velloziaceae comprise the largest number of poikilohydric species on inselbergs in South America, Africa and Madagascar. However, it is still debatable whether Velloziaceae that grow on other types of rock outcrops (e.g. in the Brazilian campo rupestre, *sensu* Silveira et al. 2016) are desiccation-tolerant too (see Alcantara et al. 2015 and Porembski 2021). Moreover, it is remarkable that desiccation-tolerant mat-forming Velloziaceae are absent from Indian rock outcrops. In Asia the family has a disjunct distribution between southwestern China (*Acanthochlamys bracteata*) and the Arabian Peninsula (*Xerophyta arabica*). The reasons for the absence of Velloziaceae from rock outcrops in India are not clear at all.

A better understanding of how desiccation-tolerant species cope with the harsh environmental conditions on inselbergs can provide clues for many topics in biotechnological research (e.g. identifying genes related to desiccation tolerance; Vicré et al. 2004). Also, studying the evolutionary origins of this strategy can provide useful information about which plants have the highest likelihood of successful adaptation to dry conditions (Porembski and Barthlott, 2000; Scott, 2000).

## Declaration of Competing Interest

None.

## Acknowledgments

This manuscript presents the outcome of a survey-based approach initiated at the joint workshops "Desiccation-tolerant Velloziaceae from tropical inselbergs: a model family for better understanding species evolution on terrestrial islands", which were supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), held in Brazil (October 2018) and in Germany (April 2019). We are publishing this manuscript in honor of

our colleague Renato Mello-Silva, who was a true naturalist of the XXI century, a great botanist and a specialist in the Velloziaceae family.

The authors thank various financing agencies (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Deutscher Akademischer Austauschdienst – DAAD, DFG, FAPESP 2017/50075–8), research institutions (ARI, Pune; Rio de Janeiro Botanical Garden) and colleagues (L.O. Azevedo, S. Alcantara, R.C. Forzza, S.D. Hopper, J. Köhler, L.P. Mauad, A.V. Neri, P.B. Phillipson) for their support. LFAP acknowledges grants from DAAD/CNPq (290155/2014–2) and CAPES (88887.569558/2020–00).

## References

- Abdalla, K.O., Rafudeen, M.S., 2012. Analysis of the nuclear proteome of the resurrection plant *Xerophyta viscosa* in response to dehydration stress using iTRAQ with 2DLC and tandem mass spectrometry. *J. Proteom.* 75, 2361–2374.
- Abrahão, A., de Brito Costa, P., Teodoro, G.S., Lamberts, H., Nascimento, D.L., Adrián López de Andrade, S., Ryan, M.H., Oliveira, R.S., 2020. Vellozioid roots allow for habitat specialization among rock and soil dwelling Velloziaceae in campos rupestres. *Funct. Ecol.* 34, 442–457.
- Alcantara, S., Mello-Silva, R., Teodoro, G.S., Drequecel, K., Ackerly, D.D., Oliveira, R. S., 2015. Carbon assimilation and habitat segregation in resurrection plants: a comparison between desiccation- and non-desiccation-tolerant species of Neotropical Velloziaceae (Pandanales). *Funct. Ecol.* 29, 1499–1512.
- Alves, R.J.V., 1994. Morphological age determination and longevity in some *Vellozia* populations in Brazil. *Folia Geobot. Phytotax.* 29, 55–59.
- Angert, A.L., Bontrager, M.G., Agren, J., 2020. What do we really know about adaptation at range edges? *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 51, 341–361.
- Barbára, T., Martinelli, G., Fay, M.F., Mayo, S.J., Lexer, C., 2007a. Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical high altitude 'inselbergs', *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). *Mol. Ecol.* 16, 1981–1992.
- Barbára, T., Palma-Silva, C., Paggi, G.M., Bered, F., Fay, M.F., Lexer, C., 2007b. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. *Mol. Ecol.* 16, 3759–3767.
- Bentley, J., Farrant, J.M., 2020. Field and acclimated metabolomes of a resurrection plant suggest strong environmental regulation in the extreme end of the species' range. *S. Afr. J. Bot.* 135, 127–136.
- Bewley, J.D., 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30, 195–238.
- Biedinger, N., Porembski, S., Barthlott, W., Porembski, S., Barthlott, W., 2000. Vascular plants on inselbergs: vegetative and reproductive strategies. *Inselbergs – Biotic Diversity of Isolated Rock Outcrops in Tropical and Temperate Regions*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 117–142.
- Cabral, A., Magri, R.A., Lopes, J.D.C., 2021a. *Vellozia inselbergae* (Velloziaceae), a new species from the Brazilian Atlantic forest inselbergs. *Phytotaxa* 497, 138–146.
- Cabral, A., Luebert, F., Mello-Silva, R., 2021b. Evidence for middle Miocene origin and morphological evolutionary stasis in a *Barbacenia* inselberg clade (Velloziaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 161, 107163.
- Centeno, D.C., Hell, A.F., Braga, M.R., del Campo, E.M., Casano, L.M., 2016. Contrasting strategies used by lichen microalgae to cope with desiccation-rehydration stress revealed by metabolite profiling and cell wall analysis: desiccation tolerance mechanisms in lichen microalgae. *Environ. Microbiol.* 18, 1546–1560.
- Challabathula, D., Bartels, D., 2013. Desiccation tolerance in resurrection plants: new insights from transcriptome, proteome and metabolome analysis. *Front. Plant Sci.* 4, 482.
- Challabathula, D., Puthur, J.T., Bartels, D., 2016. Surviving metabolic arrest: photosynthesis during desiccation and rehydration in resurrection plants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1365, 89–99.
- Chevalier, A., 1933. Deux cyperacées arbustiformes remarquables de l'ouest africain. *Terre Vie* 3, 131–141.
- Couto, D.R., Francisco, T.M., Manhães, V.C., Dias, H.M., Pereira, M.C., 2017. Floristic composition of a neotropical inselberg from Espírito Santo state, Brazil: an important area for conservation. *Check List* 13, 2043.
- Crick, F., 1970. Central dogma of molecular biology. *Nature* 227, 561–563.
- Cronk, Q.C.B., Huxley, C.R., Lock, J.M., Cutler, D.F., 1998. The ochlospecies concept. *Chorology, Taxonomy and Ecology of the African and Madagascan Floras*. Royal Botanic Gardens., Kew, pp. 155–170.
- Datar, M.N., Watve, A.V., 2018. Vascular plant assemblage of cliffs in northern Western Ghats, India. *J. Threat. Taxa* 10, 11271–11284.
- de Paula, L.F.A., Negreiros, D., Azevedo, L.O., Fernandes, R.L., Stehmann, J.R., Silveira, F.A.O., 2015. Functional ecology as a missing link for conservation of a resource-limited flora in the Atlantic forest. *Biodiv. Conserv.* 24, 2239–2253.
- de Paula, L.F.A., Forzza, R.C., Neri, A.V., Bueno, M.L., Porembski, S., 2016. Sugar loaf land in South-Eastern Brazil: a centre of diversity for mat-forming bromeliads on inselbergs. *Bot. J. Linn. Soc.* 181, 459–476.
- de Paula, L.F.A., Leal, B.S., Rexroth, J., Porembski, S., Palma-Silva, C., 2017. Transferability of microsatellite loci to *Vellozia plicata* (Velloziaceae), a widespread species on Brazilian inselbergs. *Braz. J. Bot.* 40, 1071–1075.

- de Paula, L.F.A., Kolb, R.M., Porembski, S., Silveira, F.A.O., Rossatto, D.R., 2019. Rocks and leaves: can anatomical leaf traits reflect environmental heterogeneity in inselberg vegetation? *Flora* 250, 91–98.
- de Paula, L.F.A., Azevedo, L.O., Mauad, L.P., Cardoso, L.J.T., Braga, J.M.A., Kollmann, L.J.C., Fraga, C.N., Menini Leto, L., Labiak, P.H., Mello-Silva, R., Porembski, S., Forzza, R.C., 2020. Sugar loaf land in South Eastern Brazil: a tropical hotspot of lowland inselberg plant diversity. *Biodivers Data J* 8, e53135.
- de Paula, L.F.A., Forzza, R.C., Azevedo, L.O., Bueno, M.L., Solar, R.R.C., Vanschoenwinkel, B., Porembski, S., 2021. Climatic control of mat vegetation communities on inselberg archipelagos in south-eastern Brazil. *Biol. J. Linn. Soc.* 133, 604–623.
- do Nascimento, A., Suguiyama, V.F., Sanches, R.F.E., Braga, M.R., da Silva, E.A., Silva, J.P.N., Centeno, D.C., 2020. *Barbacenia graminifolia*, a resurrection plant with high capacity of water retention. *Flora* 267, 151604.
- Farrant, J.M., Cooper, K., Hilgart, A., Abdalla, K.O., Bentley, J., Thomson, J.A., Dace, H.J.W., Peton, N., Mundry, S.G., Rafudeen, M.S., 2015. A molecular physiological review of vegetative desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* (Baker). *Planta* 242, 407–426.
- Fleischmann, K., Porembski, S., Biedinger, N., Barthlott, W., 1996. Inselbergs in the sea: vegetation of granite outcrops on the islands of Mahé, Praslin and Silhouette. Seychelles. *Bull. Geobot. Inst. ETH* 62, 61–74.
- Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <http://floradobr.asil.br/jbrj.gov.br/>. Access on 01 July 2021.
- Franceschinelli, E.V., Jacobi, C.M., Gonçalves Drummond, M., Silveira Resende, M.F., 2006. The genetic diversity of two Brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different patterns of spatial distribution and pollination biology. *Ann. Bot.* 97, 585–592.
- Gaff, D.F., 1987. Desiccation tolerant plants in South America. *Oecologia* 74, 133–136.
- Gaff, D.F., Bole, P.V., 1986. Resurrection grasses in India. *Oecologia* 71, 159–160.
- Gaff, D.F., Oliver, M., 2013. The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: a rare yet common phenomenon. *Funct. Plant Biol.* 40, 315–328.
- Givnish, T.J., Sysma, K.J., Smith, J.F., Hahn, W.J., Benzing, D.H., Burkhardt, E.M., Givnish, T.J., Sysma, K.J., 1997. Molecular evolution and adaptive radiation in *Brocchinia* (Bromeliaceae: pitcairnioideae) atop tepuis of the Guayana shield. *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, New York, pp. 259–311.
- Hartung, W., Schiller, P., Dietz, K.J., Behnke, H.D., Esser, K., Kadereit, J.W., Lüttge, U., 1998. Physiology of Poikilohydric plants. In: *Progress in Botany*, 59. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 299–327.
- Hell, A.F., Kretzschmar, F.S., Simões, K., Heyer, A.G., Barbedo, C.J., Braga, M.R., Centeno, D.C., 2019. Metabolic changes on the acquisition of desiccation tolerance in seeds of the Brazilian native tree *Erythrina speciosa*. *Front. Plant Sci.* 10, 1356.
- Hell, A.F., Gasulla, F., Gonzalez-Hourcade, M., Pellegrino, M.T., Seabra, A.B., del Campo, E.M., Casano, L.M., Centeno, D.C., 2021. Polyols-related gene expression is affected by cyclic desiccation in lichen microalgae. *Environ. Exp. Bot.* 185, 104397.
- Hemeljevski, K.V., Reis, M.S., Forzza, R.C., 2015. Patterns of gene flow in *Encholirium horridum* L. B. Sm., a monocarpic species of Bromeliaceae from Brazil. *J. Hered.* 106, 93–101.
- Hopper, S.D., 2009. OCBIL theory: towards an integrated understanding of the evolution, ecology and conservation of biodiversity on old, climatically buffered, infertile landscapes. *Plant Soil* 322, 49–86.
- Hopper, S.D., Fiedler, P.L., Yates, C.J., 2021. Inselberg floristics exemplify the coast to inland OCBIL transition in a global biodiversity hotspot. *Biol. J. Linn. Soc.* 133, 624–644.
- Jacobi, C.M., Carmo, F.F., Vincent, R.C., Stehmann, J.R., 2007. Plant communities on ironstone outcrops: a diverse and endangered Brazilian ecosystem. *Biodiv. Conserv.* 16, 2185–2200.
- Jenks, M.A., Wood, A.J., 2008. *Plant Desiccation Tolerance*. John Wiley & Sons, New York.
- Liu, X., Challabathula, D., Quan, W., Bartels, D., 2019. Transcriptional and metabolic changes in the desiccation tolerant plant *Craterostigma plantagineum* during recurrent exposures to dehydration. *Planta* 249, 1017–1035.
- Lousada, J.M., Borba, E.L., Ribeiro, K.T., Ribeiro, L.C., Lovato, M.B., 2011. Genetic structure and variability of the endemic and vulnerable *Vellozia gigantea* (Velloziaceae) associated with the landscape in the Espinhaço range, in South Eastern Brazil: implications for conservation. *Genetica* 139, 431–440.
- Lousada, J.M., Lovato, M.B., Borba, E.L., 2013. High genetic divergence and low genetic variability in disjunct populations of the endemic *Vellozia compacta* (Velloziaceae) occurring in two edaphic environments of Brazilian campos rupestres. *Braz. J. Bot.* 36, 45–53.
- Ma, C., Wang, H., Macnish, A.J., Estrada-Melo, A.C., Lin, J., Chang, Y., Reid, M.S., Jiang, C.Z., 2015. Transcriptomic analysis reveals numerous diverse protein kinases and transcription factors involved in desiccation tolerance in the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. *Hortic. Res.* 2, 1–12.
- Marks, R.A., Farrant, J.M., McLetchie, D.N., VanBuren, R., 2021. Unexplored dimensions of variability in vegetative desiccation tolerance. *Am. J. Bot.* 108, 1–13.
- Marleen, Y.M., Farrant, J.M., Roden, L.C., 2010. Preliminary characterization of floral response of *Xerophyta humilis* to desiccation, vernalisation, photoperiod and light intensity. *Plant Growth Regul.* 62, 213–216.
- Meirelles, S.T., Pivello, V.R., Joly, C.A., 1999. The vegetation of granite rock outcrops in Rio de Janeiro, Brazil, and the need for its protection. *Environ. Conserv.* 26, 10–20.
- Mello-Silva, R., 2004. Sistemática de *Vellozia candida* (Velloziaceae). *Rodriguésia* 55, 59–64.
- Mello-Silva, R., 2018. Flora of the Canga de Serra dos Carajás, Pará, Brazil: velloziaceae. *Rodriguésia* 69, 259–262.
- Mello-Silva, R., Sasaki, D., 2016. Revision of the Brazilian hemispheric ovary clade of *Vellozia* (Velloziaceae) with the new *V. religiosa*. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 101, 553–567.
- Mello-Silva, R., Santos, D.Y., Salatino, M.L., Motta, L.B., Cattai, M.B., Sasaki, D., Lovo, J., Pita, P.B., Rocini, C., Rodrigues, C.D., Zarrei, M., Chase, M.W., 2011. Five vicarious genera from Gondwana: the Velloziaceae as shown by molecules and morphology. *Ann. Bot.* 108, 87–102.
- Muasya, A.M., Harvey, Y., Cheek, M., Tah, K., Simpson, D.A., 2010. *Coleochloa domensis* (Cyperaceae), a new epiphytic species from Cameroon. *Kew Bull.* 65, 323–325.
- Oliver, M.J., Tuba, Z., Mishler, B.D., 2000. The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. *Plant Ecol.* 151, 85–100.
- Oliver, M.J., Farrant, J.M., Hilhorst, H.W., Mundry, S., Williams, B., Bewley, J.D., 2020. Desiccation tolerance: avoiding cellular damage during drying and rehydration. *Ann. Rev. Plant Biol.* 71, 435–460.
- Ottaviani, G., Marcantonio, M., Mucina, L., 2016. Soil depth shapes plant functional diversity in granite outcrops vegetation of South Western Australia. *Plant Ecol. Div.* 9, 263–276.
- Parmentier, I., Oumou, M., Porembski, S., Lejoly, J., Decocq, G., 2006. Ecology, distribution, and classification of xeric monocotyledonous mats on inselbergs in West Africa and Atlantic central Africa. *Phytocoenologia* 36, 547–564.
- Porembski, S., 2000. The invasibility of tropical granite outcrops (‘inselbergs’) by exotic weeds. *J. R. Soc. West. Aust.* 83, 131–137.
- Porembski, S., 2006. Vegetative architecture of desiccation-tolerant arborescent monocotyledons. *Aliso* 22, 129–134.
- Porembski, S., 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasil. Bot.* 30, 579–586.
- Porembski, S., 2011. Evolution, diversity, and habitats of poikilohydrous vascular plants. In: Lüttge, U., Beck, E., Bartels, D. (Eds.), *Plant Desiccation Tolerance*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 139–156.
- Porembski, S., 2021. Desiccation-tolerant vascular plants: systematic distribution, ecology, and biogeography. In: Burkhard, B., Friedl, T. (Eds.), *List at Rock Surfaces*. De Gruyter, Berlin, Boston, pp. 213–232.
- Porembski, S., Barthlott, W., 1995. On the occurrence of a velamen radicum in Cyperaceae and Velloziaceae. *Nord. J. Bot.* 15, 625–629.
- Porembski, S., Barthlott, W., 2000a. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecol.* 151, 19–28.
- Porembski, S., Barthlott, W., 2000b. Inselbergs – Biotic Diversity of Isolated Rock Outcrops in Tropical and Temperate Regions. Springer-Verlag, Berlin.
- Porembski, S., Brown, G., Barthlott, W., 1996. A species-poor tropical sedge community: *afrotrepis pilosa* mats on inselbergs in West Africa. *Nord. J. Bot.* 16, 239–246.
- Porembski, S., Martinelli, G., Ohlemüller, R., Barthlott, W., 1998. Diversity and ecology of saxicolous vegetation mats on inselbergs in the Brazilian Atlantic rainforest. *Div. Distrib.* 4, 107–119.
- Porembski, S., Becker, U., Seine, R., Porembski, S., Barthlott, W., 2000. Islands on islands: habitats on inselbergs. *Inselbergs – Biotic Diversity of Isolated Rock Outcrops in Tropical and Temperate Regions*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 49–67.
- Porembski, S., Silveira, F.A.O., Fiedler, P.L., Watve, A., Rabarimanarivo, M., Kouame, F., Hopper, S.D., 2016. Worldwide destruction of inselbergs and related rock outcrops threatens a unique ecosystem. *Biodiv. Conserv.* 25, 2827–2830.
- Rabarimanarivo, M.N., Ramandimbisoa, B., Rakotoarivo, N.H., Phillipson, P.B., Andriambololona, S., Callmander, M.W., Porembski, S., 2019. The extraordinary botanical diversity of inselbergs in Madagascar. *Candollea* 74, 65–83.
- Rexroth, J., Krebs, L., Wöhrmann, T., Harpke, D., Rabarimanarivo, M., Phillipson, P.B., Weising, K., Porembski, S., 2019. New microsatellite markers for *Xerophyta dasytrichoides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs. *Appl Plant Sci* 7, e11282.
- Scott, P., 2000. Resurrection plants and the secrets of eternal leaf. *Ann. Bot.* 85, 159–166.
- Seine, R., Becker, U., Porembski, S., Follmann, G., Barthlott, W., 1998. Vegetation of inselbergs in Zimbabwe. *Edinb. J. Bot.* 55, 267–293.
- Silveira, F.A.O., Negreiros, D., Barbosa, N.P., Buisson, E., Carmo, F.F., Carstensen, D.W., Garcia, Q.S., 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* 403, 129–152.
- Suguiyama, V.F., Silva, E.A., Meirelles, S.T., Centeno, D.C., Braga, M.R., 2014. Leaf metabolite profile of the Brazilian resurrection plant *Barbacenia purpurea* Hook. (Velloziaceae) shows two time-dependent responses during desiccation and recovering. *Front. Plant Sci.* 5, 1–13.
- Taylor, N.P., Zappi, D.C., 2004. Cacti of Eastern Brazil. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Tuba, Z., 2008. Notes on the poikilochlorophyllous desiccation-tolerant plants. *Acta Bot. Szeged.* 52, 111–113.
- Tuba, Z., Lichtenthaler, H.K., Csintalan, Z., Nagy, Z., Szenté, K., 1994. Reconstitution of chlorophylls and photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation upon rehydration of the desiccated poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrata* (Pax) Th. Dur. et Schinz. *Planta* 192, 414–420.
- VanBuren, R., 2017. Seedy origins of resurrection. *Nat Plants* 3, 17046.
- Vicré, M., Farrant, J.M., Driouich, A., 2004. Insights into the cellular mechanisms of desiccation tolerance among angiosperm resurrection plant species. *Plant Cell Environ.* 27, 1329–1340.
- Wang, X., Chen, S., Zhang, H., Shi, L., Cao, F., Guo, L., Xie, Y., Wang, T., Yan, X., Dai, S., 2010. Desiccation tolerance mechanism in resurrection fern-ally *Selaginella tamariscina* revealed by physiological and proteomic analysis. *J. Proteome Res.* 9, 6561–6577.
- Xu, Z., Xin, T., Bartels, D., Li, Y., Gu, W., Yao, H., Liu, S., Yu, H., Pu, X., Zhou, J., Xu, J., Xi, C., Lei, H., Song, J., Chen, S., 2018. Genome analysis of the ancient tracheophyte *Selaginella tamariscina* reveals evolutionary features relevant to the acquisition of desiccation tolerance. *Mol. Plant.* 11, 983–994.
- Xu, X., Legay, S., Sergeant, K., Zorzan, S., Leclercq, C.C., Charton, S., Guerriero, G., 2021. Molecular insights into plant desiccation tolerance: transcriptomics, proteomics and targeted metabolite profiling in *Craterostigma plantagineum*. *Plant J.* 107, 377–398.

### 4.3 Population genetic structure of the Malagasy inselberg species

#### *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications

J. Rexroth, C. Porsche, R. Bastrop, M. Rabarimanarivo, K. Weising and S. Porembski

submitted to: Journal of Evolutionary Biology, Manuscript-ID: JEB-2023-00036.

#### Zusammenfassung

Inselartige Ökosysteme, wie z.B. Inselberge, ermöglichen Einblicke in die Mechanismen, die die evolutionäre und biogeografische Entwicklung von Arten in derartigen Lebensräumen geprägt haben. Obwohl Inselberge in den Tropen weitverbreitet vorkommen, finden sich dennoch regionale Unterschiede bezogen auf den Artenreichtum und den Grad des Endemismus. Ausschließlich in Inselberg-Habitaten kommt die auf Madagaskar endemische Monokotyle *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae) vor. Um die potenzielle Rolle von Inselbergen und ihre evolutionären Auswirkungen auf die Artbildung, im Besonderen von inselberg-spezifischen austrocknungstoleranten Arten zu untersuchen, wurde mithilfe von Mikrosatellitenmarkern, die für diese Art entwickelt wurden, die genetische Differenzierung und die Verteilung der genetischen Vielfalt innerhalb und zwischen 15 isolierten Inselbergpopulationen untersucht. Während klonales Wachstum nur gelegentlich beobachtet wurde, deuteten alle Parameter auf einen geringen Genfluss zwischen den Populationen hin, selbst wenn sie geografisch nahe beieinander lagen. Eine AMOVA ergab, dass der überwiegende Anteil der genetischen Diversität (> 60%) innerhalb und nur etwa 37% der Gesamtvariation auf Unterschiede zwischen den Populationen zurückgeführt werden kann. Daher wurde eine Flaschenhalsanalyse durchgeführt, die in drei von 15 Populationen Hinweise auf einen Flaschenhalseffekt aufzeigte. Solche Effekte können sowohl bei der Gründung neuer Populationen, als auch nach Ereignissen auftreten, die die Populationsgröße verringern, wie z.B. Feuer. Die Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass die Isolation der Inselberge den Genfluss zumindest über die Samenverbreitung zwischen den Populationen beeinträchtigt. Folglich scheint für den genetischen Austausch innerhalb der Populationen von *X. dasyliroides* die Pollenverbreitung relevanter zu sein.

Journal of Evolutionary Biology



**Population genetic structure of the Malagasy inselberg species *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications**

Journal:	<i>Journal of Evolutionary Biology</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Research Article
Keywords:	Population genetics, Phylogeography, Phenotypic plasticity, Adaptive dynamics, Plants, Molecular evolution, Natural selection

SCHOLARONE™  
Manuscripts

1 **Title:** Population genetic structure of the Malagasy inselberg species *Xerophyta dasyliroides*  
2 (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications

3

4 **Running head:** Population genetics of the Malagasy species *Xerophyta dasyliroides*

5

6 **Author:** Juliane Rexroth<sup>1,\*</sup>, Christian Porsche<sup>1</sup>, Ralf Bastrop<sup>1</sup>, Marina Rabarimanarivo<sup>2</sup>, Kurt  
7 Weising<sup>3</sup> and Stefan Porembski<sup>1</sup>

8

9

10 **Authors' institutional affiliations:**

11 1) Institute of Biological Sciences, University of Rostock, D-18051 Rostock, Germany.

12 2) Missouri Botanical Garden, P.O. Box 3391, Antananarivo 101, Madagascar.

13 3) Plant Molecular Systematics, Department of Sciences, University of Kassel, D-34132  
14 Kassel, Germany.

15

16 Email addresses: JR: [juliane.rexroth@uni-rostock.de](mailto:juliane.rexroth@uni-rostock.de)

17 CP: [christian.porsche@uni-rostock.de](mailto:christian.porsche@uni-rostock.de)

18 RB: [ralf.bastrop@uni-rostock.de](mailto:ralf.bastrop@uni-rostock.de)

19 MR: [marina.rabarimanarivo@mobot.mg](mailto:marina.rabarimanarivo@mobot.mg)

20 KW: [weising@uni-kassel.de](mailto:weising@uni-kassel.de)

21 SP: [stefan.porembski@uni-rostock.de](mailto:stefan.porembski@uni-rostock.de)

22

23 **\*Corresponding author:** JR: [juliane.rexroth@uni-rostock.de](mailto:juliane.rexroth@uni-rostock.de)

24

25

26

27 **Author contributions:**

28 JR, KW and SP designed the study. JR and KW contributed to experimental design. SP and  
29 MR conducted the fieldwork. JR experimented, with contributions from RB. JR and CP  
30 performed data analysis. JR drafted the manuscript. All authors reviewed and approved the  
31 final manuscript.

32

33 **Acknowledgments:**

34 The authors would like to thank Dr. Tina Wöhrmann for her assistance with the genetic  
35 analyses and all the people who helped us in the field, especially Peter Phillipson from the  
36 Missouri Botanical Garden, for his on-site support.

37

38 Ms. Juliane Rexroth (Orcid ID: 0000-0003-0258-3409)

39

40 Article type: Research Paper

41 Number of words: 4767

42

43

44 **CONFLICT OF INTEREST**

45 The authors have no conflict of interest to declare.

46

1 **Running head:** Population genetics of the Malagasy species *Xerophyta dasylirioides*

2

3 Article type: Research Paper

4 Number of words: 4767

5

6 **ABSTRACT**

7 Island-like ecosystems, such as inselbergs, are favourable for studying evolutionary  
8 processes. The monocotyledonous species *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae) is endemic  
9 to Malagasy inselbergs. Its exceptional habitat makes it a suitable target species for studying  
10 genetic variation within and among isolated populations, thereby offering insights into the  
11 mechanisms of speciation in terrestrial islands. Here we used a set of nine nuclear  
12 microsatellite markers previously developed for this species to study the genetic  
13 differentiation and distribution of genetic variability within and among 15 natural populations  
14 of *X. dasylirioides*, all sampled from different inselbergs. Standard population genetic  
15 parameters were estimated per locus and per population, including the total numbers of  
16 alleles, allelic richness ( $A_R$ ), the number of private alleles ( $A_P$ ), inbreeding coefficients,  
17 genotypic diversity and the number of individuals migrating per generation ( $N_m$ ). Whereas  
18 clonal growth was only occasionally observed, all parameters indicated low levels of gene  
19 flow between the populations even when they were geographically close. This finding was  
20 further supported by an AMOVA, a Bayesian STRUCTURE analysis, a DAPC analysis and a  
21 genetic network. We also conducted a bottleneck analysis to gain insights into the  
22 demography of the inselberg populations and their possible influences. Evidence of such an  
23 event was found in only three of the 15 populations. Since these findings are also due to  
24 apparently restricted seed dispersal, we assume that for the inselberg-specific

Population genetics *Xerophyta* <sup>2</sup>

25 *Xerophyta dasyliroides*, pollinator and pollen dispersal play a more crucial role in genetic  
26 diversity and, finally, in the speciation process.

27

28

29 Key words: desiccation tolerance; evolutionary effects; genetic diversity; gene flow,  
30 Madagascar; microsatellites; monocotyledons; rock outcrops; speciation

31

## 32 1 | INTRODUCTION

33 Darwin's writings highlighted geographical isolation as a favourable condition for  
34 speciation (Mayr, 1963). Naturally isolated habitats, such as oceanic islands, therefore played  
35 an essential role in Darwin's ideas about the emergence of new species. Since the earliest  
36 scientific investigations into island biology, it has been recognised that living on islands can  
37 give rise to interesting phenomena, such as the formation of atypical subgroups of ecological  
38 and taxonomic groups (MacArthur & Wilson, 1967; Emerson, 2002). Similar effects can also  
39 be observed on terrestrial islands, such as inselbergs (Porembski & Barthlott, 2000). Because  
40 these habitats are ecologically isolated from the surrounding matrix, they form island-like  
41 ecosystems. Depending on the degree of geographical and edaphic isolation, genetic and  
42 phenotypic adaptations to specific conditions can be readily observed on 'island' systems,  
43 which are generally considered desirable areas for studying evolutionary processes (Emerson,  
44 2002).

45 Inselbergs are typically dome-shaped monolithic rock outcrops of granite or gneiss  
46 (Porembski & Barthlott, 2000; Porembski, 2007). They are dominated by open, sun-exposed  
47 rocky slopes that usually cover most of their surface, and environmental conditions are  
48 therefore harsh (e.g. high irradiation, high evaporation, lack of soil and low water availability;  
49 Lüttge, 2008). Although inselbergs are ancient landscape elements (i.e., millions of years old)  
50 and widespread throughout the tropics (Porembski, 2007), there are regional differences in  
51 species richness and levels of endemism. Moreover, the prevailing extreme edaphic-climatic  
52 conditions on inselbergs favour the occurrence of a unique vegetation (Porembski, 2007).  
53 Outstanding are desiccation-tolerant (DT) vascular plants, which can survive numerous cycles  
54 of dehydration and rehydration without losing viability. Vegetative desiccation tolerance has  
55 evolved several times independently within angiosperms, where it occurs in different families  
56 (Costa et al., 2017; Oliver et al., 2000; Tebele et al., 2021). Prominent are members of the

57 Velloziaceae (Pandanales), which grow on rock outcrops in the Paleo- and Neotropics and  
58 comprise important lineages of DT habitat specialists within the angiosperms. Their species  
59 show varying degrees of desiccation tolerance, probably reflecting different strategies for  
60 surviving in a dehydrated state (Alcantara et al., 2015).

61 The monocotyledonous family Velloziaceae (ca. 250 spp.) consists of small to large  
62 perennial herbs and shrubs (Mello-Silva, 2005; Mello-Silva et al., 2011). They form essential  
63 floral elements on inselbergs and other rock outcrops in Africa, Madagascar and South  
64 America (Mello-Silva et al., 2011). This family comprises three genera in the Neotropics,  
65 mainly in Brazil (*Vellozia* Vand., *Barbacenia* Vand.) and in the Andean region  
66 (*Barbaceniopsis*, L.B.Sm.). The basal genus *Acanthochlamys* P.C. Kao is endemic to China  
67 (Mello-Silva et al., 2011). On inselbergs in Africa and Madagascar, this family occurs with  
68 species of the genus *Xerophyta* Juss. (Behnke et al., 2013). Many Velloziaceae species are  
69 able to form so-called mats and thus create a plant community intermingled with other mat-  
70 forming species, but they can also occur as monotypic stands directly on the rock as so-called  
71 "islands on islands" (Porembski et al., 2000). As the flowering period of Velloziaceae  
72 overlaps with the wet summer season, when plants are more often in a hydrated state (Myers  
73 et al., 2010), this is generally short of only a few days. Nevertheless, the flowering is often  
74 very showy, and most species are reported to be self-incompatible (Oliveira et al., 1991;  
75 Franceschinelli et al., 2006). Due to its floral similarities above the species level on the one  
76 hand and the wide range of morphological variations within the species on the other,  
77 taxonomic classification within this family is challenging (Mello-Silva, 2005; Behnke et al.,  
78 2013; Péli et al., 2018).

79 The monophyletic genus *Xerophyta* comprises about 70 species distributed from  
80 Madagascar to sub-Saharan Africa and southwestern Arabia (Behnke et al., 2013). Most  
81 species are supposed to be local endemics, but some are also widespread (Behnke et al.,  
82 2013). *Xerophyta dasyliroides* Baker (Fig. 1) is endemic to Madagascar and widespread on

83 the Central Highlands inselbergs. The species shows a considerable degree of morphological  
84 variation (e.g. of leaf indumentum; see below). Furthermore, a study by Behnke et al. (2013)  
85 based on leaf anatomy described eight variants for this species alone. For this, we consider  
86 this species to be a suitable model for our evolutionary studies.

87 Previous investigations on South American (e.g., Lousada et al., 2013) and Malagasy  
88 Velloziaceae (e.g. Rexroth et al., 2019) have shown that rates of genetic exchange between  
89 populations located on different inselbergs can be meagre, even when they are in close  
90 neighbourhood. In fact, strong genetic differentiation between populations due to limited  
91 intraspecific gene exchange is a recurring pattern observed on rocks and terrestrial islands  
92 worldwide (e.g., Barbará et al., 2007; Gonçalves-Oliveira et al., 2017, 2020; Mota et al.,  
93 2020). Genetic differentiation is likely to increase over time if geographically isolated  
94 populations are also exposed to different climatic, edaphic, and biotic factors. That highlights  
95 the potential role of terrestrial islands and their evolutionary implications for speciation.  
96 Behnke et al. (2013) assumed that each known *Xerophyta* species seems to be restricted to a  
97 different geographical region. Furthermore, morphological species variants have also been  
98 described, e.g. *X. dasyliroides* var. *tulearensis* (Behnke et al., 2013), which thus seem to  
99 represent fluid boundaries between species. Local adaptations can also become visible in  
100 morphological variations. These morphologically diverse species are referred to as  
101 ochlopecies (Cronk, 1998), as already described for the neotropical *Vellozia hirsuta* (Barbosa  
102 et al., 2012). Including the isolated inselberg habitats, we assume that *X. dasyliroides* is a  
103 matter of local adaptations to the respective inselberg habitat and that this species thus  
104 displays a broader spectrum of morphological variations. Moreover, genetic differentiation is  
105 quite likely if geographically isolated populations are exposed to different climatic, edaphic  
106 and biotic factors over time in the absence of secondary contact.

107 The genetic diversity of plant populations reflects the interplay of different processes in the  
108 evolutionary history of a species, including reproductive strategies. A combination of

109 different reproductive strategies seems advantageous, especially in establishing and surviving  
110 in extreme habitats such as inselbergs. The population genetic study on geographically  
111 isolated *Xerophyta dasyliroides* populations presented here offers an excellent opportunity to  
112 shed light on the consequences of gene exchange restrictions and diversification. We assume  
113 that gene flow between the isolated inselberg populations studied here is limited and aim to  
114 test this using microsatellite markers previously generated for *Xerophyta dasyliroides*  
115 (Rexroth et al., 2019). Due to their reliability, good transferability and high variation,  
116 microsatellites have already proven to be a valuable tool for describing genetic diversity.  
117 Since not much is known about the reproductive strategy of the Malagasy  
118 *Xerophyta dasyliroides*, we also tested whether vegetative propagation and clonal growth  
119 could also play a role.

120

121

## 122 2 | MATERIALS AND METHODS

### 123 2.1 | Field sampling and DNA extraction

124 *Xerophyta dasyliroides* is endemic to inselbergs in the Central Highlands of Madagascar.  
125 We collected leaf samples from 15 natural populations of *X. dasyliroides* along a north-to-  
126 south stripe of ca. 440 km in length and along an elevational gradient ranging from ca. 700 m  
127 to 1700 m a.s.l. (Tab. 1) with varying degrees of morphological differences (e.g. hairiness of  
128 leaves). Populations were assigned to two regions, i.e., a northern cluster (NC) comprising  
129 nine populations and a southern cluster (SC) of six populations. The two clusters were  
130 separated from each other by a gap of 200 km (Tab. 1, Fig. 2). Between 15 and 30 individuals  
131 per population were included in the genetic analyses, except for population IX of the northern  
132 cluster from where 75 individuals were collected (Tab. 1). Based on the results of Rexroth et  
133 al. (2019), we defined the samples from each inselberg as a separate and single population. To

134 circumvent the collection of vegetatively propagated clones, we sampled only one plant from  
135 each mat in all populations except population IX where several samples per mat were  
136 additionally taken to examine the internal mat structure. Population IX was divided into five  
137 sections for these analyses, and each section was treated as a separate subpopulation. Fresh  
138 leaves of each individual were dried in silica gel immediately after collection and remained  
139 there until DNA extraction. Herbarium vouchers (one from each population) were collected  
140 and deposited at the Herbarium of the Parc Botanique et Zoologique of Tsimbazaza in  
141 Antananarivo (TAN). Total genomic DNA was extracted from dried leaves using a modified  
142 cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method (Štorchová et al., 2000).

143

#### 144 **2.2 | Microsatellite markers and genotyping assays**

145 Initially, we tested ten nuclear microsatellite markers previously developed for  
146 *Xerophyta dasylirioides* (Rexroth et al., 2019) on a small set of samples and chose those nine  
147 loci which were amplified in all individuals (Xeda\_13, Xeda\_15, Xeda\_18, Xeda\_23,  
148 Xeda\_28, Xeda\_31, Xeda\_34, Xeda\_39, Xeda\_40; Rexroth et al., 2019). All loci were  
149 amplified using a touchdown PCR program following the protocol of Rexroth et al. (2019).  
150 The forward primer of each pair was fluorescently labelled with FAM, VIC, NED, or PET  
151 (Applied Biosystems). The amplified fragments were genotyped using an ABI Prism 3100  
152 sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and sized against the GeneScan  
153 600 LIZ molecular size standard (Applied Biosystems).

154

#### 155 **2.3 | Genetic variation**

156 GENALEX 6.5 (Peakall et al., 2012) and FSTAT (Goudet, 2002) were used to calculate the  
157 following standard population genetic parameters for each locus and population: the numbers  
158 of alleles ( $A$ ), the allelic richness ( $A_R$ ), the number of private alleles ( $A_P$ ), observed and

159 expected heterozygosity values ( $H_O$  and  $H_E$ ). The same programs were also used to estimate  
160 the inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ), the fixation index ( $F_{ST}$ ) and the number of individuals  
161 migrating per generation ( $N_m$ ). Since migration rates correspond to the extent of gene flow in  
162 plants, this was estimated from  $N_m = 0.25(1-F_{ST})/F_{ST}$ . We tested each locus and population for  
163 deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) using the online GENEPOP software  
164 (Raymond et al., 1995). The programme MICRO-CHECKER 2.2.3 (van Oosterhout et al., 2006)  
165 was used to assess the presence of null alleles, which can cause an incorrect estimation of  
166 heterozygosity.

167

#### 168 **2.4 | Genetic differentiation**

169 We performed a Bayesian clustering analysis with the software STRUCTURE 2.3.4  
170 (Pritchard et al., 2000) to assign individuals probabilistically to genetic clusters or groups ( $K$ )  
171 and to estimate the admixture proportion ( $Q$ ) for each individual. The membership ratio in the  
172 individual groups was calculated without considering the sampling sites. To determine the  
173 most appropriate number of genetic clusters ( $K$ -value), we ran the analysis for 500,000  
174 generations in the burn-in period and for 500,000 generations in the Markov Chain Monte  
175 Carlo simulation analyses after burn-in. Ten repetitions for each  $K$  value ( $1 \leq K \leq 16$ ) were  
176 performed. To identify the number of genetically distinct groups in populations and determine  
177 the most likely number of  $K$  for the Bayesian clustering analysis, we used the R package  
178 adegenet (Jombart, 2008; Jombart et al., 2011). In addition to STRUCTURE, we used  
179 multivariate DAPC (discriminant analysis of principal components), also implemented in the  
180 R package adegenet, to identify and describe clusters of genetically related individuals  
181 (Jombart et al., 2010). An advantage of a DAPC is that it may be better suited to decipher the  
182 underlying structures in more complex genetic populations and to generate a graphical  
183 representation of the relatedness between inferred clusters (Jombart et al., 2010). MLGsim 2.0

184 (Sternberg et al., 2003) was used to distinguish between unique and recurrent multilocus  
185 genotypes (MLG) in our whole dataset, specifically in population IX. To test whether two  
186 MLGs in a dataset could also be identical by chance, we calculated individual  $p_{SEX}$ -values.  
187 The  $P$ -value for testing the significance of  $p_{SEX}$ -values was estimated from 1,000 simulations.  
188 We also estimated the genotypic diversity for populations using the parameter  $R$  ("genotypic  
189 richness") implemented in the R package poppr (Kamvar et al., 2014).

190 A hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) implemented in the package  
191 ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al., 2010) was conducted to assign the relative percentages of  
192 total genetic variation among and within populations. We also calculated the AMOVA to see  
193 if the 200 km gap impacts the genetic variation among and within the two geographically  
194 separated regions, NC and SC. The genetic relationships at the level of individuals were  
195 analysed with the software SPLITSTREE 4.0 (Huson et al., 2006). The calculations were based  
196 on a pairwise genetic distance matrix between individuals, according to Bruvo et al. (2004).  
197 We visualised the results by drawing a Neighbour-Net graph in SPLITSTREE.

198 Finally, we used the population genetic software package BOTTLENECK (Piry et al., 1999)  
199 to verify whether any of the populations has recently experienced a reduction of effective  
200 population size due to genetic bottlenecks. The Wilcoxon signed-rank test was used to  
201 determine the significance of the genetic diversity excess, as this test is more suitable for  
202 analyses with less than 20 loci. The analysis was carried out using the step-wise mutation  
203 (SMM) and two-phase mutation model (TPM), which fits microsatellite evolution data better  
204 than others (Piry et al., 1999). A total of 10,000 simulation iterations were conducted.

205

206

### 207 **3 | RESULTS**

#### 208 **3.1 | Genetic diversity**

209 The levels of genetic diversity on a per locus-basis are summarised in Table 2. The nine  
210 nuclear microsatellite loci were all polymorphic, with eight to 24 alleles in the northern  
211 cluster (NC) and three to 19 alleles in the southern cluster (SC). Allelic richness per locus  
212 ranged from 2.000 to 6.793 (mean 4.319) within the NC and from 1.000 to 6.000 (mean  
213 2.444) within the SC. Expected and observed heterozygosity values varied strongly among  
214 loci; the same is true for the inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ). The fixation index ( $F_{ST}$ ) for the NC  
215 ranged from 0.290 to 0.529 (mean 0.393) and for the SC from 0.216 to 0.565 (mean 0.393).  
216 The mean indirect estimates of gene flow ( $N_m$ ) between the populations yielded  
217 approximately similar values of 0.383 (NC) and 0.386 (SC) for both clusters. (Tab. 2).

218 The levels of genetic diversity on a per population-basis are summarised in Table 3. We  
219 identified an average percentage of polymorphic loci of 86% across all populations, ranging  
220 from four to nine out of nine loci. Across all populations, the observed heterozygosity ( $H_O$ )  
221 and expected heterozygosity ( $H_E$ ) values ranged from 0.059 to 0.653 (mean 0.425) and from  
222 0.140 to 0.612 (mean 0.463), respectively, and were often in the same range within a  
223 particular population. Accordingly, the inbreeding coefficients ( $F_{IS}$ ) were mostly low (mean  
224 0.072), except for population VII where a notable heterozygote deficiency resulted in a  $F_{IS}$   
225 value of 0.415. Private alleles were found in each population, ranging from one to ten (Tab.  
226 3). The populations IX and XIII showed the highest numbers, with ten private alleles each.

227 The nuclear microsatellite data revealed that 302 out of 320 samples each had a different  
228 multilocus genotype, whereas seven identical multilocus genotypes (iMLG) were found in 18  
229 plants exclusively collected in the northern populations (NC; Tab. 3). Four iMLGs were found  
230 in 12 individuals from population VII, two iMLGs in four individuals from population IX and  
231 one iMLG in two individuals from population I. All iMLGs detected in population IX came  
232 from the same section, centrally located on the inselberg and from different mats where only  
233 one individual was present. Since the  $p_{SEX}$ -values calculated by MLGsim (Sternberg et al.  
234 2003) were  $< 0.01$  in each case, it can be assumed that all plants sharing the same MLG

235 represent genuine genetic clones. Interestingly we did not find any clones in the southern (SC)  
236 dataset. This is also reflected in the values for the genotypic diversity parameter ranging from  
237  $R = 0.286$  for population VII,  $R = 0.931$  for population I and  $R = 0.959$  for population IX. The  
238 remaining populations have  $R = 1$  (Tab. 3).

239

### 240 **3.2 | Distribution of genetic variability and phylogeographic patterns**

241 The most likely  $K$  value suggested for the Bayesian clustering analysis was  $K = 16$ , almost  
242 equivalent to the number of different populations (15). The STRUCTURE analysis showed that  
243 almost all individuals grouped according to their geographic location and population  
244 assignment, except for the individuals from the large population IX which show an  
245 intermingling between individuals from two genetically different groups (Fig. 3). The results  
246 from the STRUCTURE analysis clearly indicate very limited gene flow between populations  
247 even when the geographic locations were close. The scatterplot of the DAPC analysis  
248 confirmed this result (Fig. 4). Furthermore, the DAPC analysis revealed an assignment of  
249 populations to one of three significant groupings. One group comprises the entire SC  
250 populations, and the second group is composed of populations II, III, IV, V, VII and VIII, all  
251 from the NC. Population VI latter is loosely associated with the second group. Populations I  
252 and IX form a third group.

253 The AMOVA reveals (Tab. 4) that most of the variation resides within populations, both in  
254 the NC and the SC (NC = 63.00%; SC = 62.09%;  $p < 0.001$ ). In both clusters, about 37% of  
255 the variation resides between populations. This shows that a higher proportion of the genetic  
256 variation is due to differences within populations rather than among populations.  
257 Interestingly, genetic differentiation was much lower among the two geographically separated  
258 regions (9.42%).

259 A highly distinct genetic pattern was also evident in a Neighbour-Net graph created from  
260 Bruvo's pairwise genetic distances between individual plants (Fig. 5). In this analysis, samples

261 mostly grouped according to their population assignment except for population II, which is  
262 divided into two separate branches, and except for populations I and IX, which show some  
263 intermingling of individuals. Interestingly, genetic relationships among populations suggested  
264 by the network are not necessarily reflected by geographic proximity. For example, the six  
265 populations from the southern cluster form two separate groups in the Neighbour-Net, one  
266 consisting of populations X and XIII, the other of populations XI, XII, XIV and XV.  
267 However, the three significant accumulations already identified in the DAPC analysis can also  
268 be seen here.

269 The Bottleneck analyses were performed on our dataset and estimated using the Wilcoxon  
270 test with different models. The results showed a deviation from the mutation-drift equilibrium  
271 under the assumptions of TPM and SMM in three of the 15 populations. In populations IV  
272 and VI, this could be observed to be quite pronounced, while in population XI, it is only  
273 slight. Moreover, populations IV, VI, VII and XI also showed a mode-shift in the allele  
274 frequency distribution, indicating a recent bottleneck. No deficit in heterozygosity and mode-  
275 shift in the allele frequency distribution was detected in the remaining populations, indicating  
276 that these populations have not changed recently.

277

278

#### 279 **4 | DISCUSSION**

280 Like the majority of Velloziaceae species (Jacobi et al., 2007; Costa et al., 2017),  
281 *Xerophyta dasyliroides* is assumed to be self-incompatible and therefore has to rely on  
282 pollinators. Outcrossing can however be a difficult task in view of the often desiccated state  
283 and the island-like habitat of the species. In *X. dasyliroides* bees were identified as flower  
284 visitors (Fig. 1) and may potentially act as primary pollinators when flowers are produced in a  
285 rehydrated phase. In addition to sexual propagation, our personal field observations suggest  
286 that clonal reproduction via stolons may play a role in *X. dasyliroides*. Clonal growth could

287 be a strategy to circumvent a possible reproductive barrier. In this way, dependence on the  
288 availability of a pollinator could also be released, even if clonality would be only facultative  
289 or temporary. As little is known about genetic structure and variation in *X. dasyliroides*,  
290 preferred mating systems, the extent of clonality in natural populations and the mechanisms of  
291 speciation within this genus, this study was supposed to shed some more light on these issues.

292

#### 293 **4.1 | Patterns of genetic diversity among inselbergs**

294 In our population genetic analysis of *X. dasyliroides*, all lines of evidence suggest that the  
295 inselberg populations studied were genetically diverse but distinctly different from each other.  
296 High levels of genetic differentiation in geographically isolated populations likely indicate  
297 reproductive isolation. In eleven out of 15 populations  $\geq$  five private alleles could be detected.  
298 The observed and expected heterozygosity values, which were in a similar range in most  
299 populations studied (mean  $H_O = 0.425$  and  $H_E = 0.463$ ), were moderate. In addition, the  
300 populations consistently had low to negative  $F_{IS}$  values, which is usually a sign that self-  
301 pollination is rare or absent. For populations I and IX, clonality could be an explanation.  
302 Especially as these are two of the populations in which iMLGs could be identified. Indeed,  
303 different reproductive mechanisms within a species can be beneficial, especially for  
304 establishment and survival in an extreme habitat such as inselbergs. It is often argued that  
305 clonality can contribute to the long-term conservation of genetic diversity in plant species  
306 when combined with an outcrossing system (Wöhrmann et al., 2020). Nevertheless, the  
307 departure from HWE occurring in eight populations (Tab. 3; I, II, IV, V, IX, XI, XIII, XV)  
308 would instead suggest a Wahlund effect, except for population VII from the northern cluster  
309 where most iMLGs were found, and where the  $F_{IS}$  value was highest. However, a potential  
310 lack of heterozygotes within the eight sampled populations could be due to undetected  
311 structuring. Given that Velloziaceae species generally can form mats and thus grow like  
312 "islands on islands", it is conceivable that smaller subpopulations within an inselberg may

313 suffer from founder effects that would further differentiate the individual populations and  
314 amplify a Wahlund effect.

315 The estimation of gene flow using nuclear microsatellites provided the same results as the  
316 analysis of the genetic structure (NC:  $N_m = 0.383$ ; SC:  $N_m = 0.386$ ). Both analyses  
317 demonstrated limited gene flow among populations. Similar patterns of strong genetic  
318 isolation and reduced gene flow were commonly found in numerous other species growing on  
319 neotropical inselbergs (e.g. Franceschinelli et al., 2006; Barbará et al., 2007 Palma-Silva et  
320 al., 2011, 2015; Pinheiro et al., 2014, 2016; Hmeljevski et al., 2015; Lexer et al., 2016;  
321 Gonçalves-Oliveira et al., 2017, 2020; Mota et al., 2018, 2020; Dantas-Queiroz et al., 2021).  
322 We could further detect the presence of iMLGs in our data in three out of 15 populations. The  
323 associated  $p_{SEX}$ -values were generally  $< 0.01$ , strongly suggesting that these plants with  
324 iMLGs belong to the same genet. Furthermore, the plants with iMLGs always belonged to the  
325 same population. Interestingly, the clones were found exclusively in the northern cluster of  
326 sampling sites. Thus, the extent of genetic diversity is determined by factors such as  
327 population size, but also pollination dynamics and plant density in the respective habitat.

328

#### 329 **4.2 | Gene flow and spatial genetic structure**

330 Compared to the noticeable morphological differences related to the leaves (e.g.  
331 pubescence) observed between plants from the different sampling sites, we can at least say  
332 that all sampled individuals belong to the same species on a genetic level. This is because the  
333 statistical results of this study show a close genetic affiliation between the present populations  
334 and their individuals despite different genotypes (Fig. 4). It can therefore be assumed that  
335 some genetic exchange must occur. Accordingly, *Xerophyta dasylyrioides* has a broader range  
336 of morphological varieties than previously thought. Possibly these are local adaptations. This  
337 family already knows the same phenomenon for some neotropical family members.  
338 *Vellozia hirsuta*, e.g., has a highly polymorphic population structure with numerous

339 morphological, genetic and anatomical variations. It is now considered one species but has  
340 about 14 morpho-anatomical variations (Barbosa et al., 2012).

341 The non-spatial Bayesian clustering approach STRUCTURE and the genetic distance-based  
342 Neighbour-Net analyses show that most populations represent a genetically distinct group  
343 each. Thus, the  $K = 16$  clusters suggested and calculated by STRUCTURE well reflected the 15  
344 collection sites (Fig. 3). The limited genetic exchange between populations found in the  
345 STRUCTURE analysis suggests that gene flow between the present populations is minimal and  
346 indicates that each inselberg has its own genetic cluster. This indicates strong isolation by the  
347 inselberg habitats, even over small distances. An exception is population IX, which possibly  
348 shows a slightly increased genetic variability due to its larger sample size ( $N = 75$ ) and  
349 therefore has received two clusters in the STRUCTURE analysis.

350 A calculation of the correlation between genetic differentiation and the geographical origin  
351 of populations within the study area is reflected in the Neighbour-Net splits graph (Fig. 5).  
352 The individuals of a given locality are generally clustered together here as well, and the  
353 resulting branches essentially correspond to the 15 populations. Nevertheless, there is no  
354 uniform pattern. Thus, some geographically close inselberg populations (e.g. IV and V; linear  
355 distance:  $\sim 3.5$  km) show approximately the same genetic distance to each other as more  
356 distant ones (e.g. XI and XV; linear distance:  $\sim 138.4$  km). Moreover, populations VI and VII  
357 appear to be further apart genetically than their geographical distance suggests (linear  
358 distance:  $\sim 100$  m). Nevertheless, some correlation can be discerned on a broader scale, at least  
359 between the NC and the SC which group separate from each other in all analyses. A possible  
360 explanation for this could be the distances travelled by the potential primary pollinators. In the  
361 case of the neotropical *Vellozia epidendroides*, Franceschinelli et al. (2006) were able to  
362 establish a connection between the large distribution range of this species and its pollinators  
363 which are exclusively bees. Although widespread, the populations of *V. epidendroides* are  
364 nevertheless strongly differentiated from each other. A counterexample of this is

365 *V. leptopetala*, which is pollinated by both bees and hummingbirds and occurs exclusively in  
366 small populations. This lack of pollination over larger distances and a small distribution range  
367 seems to be due to the behaviour of territorially bound hummingbirds (Franceschinelli et al.,  
368 2006). Our analysed genetic data and personal observations support the hypothesis that bees  
369 mainly pollinate *X. dasylirioides*. This could enable the species to occur in a larger area while  
370 showing solid genetic differentiation between the individual inselberg populations.

371 The demography of the *X. dasylirioides* populations studied here and their possible  
372 influences were investigated using a bottleneck analysis. Here, the Wilcoxon test enables the  
373 reliable detection of small bottlenecks in natural populations. This test is based on the fact that  
374 population bottlenecks cause a characteristic distortion in the distribution of allele frequencies  
375 at selectively neutral loci. It also allows us to look for a shift in the distribution of allele  
376 frequencies. We were able to detect such shifts in four of the 15 analysed populations, but  
377 only in three of them there was also a deviation from the mutation-drift equilibrium.  
378 Populations VI and VII are particularly conspicuous in this respect. Such bottlenecks can  
379 occur both when new populations are established and after events that reduce population size,  
380 such as fires. Artificial fires are common on Malagasy inselbergs. Many Velloziaceae can  
381 survive such a fire because they have, e.g. resins, and the leaf rosettes of adult plants are well  
382 above the flames of the burning herb layer (de Freitas Larocca et al., 2022). However,  
383 depending on the constitution of the individual specimens, this is perhaps not true for  
384 everyone. Since population VII also had a high inbreeding value of 0.406 and the highest  
385 number of iMLGs, this suggests that such a fire event could have occurred at this particular  
386 inselberg. Regardless, one weakness of this method is that it is unreliable in detecting  
387 bottlenecks that are not significant or recent.

388 Our results give another example of moderate genetic diversity but strong genetic  
389 differentiation of plant populations on terrestrial islands, regardless of the geographical  
390 distance between populations. These results support the general hypothesis that

391 geographically isolated inselbergs are a barrier to gene flow that leads to speciation in the  
392 long term. Furthermore, the seeds of *X. dasyliroides* do not seem to be dispersed by wind but  
393 rather by gravity, as most seeds seem to fall close to the mother plant (personal observation).  
394 Together with our results, we suggest that seed dispersal for the inselberg-specific  
395 *Xerophyta dasyliroides* appears to be restricted. Consequently, pollinators and pollen  
396 dispersal play a more crucial role in genetic diversity and, ultimately, in the speciation process  
397 for this Malagasy species. Therefore, our findings contribute to understanding the influence of  
398 terrestrial islands and shed light on the evolutionary impact on speciation.

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419 **REFERENCES**

- 420 Alcantara, S., de Mello-Silva, R., Teodoro, G. S., Drequeceler, K., Ackerly, D. D. and R. S.  
421 Oliveira. 2015. Carbon assimilation and habitat segregation in resurrection plants: a  
422 comparison between desiccation and non-desiccation tolerant species of neotropical  
423 Velloziaceae (Pandanales). *Functional Ecology* 29: 1499-1512. doi: 10.1111/1365-  
424 2435.12462.
- 425 Barbará, T., Martinelli, G., Fay, M. F., Mayo, S. J. and C. Lexer. 2007. Population  
426 differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical  
427 high-altitude 'inselbergs': *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata*  
428 (Bromeliaceae). *Molecular Ecology* 16: 1981-1992. doi: 10.1111/j.1365-  
429 294X.2007.03272.x.
- 430 Barbosa, A. R., Fiorini, C. F., Silva-Pereira, V., Mello-Silva, R. and E. L. Borba. 2012.  
431 Geographical genetic structuring and phenotypic variation in the *Vellozia hirsuta*  
432 (Velloziaceae) ochlospecies complex. *American Journal of Botany* 99: 1477-1488. doi:  
433 10.3732/ajb.1200070.
- 434 Behnke, H. D., Hummel, E., Hillmer, S., Sauer-Gürth, H., Gonzalez, J. and M. Wink. 2013. A  
435 revision of African Velloziaceae based on leaf anatomy characters and *rbcL* nucleotide  
436 sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 172: 22-94. doi: 10.1111/boj.12018.
- 437 Bruvo, R., Michiels, N. K., D'Souza, T. G. and H. Schulenburg. 2004. A simple method for  
438 the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level.  
439 *Molecular Ecology* 13: 2101-2106. doi: 10.1111/j.1365-294X.2004.02209.x.
- 440 Costa M. C. D., Artur, M. A. S., Maia, J., Jonkheer, E., Derks, M. F. L., Nijveen, H.,  
441 Williams, B., Mundree, S. G., Jiménez-Gómez, J. M., Hesselink, T., Schijlen, E. G. W.  
442 M., Ligterink, W., Oliver, M. J., Farrant, J. M. and H. W. M. Hilhorst. 2017. A footprint

- 443 of desiccation tolerance in the genome of *Xerophyta viscosa*. *Nature Plants* 3: 17038. doi:  
444 10.1038/nplants.2017.38.
- 445 Cronk, Q. C. B. 1998 . The ochlopecies concept. In: Huxley, C.R., Lock, J.M. and Cutler,  
446 D.F. (Eds.), *Chorology, taxonomy and ecology of the floras of Africa and Madagascar*,  
447 155-170. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- 448 Dantas-Queiroz, M. V., Cacossi, T. d. C., Leal, B. S. S., Chaves, C. J. N., Vasconcelos, T. N.  
449 C., Versieux, L. d. M. and C. Palma-Silva. 2021. Underlying microevolutionary  
450 processes parallel macroevolutionary patterns in ancient neotropical mountains. *Journal*  
451 *of Biogeography*, 48: 2312-2327. doi: 10.1111/jbi.14154.
- 452 De Freitas Larocca, P., Mancio, J. S., Padilha, P., Mello-Silva, R. and S. Alcantara. 2022.  
453 Recent divergence in functional traits affects rates of speciation in the Neotropical  
454 Velloziaceae (Pandanales). *Botanical Journal of Linnean Society* 199: 144-172. doi:  
455 10.1093/botlinnean/boab102.
- 456 Emerson, B. C. 2002. Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to  
457 understanding pattern and process. *Molecular Ecology* 11: 951-966. doi: 10.1046/j.1365-  
458 294X.2002.01507.x.
- 459 Excoffier, L. and H. E. L Lischer. 2010. Arlequin suite version 3.5: A new series of programs  
460 to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology*  
461 *Resources*, 10: 564-567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- 462 Franceschinelli, E. V., Jacobi, C. M., Gonçalves Drummond, M. and M. F. Silveira Resende.  
463 2006. The genetic diversity of two Brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different  
464 patterns of spatial distribution and pollination. *Annals of Botany* 97: 585-592. doi:  
465 10.1093/aob/mcl007.
- 466 Gonçalves-Oliveira, R. C., Wöhrmann T., Benko-Iseppon, A. M., Krapp, F., Alves, M., das  
467 Graças L. Wanderley, M. and K. Weising. 2017. Population genetic structure of the rock  
468 outcrop species *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae): The role of pollination vs. seed

- 469 dispersal and evolutionary implications. *American Journal of Botany* 104: 868-878. doi:  
470 10.3732/ajb.1600410.
- 471 Gonçalves-Oliveira R. C., Wöhrmann, T., Weising, K., das Graças, L., Wanderley, M. and A.  
472 M. Benko-Iseppon. 2020. Genetic structure and gene flow among populations of  
473 *Encholirium magalhaesii*, a rocky grassland fields bromeliad. *Brazilian Journal of Botany*  
474 43: 283-290. doi: 10.1007/s40415-020-00600-z.
- 475 Goudet, J. 2002. Fstat Version (1.2): a computer program to calculate F-Statistics. *Journal of*  
476 *Heredity* 86: 485-486. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a111627.
- 477 Hmeljevski, K. V., dos Reis, M. S. and R. C. Forzza. 2015. Patterns of gene flow in  
478 *Encholirium horridum* L.B.Sm., a monocarpic species of Bromeliaceae from Brazil.  
479 *Journal of Heredity* 106: 93-101. doi: 10.5061/dryad.fn675.
- 480 Huson, D. H. and D. Bryant. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary  
481 studies. *Molecular Biology and Evolution* 23: 254-267. doi: 10.1093/molbev/msj030.
- 482 Jacobi, C. M. and M.C. Laboissière del Sarto. 2007. Pollination of two species of *Vellozia*  
483 (Velloziaceae) from high-altitude quartzitic grasslands, Brazil. *Acta Botanica Brasílica*  
484 21:325-333. doi: 10.1590/S0102-33062007000200007.
- 485 Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers.  
486 *Bioinformatics* 24: 1403-1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129.
- 487 Jombart, T., Devillard, S. and F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal  
488 components: a new method for the analysis of genetically structured population. *BMC*  
489 *Genetics*. 11: 94. doi: 10.1186/1471-2156-11-94.
- 490 Jombart T. and I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide  
491 SNP data. *Bioinformatics*. doi: 10.1093/bioinformatics/btr521.
- 492 Kamvar, Z. N, Tabima, J. F. and N. J. Grünwald. 2014. Poppr: an R package for genetic  
493 analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:  
494 e281. doi: 10.7717/peerj.281.

- 495 Lexer, C., Marthaler, F., Humbert, S., Barbara, T., de la Harpe, M., Bossolini, E., Paris, M.,  
496 Martinelli, G. and L. M. Versieux. 2016. Gene flow and diversification in a species  
497 complex of *Alcantarea* inselberg bromeliads. *Botanical Journal of the Linnean Society*  
498 181: n/a-n/a. doi: 10.1111/boj.12372.
- 499 Lousada, J. M., Lovato, M. B. and E. L. Borba. 2013. High genetic divergence and low genetic  
500 variability in disjunct populations of the endemic *Vellozia compacta* (Velloziaceae)  
501 occurring in two edaphic environments of the Brazilian *campos rupestres*. *Brazilian*  
502 *Journal of Botany* 36: 45-53. doi: 10.1007/s40415-013-0001-x.
- 503 Lüttge, U. 2008. *Physiological ecology of tropical plants*. Berlin: Springer-Verlag. doi:  
504 10.1007/978-3-540-71793-5.
- 505 MacArthur, R. H. and E. O. Wilson. 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton  
506 University Press. Princeton, NJ.
- 507 Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. London: Oxford University Press. doi:  
508 10.4159/harvard.9780674865327.
- 509 Mello-Silva, R. 2005. Morphological analysis, phylogenies and classification in Velloziaceae.  
510 *Botanical Journal of the Linnean Society* 148: 157-173. doi: 10.1111/j.1095-  
511 8339.2005.00399.x.
- 512 Mello-Silva, R., Santos, D. Y. A. C., Salatino, M. L. F., Motta, L. B., Cattai, M. B., Sasaski,  
513 D., Lovo, J., Pita, P. B., Rocini, C., Rodrigues, C. D. N., Zarrei, M. and M. W. Chase.  
514 2011. Five vicarious genera from Gondwana: the Velloziaceae as shown by molecules  
515 and morphology. *Annals of Botany* 108: 87-102. doi: 10.1093/aob/mcr107.
- 516 Mota, M. R., Pinheiro, F., Leal, B. S. S., Wendt, T. and C. Palma-Silva. 2018. The role of  
517 hybridization and introgression in maintaining species integrity cohesion in natural isolated  
518 inselberg bromeliad population. *Plant Biology* 21: 122-132. doi:10.1111/plb.12909.
- 519 Mota, M. R., Pinheiro, F., Leal, B. S. S., Sardelli, C. H., Wendt, T. and C. Palma-Silva. 2020.  
520 From micro- to macroevolution: insights from a Neotropical bromeliad with high

- 521 population genetic structure adapted to rock outcrops. *Heredity* 125: 353–370. doi:  
522 10.1038/s41437-020-0342-8.
- 523 Myers, M. Y., Farrant, J. M. and L.C. Roden. 2010. Preliminary characterisation of floral  
524 response of *Xerophyta humilis* to desiccation, vernalisation, photoperiod and light  
525 intensity. *Plant Growth Regulation* 62: 213-216. doi: 10.1007/s10725-010-9460-2.
- 526 Oliveira, P. E., Gibbs, P. E. and M. Bianchi. 1991. Pollination and breeding system of  
527 *Vellozia squamata* (Liliales: Velloziaceae): A species of the Brazilian cerrados. *Botanica*  
528 *Acta* 104: 392-398. doi: 10.1111/j.1438-8677.1991.tb00247.x.
- 529 Oliver, M. J., Tuba, Z. and B. D. Mishler. 2000. The evolution of vegetative desiccation  
530 tolerance in land plants. *Plant Ecology* 151: 85–100. doi: 10.1023/A:1026550808557.
- 531 Palma-Silva, C., Wendt, T., Pinheiro, F., Barbará, T., Fay, M.F., Cozzolino, S. and C. Lexer.  
532 2011. Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms  
533 involved in species cohesion and reproductive isolation in neotropical inselbergs.  
534 *Molecular Ecology* 20: 3185-3201. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05143.x.
- 535 Palma-Silva, C., Cozzolino, S., Paggi, C.M., Lexer, C. and T. Wendt. 2015. Mating system  
536 variation and assortative mating of sympatric bromeliads (*Pitcairnia* spp.) endemic to  
537 neotropical inselbergs. *American Journal of Botany* 102: 758-764. doi:  
538 10.3732/ajb.1400513.
- 539 Peakall, R. and P. E. Smouse. 2012. GenA1Ex 6.5.: genetic analysis in Excel. Population  
540 genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539. doi:  
541 10.1093/bioinformatics/bts460.
- 542 Péli, E. R. and H. Nagy-Déri. 2018. Different morpho-anatomical strategies against  
543 desiccation in five species of *Xerophyta* genus in relation to their ecophysiological  
544 aspects. *South African Journal of Botany* 118: 232-240. doi: 10.1016/j.sajb.2018.07.030.
- 545 Pinheiro, F., Cozzolino, S., Draper, D., de Barros, F., Félix, L.P., Fay, M.F. and C. Palma-  
546 Silva. 2014. Rock outcrop orchids reveal the genetic connectivity and diversity of

- 547 inselbergs of northeastern Brazil. *BMC Evolutionary Biology* 14: 49. doi: 10.1186/1471-  
548 2148-14-49.
- 549 Pinheiro, F., Zanfra de Melo, E., Gouveia, T.M., Cozzolino, S., Cafasso, D., Cardoso-  
550 Gustavson, P., Suzuki, R.M. and C. Palma-Silva. 2016. Strong but permeable barriers to  
551 gene exchange between sister species of *Epidendrum*. *American Journal of Botany* 103:  
552 1472-82. doi: 10.3732/ajb.1600064.
- 553 Piry S., Luikart, G. and J. M. Cornuet. 1999: BOTTLENECK: a computer program for  
554 detecting recent reductions in the effective populations size using allele frequency data.  
555 *Journal of Heredity* 90: 502-503. doi: 10.1093/jhered/90.4.502.
- 556 Porembski, S. and W. Barthlott. 2000. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centres  
557 of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecology* 151: 19-28. doi:  
558 10.1023/A:1026565817218.
- 559 Porembski, S. 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity  
560 patterns. *Brazilian Journal of Botany* 30: 579-586. doi: 10.1590/S0100-  
561 84042007000400004.
- 562 Pritchard, J. K., Stephens, M. and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using  
563 multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959. doi: 10.1093/genetics/155.2.945.
- 564 Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software  
565 for exact test and ecumenicism. *The Journal of Heredity* 68: 248-249. doi:  
566 10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573.
- 567 Rexroth, J., Krebs, L., Wöhrmann, T., Harpke, D., Rabarimanarivo, M., Phillipson, P. B.,  
568 Weising, K. and S. Porembski. 2019. New microsatellite markers for  
569 *Xerophyta dasyliroides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs.  
570 *Applications in Plant Sciences* 7: e11282. doi: 10.1002/aps3.11282.

- 571 Sternberg, P., Lundmark, M. and A. Saura. 2003. MLGsim: a program for detecting clones  
572 using a simulation approach. *Molecular Ecology Notes* 3: 329-331. doi: 10.1046/j.1471-  
573 8286.2003.00408.x.
- 574 Štorchová, H., Hrdličková, R., Chrtek, J., Tetera, M., Fitze D. and J. Fehrer. 2000. An  
575 improved method of DNA isolation from plants collected in the field and conserved in  
576 saturated NaCl/CTAB solution. *Taxon* 49: 97-84. doi: 10.2307/1223934.
- 577 Tebele, S. M., Marks, R. A. and J. M. Farrant. 2021. Two decades of desiccation biology: a  
578 systematic review of the best studied angiosperm resurrection plants. *Plants* 10: 2784.  
579 doi: 10.3390/plants10122784.
- 580 Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., and Shipley, P. 2004.  
581 MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in  
582 microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538. doi: 10.1111/j.1471-  
583 8286.2004.00684.x.
- 584 Wöhrmann, T., Michalak, I., Zizka, G. and K. Weising. 2020. Strong genetic differentiation  
585 among populations of *Fosterella rusbyi* (Bromeliaceae) in Bolivia. *Botanical Journal of the*  
586 *Linnean Society* 192: 744-759. doi: 10.1093/botlinnean/boz096.
- 587  
588  
589  
590  
591  
592  
593  
594  
595  
596

597 **TABLE & FIGURES**

598

599 Table 1. Plant material from 15 populations of *Xerophyta dasyliroides* collected in  
600 Madagascar and analysed in the current study including population name, location,  
601 coordinates and numbers of sampled individuals.

Population	Location	Group	$N^a$	Lat E	Long S	Altitude (m)
I	Angavokely	NC	30	47°44'19"	18°55'17"	1527.9
II	Andronovelona	NC	30	47°16'58"	18°38'05"	1493.1
III	Bowal	NC	15	47°11'38.34"	18°14'50.3"	1618.1
IV	Sambaina	NC	15	47°09'03"	18°30'37"	1391.2
V	Ambohitrifamoly	NC	20	47°11'04"	18°30'44"	1430.0
VI	Route Ampefy	NC	15	47°01'22"	17°50'10.4"	1430.3
VII	Mahatsinjo	NC	15	46°59'11.5"	17°41'41.5"	756.9
VIII	Ankazobe	NC	15	47°01'22"	17°50'10.6"	1430.0
IX	Manjakandriana	NC	75	47°43'43.62"	18°53'28.58"	1539.5
X	Bemanta	SC	15	47°07'49.4"	20°40'46.4"	1278.0
XI	Maharavana	SC	15	47°17'30.1"	20°45'22.7"	1451.0
XII	Ambatoiharana	SC	15	47°13'07.9"	21°09'21.4"	1603.0
XIII	Tsarasaotra	SC	15	47°12'27.7"	20°26'59.3"	1286.0
XIV	Ambalamarina	SC	15	47°03'02.5"	21°27'49.7"	1674.0
XV	Andranovorivato	SC	15	46°58'58.4"	21°40'31.9"	1178.0

Note: NC = Northern Cluster; SC = Southern Cluster,  $N^a$  = sampling size.

602 <sup>a</sup> Voucher deposited at the Herbarium of the Parc Botanique et Zoologique of Tsimbazaza in Antananarivo (TAN)

603

604

605 Table 2. Summary of genetic diversity parameters at nine microsatellite loci across nine  
606 natural populations of the northern cluster (NC) and six populations of the southern cluster.  
607 (SC).

Locus	NC (N = 230)							SC (N = 90)						
	A	$A_R$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$	$N_m$	A	$A_R$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$	$N_m$
Xeda_13	13	6.793	0.318	0.273	-0.166	0.451	0.304	10	1.000	0.333	0.370	0.099	0.472	0.280
Xeda_15	8	5.567	0.486	0.384	-0.266	0.440	0.318	10	2.000	0.322	0.443	0.273	0.478	0.274
Xeda_18	12	2.000	0.329	0.434	0.243	0.352	0.460	4	3.000	0.322	0.260	-0.241	0.257	0.723
Xeda_23	8	2.935	0.591	0.551	-0.073	0.296	0.594	3	1.000	0.322	0.267	-0.215	0.565	0.193
Xeda_28	8	3.000	0.355	0.356	0.005	0.505	0.245	6	2.000	0.322	0.507	0.308	0.377	0.413
Xeda_31	20	5.546	0.386	0.600	0.357	0.342	0.482	15	6.000	0.222	0.533	0.583	0.246	0.765
Xeda_34	24	4.754	0.291	0.419	0.300	0.529	0.223	19	4.000	0.400	0.729	0.452	0.216	0.907
Xeda_39	14	3.258	0.867	0.551	-0.573	0.358	0.447	14	2.000	0.844	0.533	-0.586	0.331	0.506
Xeda_40	21	5.016	0.436	0.641	0.319	0.290	0.613	3	1.000	0.090	0.444	0.783	0.557	0.199
Overall/Mean	128	4.319	0.451	0.468	0.029	0.393	0.383	84	2.444	0.353	0.454	0.204	0.393	0.386

Note: A = number of alleles;  $A_R$  = allelic richness;  $H_O$  = observed heterozygosity;  $H_E$  = expected heterozygosity;  $F_{IS}$  = inbreeding coefficient;  $F_{ST}$  = fixation index;  $N_m$  = Gene flow estimated from  $N_m = 0.25(1 - F_{ST})/F_{ST}$ .

608

609

610 Table 3. Within-population genetic diversity estimates for 15 natural inselberg populations of  
 611 *Xerophyta dasylirioides* ( $N=320$ ).

Populations	$N^a$	$A$	$A_p$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$P$	$N_C$ (iMLG)	$R$
I	30	5	6	0.601	0.607	0.003 *	100	2 (1)	0.931
II	30	6	7	0.502	0.606	0.155 *	89	-	1
III	15	3	5	0.278	0.345	-0.055	100	-	1
IV	15	4	3	0.552	0.518	-0.143 *	89	-	1
V	20	4	5	0.600	0.551	0.196 *	78	-	1
VI	15	3	6	0.458	0.426	-0.094	89	-	1
VII	15	1	2	0.059	0.140	0.415	44	12 (4)	0.286
VIII	15	3	1	0.356	0.406	0.152	89	-	1
IX	75	6	10	0.653	0.612	-0.086 *	100	4 (2)	0.959
X	15	3	7	0.367	0.354	-0.054	67	-	1
XI	15	3	8	0.300	0.396	0.235 *	89	-	1
XII	15	3	3	0.433	0.453	0.012	100	-	1
XIII	15	5	10	0.400	0.581	0.248 *	89	-	1
XIV	15	4	5	0.400	0.488	0.075	89	-	1
XV	15	3	5	0.417	0.459	0.017 *	78	-	1
Overall/Mean	21	56	6	0.425	0.463	0.072	86	18	0.953

Note:  $N^a$  = sampling size;  $A$  = number of alleles;  $A_p$  = number of private alleles;  $H_O$  = observed heterozygosity;  $H_E$  = expected heterozygosity;  $F_{IS}$  = inbreeding coefficient; \* = departure from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) at the  $p < 0.05$  level;  $P$  = percentage of polymorphic loci;  $N_C$  (iMLG) = number of clonal individuals (identical multilocus genotypes);  $R$  = genotypic richness.

612 <sup>a</sup> Voucher deposited at the Herbarium of the Parc Botanique et Zoologique of Tsimbazaza in Antananarivo (TAN)

613

614

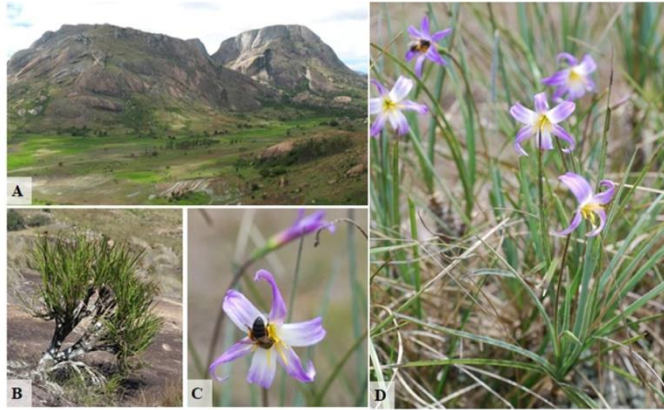
615 Table 4. Analysis of molecular variance (AMOVA) for nine nuclear loci in populations of  
 616 *X. dasylirioides*.

Source of variation	<i>d.f.</i>	Variance components	Percentage variation	<i>p</i> -value
NC				
Among populations	8	1.404	36.99	< 0.001
Within populations	230	2.390	63.00	< 0.001
Overall $F_{ST}$ : 0.370				
SC				
Among populations	5	1.148	37.91	< 0.001
Within populations	90	1.880	62.09	< 0.001
Overall $F_{ST}$ : 0.379				
Overall				
Among region NC and SC	1	0.675	9.42	< 0.001
within region NC and SC	320	6.489	90.58	< 0.001

617 *d.f.*: degrees of freedom

618

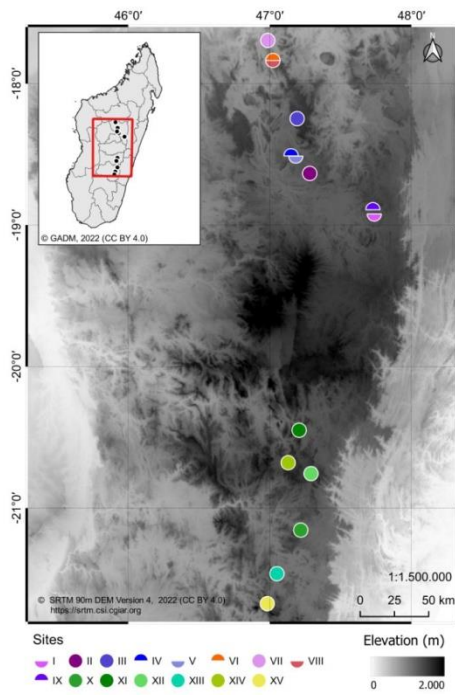
619



620

621 Figure 1. Habitus and typical inselberg habitat of *X. dasylirioides*. A: Inselberg in Central  
622 Malagasy; B: Habitus of the species; C-D: Inflorescences visited by a bee that probably acts  
623 as a pollinator. Photos by S. Porembski.

624

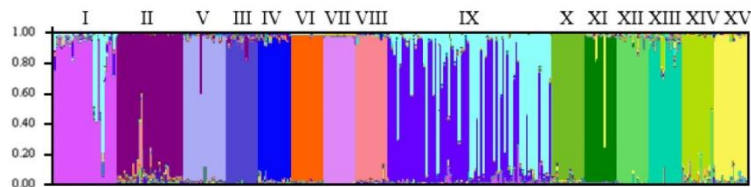


625

626 Figure 2. Geographic distribution of the 15 sampled inselberg populations of *X. dasyliroides*  
 627 coded in different colours.

628

629

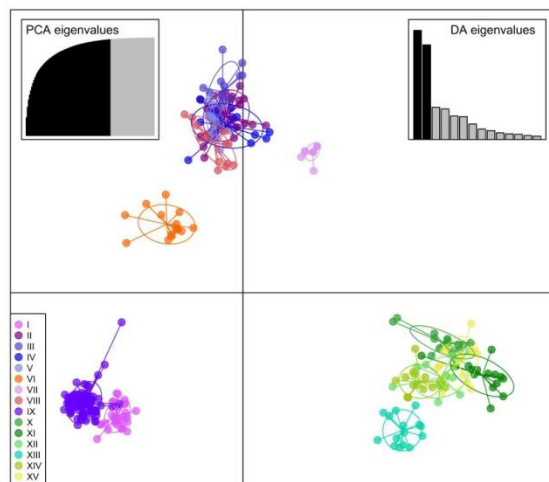


630

631 Figure 3. Bayesian clustering of 320 individuals of *Xerophyta dasyliroides* from 15 inselberg  
 632 populations, suggested by a STRUCTURE analysis based on nuclear microsatellite data of for  
 633  $K = 16$ . Each colour represents a different genetic cluster. For colour coding see Fig. 2. The  
 634 roman numerals I-XV above the bar plot represent the names of the individual populations.

635

636

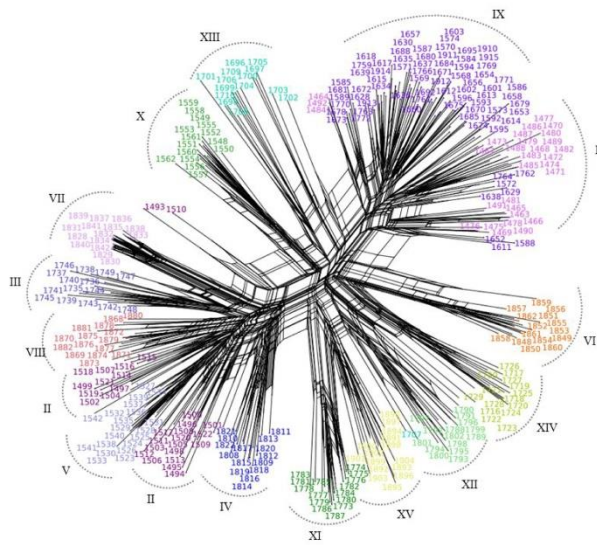


637

638 Figure 4. Scatterplot of discriminant analysis (DAPC) of the multilocus microsatellite data of  
 639 320 individuals from 15 populations (I-XV) of *X. dasyliroides*. Individual = plot, groups =  
 640 colours and ellipses. Each population is coded in a different colour. The first 80 principal  
 641 components of the PCA were used (lowest Root Mean Squared Error) and 14 discriminant  
 642 functions (DA), where the x-axis represents the first DA and the y-axis the second DA.

643

644



645

646 Figure 5. Unrooted Neighbour-Net splits graph from Bruvo's pairwise inter-individual genetic  
 647 distances, based on nuclear microsatellite data of 320 individuals of *Xerophyta dasyliroioides*  
 648 from 15 natural inselberg populations. Colour coding is done as in Fig. 2 and assigns each  
 649 individual to its population indicated by roman numerals (I to XV).

## Erklärung über den Eigenanteil an den Publikationen

1. Publikation: J. Rexroth, L. Krebes, T. Wöhrmann, D. Harpke, M. Rabarimanarivo, P. Phillipson, K. Weising and S. Porembski. 2019. **New microsatellite markers for *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs.** Application in Plant Science 7:e11282. doi: 10.1002/aps3.11282.

### Konzeptbildung und Versuchsplanung:

Die Konzeptbildung und die Versuchsplanung wurden von Frau Rexroth selbständig erstellt, wobei von Frau Dr. Wöhrmann und Herr Prof. Weising eine Überarbeitung erfolgte.

### Durchführung der Experimente:

Die Experimente innerhalb dieser Publikation wurden von Frau Rexroth selbständig durchgeführt, wobei Herr Dr. Krebes beratend unterstützte.

### Statistische Auswertung:

Die statistische Auswertung wurde von Frau Rexroth selbständig durchgeführt, wobei Frau Dr. Wöhrmann beratend unterstützte.

### Schreiben der Veröffentlichung:

Das Manuskript wurde von Frau Rexroth selbständig entworfen und geschrieben. Eine anschließende kritische Überarbeitung erfolgte durch Frau Dr. Wöhrmann, Herr Prof. Weising und Herr Prof. Porembski.

2. Publikation: S. Porembski, J. Rexroth, K. Weising, L. Bondi, R. Mello-Silva, D.C. Centeno, M.N. Datar, A. Watve, A. Thiobano, E. Tindano, M.N. Rabarimanarivo, L.F.A. de Paula. 2021. **An overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on tropical inselbergs.** Flora 28:151953. doi: 10.1016/j.flora.2021.151953.

### Konzeptbildung und Versuchsplanung:

Die Konzeptbildung und die Versuchsplanung wurden von Herr Prof. Porembski, Frau Rexroth und Frau Dr. de Paula erstellt, wobei von Herr Prof. Weising und Prof. Centeno eine Überarbeitung erfolgte.

### Feldstudien und Statistische Auswertung:

Die Feldstudien und Statistische Auswertung wurden von Herr Prof. Porembski, Frau Rexroth, Herr Bondi, Herr Datar und Frau Dr. de Paula durchgeführt.

Schreiben der Veröffentlichung:

Das Manuskript wurde von Herr Prof. Porembski, Frau Rexroth und Frau Dr. de Paula entworfen und geschrieben. Eine anschließende kritische Überarbeitung erfolgte durch alle aufgelisteten Ko-Autoren.

3. Publikation: J. Rexroth, C. Porsche, R. Bastrop, M. Rabarimanarivo, K. Weising and S. Porembski. **Population genetic structure of the Malagasy inselberg species *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications.** (*submitted*)

Konzeptbildung und Versuchsplanung:

Die Konzeptbildung und die Versuchsplanung wurden von Frau Rexroth selbständig erstellt, wobei von Prof. Weising beratend zur Seite stand.

Durchführung der Experimente:

Die Experimente innerhalb dieser Publikation wurden von Frau Rexroth selbständig durchgeführt.

Statistische Auswertung:

Die statistische Auswertung wurde von Frau Rexroth selbständig durchgeführt, wobei Herr Dr. Porsche beratend unterstützte.

Schreiben der Veröffentlichung:

Das Manuskript wurde von Frau Rexroth selbständig entworfen und geschrieben. Eine anschließende kritische Überarbeitung erfolgte durch alle aufgelisteten Ko-Autoren.

## Literaturverzeichnis

- Abdelkrim, J., Robertson, B.C., Stanton, J.A.L., Gemmel, N.J. 2009. Fast, cost-effective development of species-specific microsatellite markers by genomic sequencing. *Biotechniques* 46:185-192. doi: 10.2144/000113084.
- Adams, K.L., Wendel, J.F. 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 8:135-41. doi: 10.1016/j.pbi.2005.01.001.
- Aidar, S.T., Meirelles, S.T., Pocius, O., Delitti, W.B.C., Souza, G.M., Gonçalves, A.N. 2010. Desiccation tolerance in *Pleurostima purpurea* (Velloziaceae). *Plant Growth Regulation* 62:193–202. doi: 10.1007/s10725-010-9491-8.
- Alcantara, S., de Mello-Silva, R., Teodoro, G.S., Drequeceler, K., Ackerly, D.D., Oliveira, R.S. 2015. Carbon assimilation and habitat segregation in resurrection plants: a comparison between desiccation and non-desiccation tolerant species of neotropical Velloziaceae (Pandanales). *Functional Ecology* 29:1499-1512. doi: 10.1111/1365-2435.12462.
- Alcantara, S., Ree, R.H., de Mello-Silva, R. 2018. Accelerated diversification and functional trait evolution in Velloziaceae reveal new insights into the origins of the *campos rupestres*' exceptional floristic richness. *Annals of Botany* 122:165–180. doi: 10.1093/aob/mcy063.
- Ali, A., Pan, Y.B., Wang, Q.N., Wang, J.D., Chen, J.L., Gao, S.J. 2019. Genetic diversity and population structure analysis of *Saccharum* and *Erianthus* genera using microsatellite (SSR) markers. *Scientific Reports* 9:1–10. doi: 10.1038/s41598-018-36630-7.
- Antonelli, A., Kissling, W.D., Flantua, S.G.A., Bermúdez, M.A, Mulch, A., Muellner-Riehl, Kreft, H., Linder, H.P., Badgley, C., Fjeldså, J., Fritz, S.A., Rahbek, C., Herman, F., Hooghiemstra, H., Hoorn, C. 2018. Geological and climatic influences on mountain biodiversity. *Nature Geoscience* 11:718–725. doi: 10.1038/s41561-018-0236-z.
- Baduel, P., Bray, S., Vallejo-Marin, M., Kolář, F., Yant, L. 2018. The “Polyploid Hop”: shifting challenges and opportunities over the evolutionary lifespan of genome duplications. *Frontiers in Ecology and Evolution* 6:1–19. doi: 10.3389/fevo.2018.00117.
- Bao-Chun, G. 2017. Systematic study of Acanthochlamydaceae - a new endemic family of China. *Universal Journal of Agricultural Research* 5:85–9. doi: 10.13189/ujar.2017.050202.
- Barbará, T., Martinelli, G., Fay, M.F., Mayo, S.J., Lexer, C. 2007. Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical high-altitude ‘inselbergs’: *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). *Molecular Ecology* 16:1981-1992. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03272.x.
- Barbará, T., Martinelli, G., Palm-Silva, C., Fay, M.F., Mayo, S., Lexer, C. 2009. Genetic relationships and variation in reproductive strategies in four closely related bromeliads adapted to neotropical ‘inselbergs’: *Alcantarea glaziouana*, *A. reina*, *A. geniculata* and *A. imperialis* (Bromeliaceae). *Annals of Botany* 103:65-77. doi: 10.1093/aob/mcn226.
- Barbosa, A.R., Fiorini, C.F., Silva-Pereira, V., Mello-Silva, R., Borba, E.L. 2012. Geographical genetic structuring and phenotypic variation in the *Vellozia hirsuta* (Velloziaceae) ochlopecies complex. *American Journal of Botany* 99:1477-1488. doi: 10.3732/ajb.1200070.
- Behnke, H.D., Treutlein, J., Wink, M., Kramer, K., Schneider, C., Kao, P.C. 2000. Systematics and evolution of Velloziaceae, with special reference to sieve-element plastids and *rbcL* sequence data. *Botanical Journal of Linnean Society* 13:93-129. doi: 10.1006/bojl.2000.0366.
- Behnke, H.D., Hummel, E., Hillmer, S., Sauer-Gürth, H., Gonzalez, J., Wink, M. 2013. A revision of African Velloziaceae based on leaf anatomy characters and *rbcL* nucleotide sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 172:22-94. doi: 10.1111/boj.12018.

- Bhargava, A., Fuentes, F.F. 2010. Mutational dynamics of microsatellites. *Molecular Biotechnology* 44:250-266. doi: 10.1007/s12033-009-9230-4.
- Bremer, H., Sander, H. 2000. Inselbergs: Geomorphology and Geoecology. In: Porembski, S. and Barthlott, W. (Eds.) *Inselbergs-biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions*, Vol. 146, pp. 7–35. Berlin: Springer-Verlag.
- Buerki, S., Devey, D.S., Callmander, M.W., Phillipson, P.B., Forest, F. 2013. Spatio-temporal history of the endemic genera of Madagascar. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171:304-329. doi: 10.1111/boj.12008.
- Burke, A. 2003. Inselbergs in a changing world – global trends. *Diversity and Distribution* 9:375-383. doi: 10.1046/j.1472-4642.2003.00035.x.
- Byng, J.W. 2014. *The Flowering Plants Handbook: A practical guide to families and genera of the world*. Plant Gatewas Ltd., Hertford, United Kingdom, pp. 57-60. doi: 10.13140/2.1.1849.8566.
- Byrne, M., Hopper, S. 2007. Granite outcrops as acient island in old landscapes: evidence from the phylogeography and population genetics of *Eucalyptus caesia* (Myrtaceae) in Western Australia. *Botanical Journal of the Linnean Society* 93:177-188. doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00946.x.
- Cabral, A., Luebert, F., Mello-Silva, R. 2021. Evidence for middle miocene origin and morphological evolutionary stasis in a *Barbacenia* inselberg clade (Velloziaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 161:107163. doi: 10.1016/j.ympev.2021.107163.
- Campos, P.V, Schaefer, C.E.G.R., Pontara, V., Senra, E.O., Viana, P.L., Oliveira, F.S., Candido, H.G., Villa, P.M. 2021. Exploring the relationship between soil and plant evolutionary diversity in the Roraima table mountain OCBIL, Guayana Highlands. *Biological Journal of the Linnean Society* 133:587–603, doi: 10.1093/biolinnean/blab013.
- Cannon, C.H., Lerda, M. 2015. Variable mating behaviors and the maintenance of tropical biodiversity. *Frontiers in Genetics* 6:138. doi: 10.3389/fgene.2015.00183.
- Costa, M.C., Artur, M., Maia, J., Jonkheer, E., Derks, M.F.L., Nijveen, H., Williams, B., Mundree, S.G., Jiménez-Gómez, J.M., Hesselink, T., Schijlen, E.G.W.M., Ligterink, W., Oliver, M.J., Farrant, J.M., Hilhorst, H.W.M. 2017. A footprint of desiccation tolerance in the genome of *Xerophyta viscosa*. *Nature Plants* 3:17038. doi: 10.1038/nplants.2017.38.
- Cronk, Q.C.B. 1998 . The ochlopecies concept. In: Huxley, C.R., Lock, J.M. and Cutler, D.F. (Eds.), *Chorology, taxonomy and ecology of the floras of Africa and Madagascar*, pp. 155-170. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T., Yeo, P.F. 1985. *The families of the monocotyledons - Structure, evolution and taxonomy*, pp. 326–328, Berlin: Springer-Verlag.
- Dantas-Queiroz, M.V., Cacossi, T.d.C., Leal, B.S.S., Chaves, C.J.N., Vasconcelos, T.N.C., Versieux, L.d.M., Palma-Silva, C. 2021. Underlying microevolutionary processes parallel macroevolutionary patterns in ancient neotropical mountains. *Journal of Biogeography*, 48:2312-2327. doi: 10.1111/jbi.14154.
- Darwin, C. 1860. On the origin of species means of natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for life. *The British and Foreign Medico-Chirurgical Review* 25:367-404.
- Deeba, F., Pandey, V. 2017. Adaptive mechanisms of desiccation tolerance in resurrection plants. In: Shukla, V., Kumar, S., Kumar, N. (Eds). *Plant adaptation strategies in changing environment*. Springer, Singapore, pp. 29–75. doi: 10.1007/978-981-10-6744-0\_2.
- De Freitas Larocca, P., Mancio, J.S., Padilha, P., Mello-Silva, R., Alcantara, S. 2022. Recent divergence in functional traits affects rates of speciation in the Neotropical Velloziaceae (Pandanales). *Botanical Journal of Linnean Society* 199:144-172. doi: 10.1093/botlinnean/boab102.

- De Melo, N.F., Guerra, M., Benko-Iseppon, A.M., de Menezes, N.L. 1997. Cytogenetics and cytotaxonomy of Velloziaceae. *Plant Systematics and Evolution* 204:257–273.
- Duarte-Barbosa, M., Bajay, M.M., Zucchi, M.I., Pivello, V.R. 2015. Development and characterization of 47 novel microsatellite markers for *Vellozia squamata* (Velloziaceae). *Application in Plant Sciences* 3:1400087. doi: 10.3732/apps.1400087.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H.A., Caskey, C.T. 1991. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics* 49:746-756.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5:435–445. doi: 10.1038/nrg1348.
- Emerson, B.C. 2002. Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular Ecology* 11:951-966. doi: 10.1046/j.1365-294X.2002.01507.x.
- Ennos, R.A. 1994. Estimating the relative rates of pollen and seed migration among populations. *Heredity* 72:250-259. doi: 10.1038/hdy.1994.35.
- Farrant, J.M., Brandt, W., Lindsey, G.G. 2007. An overview of mechanisms of desiccation tolerance in selected angiosperm resurrection plants. *Plant Stress* 1:72-84.
- Farrell, L.L., Burke, T., Slate, J., Lank, D.B. 2013. A first-generation microsatellite linkage map of the ruff. *Ecology and Evolution* 3:4631-4640. doi: 10.1002/ece3.830.
- Field, D., Wills, C. 1998. Abundant microsatellite polymorphism in *Saccharomyces cerevisiae*, and the different distribution of microsatellites in eight prokaryotes and *S. cerevisiae*, result from strong mutation pressures and a variety of selective forces. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* Vol. 95, pp. 1647-1652. doi: 10.1073/pnas.95.4.1647.
- Fiorini, C.F., Miranda, M.D., Silva-Pereira, V., Barbosa, A.R., de Oliveira, U., Kamino, L.H.Y., de Oliveira Mota, N.F., Viana, P.L., Borba, E.L. 2019. The phylogeography of *Vellozia auriculata* (Velloziaceae) supports low zygotic gene flow and local population persistence in the campo rupestre, a Neotropical OCBIL. *Botanical Journal of the Linnean Society* 191:381–398. doi: 10.1093/botlinnean/boz051.
- Franceschinelli, E.V., Jacobi, C.M., Gonçalves Drummond, M., Silveira Resende, M.F. 2006. The genetic diversity of two brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different patterns of spatial distribution and pollination. *Annals of Botany* 97:585-592. doi: 10.1093/aob/mcl007.
- Gaff, D.F. 1977. Desiccation tolerant vascular plants of southern Africa. *Oecologia* 31:95–109. doi:10.1007/BF00348713.
- Gaff, D.F., Oliver, M. 2013. The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: a rare yet common phenomenon. *Functional Plant Biology* 40:315-328. doi: 10.1071/FP12321.
- Ganzhorn, J.U., Lowry, P.P. 2<sup>nd</sup>, Schatz, G.E., Sommer, S. 2001. The biodiversity of Madagascar: one of the world's hottest hotspots on its way out: *Oryx* 35:346-248. doi. 10.1046/j.1365-3008.2001.00201.x.
- Gillespie, R.G. 2005. Island time and the interplay between ecology and evolution in species diversification. *Evolutionary Applications* 9:53-73. doi : 10.1111/eva.12302.
- Givnish, T.J. 1998. Adaptive radiation of plants on oceanic islands: classical patterns, molecular data, new insights. In *Evolution on islands* (ed. Grant P.), pp. 281–304 New York, NY: Oxford University Press.
- Gonçalves-Oliveira, R.C., Wöhrmann T., Benko-Iseppon, A.M., Krapp, F., Alves, M., das Graças L. Wanderley, M., Weising, K. 2017. Population genetic structure of the rock outcrop species *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae): The role of pollination vs. seed dispersal and evolutionary implications. *American Journal of Botany* 104:868-878. doi: 10.3732/ajb.1600410.

- Goodman, S., Benstead, J. 2005. Updated estimates of biotic diversity and endemism for Madagascar. *Oryx* 39:73-77. doi: 10.1017/S0030605305000128.
- Graças Sajo, M., Mello-Silva, R., Rudall, P. 2010. Homologies of floral structures in Velloziaceae with particular reference to the Corona. *International Journal of Plant Sciences* 171:595-606. doi: 10.1086/653132.
- Gracia-Verdugo, C., Caujapé-Castells, J., Sanmartín, I. 2019. Colonization time on island settings: lesson from the Hawaiian and the Canary Island floras. *Botanical Journal of the Linnean Society* 191:155-163. doi: 10.1093/botlinnean/boz044.
- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Léger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malausa, T., Revardel, E., Salin, F., Petit, R.J. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11:591-611. doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x.
- Guicking, D., Fiala, B., Kroger-Kilian, T., Mohamed, M., Weising, K. 2013. High gene flow in two thrips-pollinated South - East Asian pioneer trees: genetic diversity and population structure of *Macaranga hypoleuca* and *M. beccariana* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 173:606-621. doi: 10.1111/boj.12100.
- Gupta, P.K., Balyan, H.S., Sharma, P.C., Ramesh, B. 1996. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. *Current Science* 45:45-54. doi: 10.1038/nm0496-437.
- Hancock, J.M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. In: Goldstein, D.B. and Schlötterer, C. (Eds). *Microsatellites: Evolution and Applications* 3-9. Oxford University Press, New York.
- Harland, S.C. 1950. Introgressive Hybridization. *Nature* 166:243–244. doi: 10.1038/166243b0.
- Hatterer, H.H. 1982. Genetic Distance Between populations: Part 3: Wahlunds principle as related to genetic distance and an application. *Theoretical and Applied Genetics* 62:219-223. doi: 10.1007/BF00276242.
- Hmeljevski, K.V., dos Reis, M.S., Forzza, R.C. 2015. Patterns of gene flow in *Encholirium horridum* L.B.Sm., a monocarpic species of Bromeliaceae from Brazil. *Journal of Heredity* 106:93-101. doi: 10.5061/dryad.fn675.
- Hopper, S.D., Silveira, F.A., Fiedler, P.L. 2016. Biodiversity hotspots and Ocbil theory. *Plant and Soil* 403:167–216. doi: 0.1093/biolinnean/blaa213/6118895.
- Ibisch, P.L., Nowicki, C., Vásquez, R., Koch, K. 2001. Taxonomy and biology of andean Velloziaceae: *Vellozia andina* sp. nov. and Notes on *Barbaceniopsis* (including *Barbaceniopsis castillonii* comb. nov.) *Systematic Botany* 26:5.16. doi: 10.1043/0363-6445-26.1.5.
- Jacob, H.J., Lindpaintner, K., Lincoln, S.E., Kusumi, K., Bunker, R.K., Mao Y.P., Ganten, D., Dzau, V.J., Lander, E.S. 1991. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell* 67:213-224. doi: 10.1016/0092-8674(91)90584-1.
- Jacobi, C.M., Laboissière del Sarto, M.C. 2007. Pollination of two species of *Vellozia* (Velloziaceae) from high-altitude quartzitic grasslands, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 21:325-333. doi: 10.1590/S0102-33062007000200007.
- Jones, B.L., Waycott, M., Robson, H.L., Calladine, A., Page, T. 2010. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Santalum lanceolatum* and *Santalum leptocladum* (Santalaceae). *American Journal of Botany* 97:e97-8. doi: 10.3732/ajb.1000213.
- Kashi, Y., Soller, M. 1999. Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: Goldstein, D.B. and Schlötterer, C. (Eds). *Microsatellites: Evolution and Applications*, pp.10-23. Oxford University Press, New York.

- Kelkar, Y.D., Tyekucheveva, S., Chiaromonte, F., Makova, K.D. 2008. The genome-wide determinants of human and chimpanzee microsatellite evolution. *Genome Research* 18:30-38. doi: 10.1101/gr.7113408.
- Kew – plants of the world online (POWO, 2017), Missouri Botanical Garden, New York Botanical Garden, Royal Botanic Garden Edinburgh, Royal Botanic Gardens, Kew: <https://powo.science.kew.org/>; accessed on: 30 Dec 2022.
- Kew Science - The World Flora Online (WFO, 2022): <http://www.worldfloraonline.org/>; accessed on: 30 Dec 2022.
- Kubitzki, K. 1998. Velloziaceae. In: Kubitzki, K. (Editor). The families and genera of vascular plants. Vol. 3. Flowering plants, monocotyledons, Liliaceae (except Orchidaceae), pp. 459–467. Berlin: Springer-Verlag.
- Kimura, M., Crow, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-38. doi: 10.1093/genetics/49.4.725.
- Kimura, M., Ohta, T. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 75:2868-2872. doi: 10.1073/pnas.75.6.2868.
- Lemes, M.R., Gribel, R., Proctor, J., Grattapaglia, D. 2003. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* KING, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. *Molecular Ecology* 12:2875-2883. doi: 10.1046/j.1365-294x.2003.01950.x.
- Levinson, G., Gutman, G.A. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution* 4:203-221. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040442.
- Lexer, C., Marthaler, F., Humbert, S., Barbará, T., de la Harpe, M., Bossolini, E., Paris, M., Martinelli, G., Versieux, L.M. 2016. Gene flow and diversification in a species complex of *Alcantarea* inselberg bromeliads. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181:n/a-n/a. doi: 10.1111/boj.12372.
- Linder, H.P., Barker, N.P. 2014. Does polyploidy facilitate long-distance dispersal? *Annals of Botany* 113:1175-1183. doi: 10.1093/aob/mcu047.
- Litt, M., Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44:397-40.
- Lousada, J.M., Borba, E.L., Ribeiro, K.T., Ribeiro, L.C., Lovato, M.B. 2011. Genetic structure and variability of the endemic and vulnerable *Vellozia gigantea* (Velloziaceae) associated with the landscape in the Espinhaço Range, in southeastern Brazil: implications for conservation. *Genetica* 139:431-440. doi: 10.1007/s10709-011-9561-5.
- Lousada, J.M., Lovato, M.B., Borba, E.L. 2013. High genetic divergence and low genetic variability in disjunct populations of the endemic *Vellozia compacta* (Velloziaceae) occurring in two edaphic environments of the Brazilian *campos rupestres*. *Brazilian Journal of Botany* 36:45-53. doi: 10.1007/s40415-013-0001-x.
- Lüttge, U. 2008. Physiological ecology of tropical plants. Berlin: Springer-Verlag, Heidelberg, Vol. 2, pp. 379-418. doi: 10.1007/978-3-540-71793-5.
- Lüttge, U., Beck, E., Bartels, D. 2011. Plant desiccation tolerance. *Ecological Studies*, Vol. 215 Heidelberg: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-3-642-19106-0.
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O. 1967. The theory of island biogeography. Princeton University Press. Princeton, NJ.

- Marks, R.A., Farrant, J.M., Nicholas McLetchie, D., VanBuren, R. 2021. Unexplored dimensions of variability in vegetative desiccation tolerance. *American Journal of Botany* 108:346-358. doi: 10.1002/ajb2.1588.
- Martins, L.C., Paiva, E.A. 2016. Flammable resin in *Vellozia variabilis* (Velloziaceae): Gland structure and chemical composition. *Flora* 219:94-100. doi: 10.1016/J.FLORA.2016.01.004.
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. London: Oxford University Press. doi: 10.4159/harvard.9780674865327.
- Mello-Silva, R. 2005. Morphological analysis, phylogenies and classification in Velloziaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 148:157-173. doi: 10.1111/j.1095-8339.2005.00399.x.
- Mello-Silva, R., Santos, D.Y.A.C., Salatino, M.L.F., Motta, L.B., Cattai, M.B., Sasaski, D., Lovo, J., Pita, P.B., Rocini, C., Rodrigues, C.D.N., Zarrei, M., Chase, M.W. 2011. Five vicarious genera from Gondwana: the Velloziaceae as shown by molecules and morphology. *Annals of Botany* 108:87-102. doi: 10.1093/aob/mcr107.
- Mittermeier, R.A., Ryland, A.B. 2017. *Biodiversity Hotspots*. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-409548-9.09962-0.
- Morgante, M., Hanafey, M., Powell, W. 2002. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics* 30:194-200. doi: 10.1038/ng822.
- Moran, N.A. 1992. The Evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *The American Naturalist* 139:971-989. doi: 10.1086/285369.
- Mota, M.R., Pinheiro, F., Leal, B.S.S., Wendt, T., Palma-Silva, C. 2018. The role of hybridization and introgression in maintaining species integrity cohesion in natural isolated inselberg bromeliad population. *Plant Biology* 21:122-132. doi:10.1111/plb.12909.
- Mota, M.R., Pinheiro, F., Leal, B.S.S., Sardelli, C.H., Wendt, T., Palma-Silva, C. 2020. From micro- to macroevolution: insights from Neotropical bromeliad with high population genetic structure adapted to rock outcrops. *Heredity* 125:353–370. doi: 10.1038/s41437-020-0342-8.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51:263-273. doi: 10.1101/sqb.1986.051.01.032.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858. doi: 10.1038/35002501.
- Myers, M.Y., Farrant, J.M., Roden, L.C. 2010. Preliminary characterisation of floral respons of *Xerophyta humilis* to desiccation, vernalisation, photoperiod and light intensity. *Plant Growth Regulation* 62:213-216. doi: 10.1007/s10725-010-9460-2.
- Nascimento de Sousa, S., Finkeldey, R., Gailing, O. 2005. Experimental verification of microsatellite null alleles in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): Implications for population genetic studies. *Plant Molecular Biology report* 23:113-119. doi: 10.1007/BF02772701.
- Nge, F.J., Biffin, E., Thiele, K.R., Waycott, M. 2021. Reticulate evolution, ancient chloroplast haplotypes, and rapid radiation of the Australian plant genus *Adenanthos* (Proteaceae). *Frontiers in Ecology and Evolution* 8:616741. doi: 10.3389/fevo.2020.616741.
- Oliveira, P.E., Gibbs, P.E., Bianchi, M. 1991. Pollination and breeding system of *Vellozia squamata* (Liliales: Velloziaceae): A species of the brazilian cerrados. *Botanica Acta* 104:392-398. doi: 10.1111/j.1438-8677.1991.tb00247.x.
- Oliver, M.J., Tuba, Z., Mishler, B.D. 2000. The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. *Plant Ecology* 151:85–100. doi: 10.1023/A:1026550808557.
- Palma-Silva, C., Wendt, T., Pinheiro, F., Barbará, T., Fay, M.F., Cozzolino, S., Lexer, C. 2011. Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms involved in species

- cohesion and reproductive isolation in neotropical inselbergs. *Molecular Ecology* 20:3185-3201. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05143.x.
- Palma-Silva, C., Cozzolino, S., Paggi, C.M., Lexer, C., Wendt, T. 2015. Mating system variation and assortative mating of sympatric bromeliads (*Pitcairnia* spp.) endemic to neotropical inselbergs. *American Journal of Botany* 102:758-764. doi: 10.3732/ajb.1400513.
- Patiño, J., Whittaker, R.J., Borges, P.A.V., Fernández-Palacios, J.M., Ah-Peng, C., Araújo, M.B., Ávila, S.P., Cardoso, P., Cornuault, J., de Boer, E.J., de Nascimento, L., Gil, A., González-Castro, A., Gruner, D.S., Heleno, R., Hortal, J., Illera, J.C., Kaiser-Bunbury, C.N., Matthews, T.J., Papadopoulou, A., Pettoelli, N., Price, J.P., Santos, A.M.C., Steinbauer, M.J., Triantis, K.A., Valente, L., Vargas, P., Weigelt, P., Emerson, B.C. 2017. A roadmap for island biology: 50 fundamental questions after 50 years of *The Theory of Island Biogeography*. *Journal of Biogeography* 44:963-983. doi: 10.1111/jbi.12986.
- Pease, J.B., Hahn, M.W. 2015. Detection and polarization of Introgression in a five-taxon phylogeny. *Systematic Biology* 64:651-662. doi: 10.1093/sysbio/syv023.
- Péli, E.R., Nagy-Déri, H. 2018. Different morpho-anatomical strategies against desiccation in five species of *Xerophyta* genus in relation to their ecophysiological aspects. *South African Journal of Botany* 118:232-240. doi: 10.1016/j.sajb.2018.07.030.
- Pinheiro, F., Cozzolino, S., Draper, D., de Barros, F., Félix, L.P., Fay, M.F., Palma-Silva, C. 2014. Rock outcrop orchids reveal the genetic connectivity and diversity of inselbergs of northeastern Brazil. *BMC Evolutionary Biology* 14:49. doi: 10.1186/1471-2148-14-49.
- Pinheiro, F., Zanfra de Melo, E., Gouveia, T.M., Cozzolino, S., Cafasso, D., Cardoso-Gustavson, P., Suzuki, R.M., Palma-Silva, C. 2016. Strong but permeable barriers to gene exchange between sister species of *Epidendrum*. *American Journal of Botany* 103:1472-82. doi: 10.3732/ajb.1600064.
- Pitrez, S.R., Andrade, L.A., Assis, F.N.M., Felix, L.P. 2014. Is there a relationship between polyploidy and stressful environments? A case study of inselbergs in northeastern Brazil. *Genetics and Molecular Research* 13:8353-8366. doi: 10.4238/2014.October.20.11.
- Porembski, S., Barthlott, W. 1995. On the occurrence of a velamen radicum in Cyperaceae and Velloziaceae. *Nordic Journal of Botany* 15:625-629. doi: 10.1111/j.1756-1051.1995.tb02131.x.
- Porembski, S., Martinelli, G., Ohlemüller, R., Barthlott, W. 1998. Diversity and ecology of saxicolous vegetation mats on inselbergs in the Brazilian Atlantic rainforest. *Diversity and Distributions* 4:107– 119. doi: 10.1046/j.1365-2699.1998.00013.x.
- Porembski, S., Barthlott, W. 2000. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecology* 151:19–28. doi: 10.1023/A:1026565817218.
- Porembski, S. 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. *Brazilian Journal of Botany* 30:579–586. doi: 10.1590/S0100-84042007000400004.
- Porembski, S., Becker, U., Seine, R. 2000. Islands on islands: habitats on inselbergs. In: Porembski, S. and Barthlott, W. (Eds.) *Inselbergs – biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions*. Berlin: Springer-Verlag, *Ecological Studies* Vol. 146, pp. 49–67. doi: 10.1007/978-3-642-59773-2.
- Porembski, S., Silveira, F.A.O., Fiedler, P.L., Watve, A., Rabarimanarivo, M., Kouame, F., Hopper, S.D. 2016. Worldwide destruction of inselbergs and related rock outcrops threatens a unique ecosystem. *Biodiversity and Conservation* 25:2827–2830. doi: 10.1007/s10531-016-1171-1.
- Powell, W., Morgante, M., McDevitt, R., Vendramin, G.G., Rafalski, J.A. 1995. Polymorphic simple sequence repeat regions in chloroplast genomes: Applications to the population genetics of pines.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 9292:7759-7763. doi: 10.1073/pnas.92.17.7759.
- Provan, J., Powell, W., Hollingsworth, P.M. 2001. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 16:142-145. doi: 10.1016/s0169-5347(00)02097-8.
- Rabarimanarivo, M.N., Ramandimbisoa, B., Rakotarivelo, N.H., Pillipson, P.B., Andriambololonera, S., Callander, M.W., Porembski, S. 2019. The extraordinary botanical diversity of inselbergs in Madagascar. *Candollea* 74:65-84. doi: 10.15553/c2019v741a8.
- Ralimanana, H., Perrigo, A.L., Smith, R.J., Borrell, J.S., Faurby, S., Rajaonah, M.T., Randriamboavonjy, T., Vorontsova, M.S., Cooke, R.S.C., Phelps, L.N., Sayol, F., Andela, N., Andermann, T., Andriamanohera, A.M., Andriambololonera, S., Bachman, S.P., Bacon, C.D., Baker, W.J., Belluardo, F., Birkinshaw, C., Cable, S., Canales, N.A., Carrillo, J.D., Clegg, R., Clubbe, C., Crottini, A., Damasco, G., Dhanda, S., Edler, D., Farooq, H., de Lima Ferreira, P., Fisher, B.L., Forest, F., Gardiner, L.M., Goodman, S.M., Grace, O.M., Guedes, T.B., Hackel, J., Henniges, M.C., Hill, R., Lehmann, C.E.R., Lowry, P.P. 2<sup>nd</sup>, Marline, L., Matos-Maraví, P., Moat, J., Neves, B., Nogueira, M.G.C., Onstein, R.E., Papadopulos, A.S.T., Perez-Escobar, O.A., Phillipson, P.B., Pironon, S., Przelomska, N.A.S, Rabarimanarivo, M., Rabehevitra, D., Raharimampionona, J., Rajaonary, F., Rajaovelona, L.R., Rakotoarinivo, M., Rakotoarisoa, A.A., Rakotoarisoa, S.E., Rakotomalala, H.N., Rakotonasolo, F., Ralaiveloarisoa, B.A., Ramirez-Herranz, M., Randriamamonjy, J.E.N., Randrianasolo, V., Rasolohery, A., Ratsifandrihamanana, A.N., Ravololomanana, N., Razafiniary, V., Razanajatovo, H., Razanatsoa, E., Rivers, M., Silvestro, D., Testo, W., Torres Jiménez, M.F., Walker, K., Walker, B.E., Wilkin, P., Williams, J., Ziegler, T., Zizka, A., Antonelli, A. 2022. Madagascar's extraordinary biodiversity: Threats and opportunities. *Science* 378:eadf1466. doi: 10.1126/science.adf1466.
- Raquin, A.L., Depaulis, F., Lambert, A., Galic, N., Brabant, P., Goldringer, I. 2008. Experimental estimation of mutation rates in a wheat population with a gene genealogy approach. *Genetics* 179:2195-2211. doi: 10.1534/genetics.107.071332.
- Rodriguez, D.J. 1996. A model for the establishment of polyploidy in plants. *The American naturalist* 147:33-46. doi: 10.1086/285838.
- Sadala-Castilho, R., Machado, S.R., Sá-Haiad, B., Lima, H.A. 2016. Oil-resin glands in Velloziaceae flowers: structure, ontogenesis and secretion. *Plant Systematics and Evolution* 302:585–599. doi: 10.1007/s00606-016-1287-5.
- Sarthou, C., Samadi, S., Boisselier-Dubayle, M.C. 2001. Genetic structure of the saxicole *Pitcairnia geyskesii* (Bromeliaceae) on inselbergs in French Guiana. *American Journal of Botany* 88:861-868. doi: 10.2307/2657038.
- Sazima, M., Sazima, I. 1989. Hummingbird pollination in two species of *Vellozia* (Liliiflorae:Velloziaceae) in Southeastern Brazil. *Botanica Acta* 103:83-86. doi: 10.1111/j.1438-8677.1990.tb00130.x.
- Scaglione, D., Acquadro, A., Portis, E., Taylor, C.A., Lanteri, S., Knapp, S.J. 2009. Ontology and diversity of transcript-associated microsatellites mined from a globe artichoke EST database. *BMC Genomics* 10:454. doi: 10.1186/1471-2164-10-454.
- Scarraw, M., Wang, Y., Sun, G. 2021. Molecular regulatory mechanisms underlying the adaptability of polyploid plants. *Biological Reviews* 96:394-407. doi: 10.1111/brv.12661.
- Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109:365-71. doi: 10.1007/s004120000089.
- Seehausen, O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends Ecology and Evolution* 19:198-204. doi: 10.1016/j.tree.2004.01.003.

- Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E., Small, R.L. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* 94:275-288. doi: 10.3732/ajb.94.3.275.
- Sikkink, K.L., Snell-Rood, E.C. 2016. Plasticity paves the way in adaptive radiation. *Molecular Ecology* 25:6009-6011. doi: 10.1111/mec.13926.
- Silveira, F.A.O., Negreiros, D., Barbosa, N.P., Buisson, E., Carmo, F.F., Carstensen, D.W., Conceição, A.A., Cornelissen, T.G., Echternacht, L., Fernandes, G.W., Garcia, Q.S., Guerra, T.J., Jacobi, C. M., Lemos-Filho, J.P., Le Stradic, S., Morellato, L.P.C., Neves, F.S. Oliveira, R.S., Schaefer, C.E., Viana, P.L., Lambers, H. 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil* 403:129–152. doi: 10.1007/s11104-015-2637-8.
- Slatikin, M. 1985. Rare alleles as indications of gene flow. *Evolution* 38:53-65. doi: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb04079.x.
- Soltis, P.S., Liu, X., Marchant, D.B., Visger, C.J., Soltis, D.E. 2014. Polyploidy and novelty: Gottliebs's legacy. *Philosophical Transactions of the royal society B* 369:20130351. doi:10.1098/rstb.2013.0351.
- Sousa-Baena, M.S., de Menezes N.L. 2014. Seed coat development in Velloziaceae: primary homology assessment and insights on seed coat evolution. *American Journal of Botany* 101:1409-1422. doi: 10.3732/ajb.1400364.
- Tautz, D., Renz, M. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12:4127–4138. doi: 10.1093/nar/12.10.4127.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17: 6463-6471. doi: 10.1093/nar/17.16.6463.
- Tebele, S.M., Marks, R.A., Farrant, J.M. 2021. Two descades of desiccation biology: a systematic review of the best studied angiosperm resurrection plants. *Plants* 10:2784. doi: 10.3390/plants10122784.
- Tóth, G., Gáspári, Z., Jurka, J. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research* 10:967-81. doi: 10.1101/gr.10.7.967.
- Tropicos, Missouri Botanical Garden (2022): <https://www.tropicos.org/>; accessed on: 30 Dec 2022.
- Vamosi, J.C., Goring, S.J., Kennedy, B.F., Mayberry, R.J., Moray, C.M., Neame, L.A., Tunbridge, N.D., Elle, E. 2007. Pollination, floral display, and the ecological correlation of polyploidy. *Functional Ecosystems and Communities* 1:1-9.
- Van de Peer, Y., Ashman, T.L., Soltis, P.S., Soltis, D.E. 2020. Polyploid: an evolutionary and ecological force in stressful times. *The Plant Cell* 33:11-26. doi: 10.1093/plcell/koaa015.
- Van Oosterhout, C., Weetman, D., Hutchinson, W.F. 2006. Estimation and adjustment of microsatellite null alleles in nonequilibrium populations. *Molecular Ecology Notes* 6:255-256. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01082.x.
- Varshney, R.K., Graner, A., Sorrells, M.E. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology* 23:48-55 doi: 10.1016/j.tibtech.2004.11.005.
- Vences, M., Wollenberg, K.C., Vieites, D.R., Lees, D.C. 2009. Madagascar as a model region of species diversification. *Trends in Ecology and Evolution* 24:456-465. doi: 10.1016/j.tree.2009.03.011.
- Vigouroux, Y., Jaqueth, J.S., Matsuoka, Y., Smith, O.S., Beavis, W.D., Smith, J.S.C., Doebley, J. 2002. Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. *Molecular Biology and Evolution* 19:1251-1260. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004186.

- Vornam, B., Decarli, N., Gailing, O. 2004. Spatial distribution of genetic variation in a natural beech stand (*Fagus sylvatica* L.) based on microsatellite markers. *Conservation Genetics* 5:561-570. doi: 10.1023/B:COGE.0000041025.82917.ac.
- Weber, J.L. 1990. Informativeness of human (dC-dA)<sub>n</sub> (dG-dT)<sub>n</sub> polymorphisms. *Genomics* 7:524-530. doi: 10.1016/0888-7543(90)90195-z.
- Weising, K., Kaemmer, D., Weigand, F., Epplen, J.T., Kahl, G. 1992. Oligonucleotide fingerprinting reveals various probe-dependent levels of informativeness in chickpea (*Cicer arietinum*). *Genome* 35:436-442. doi: 10.1139/g92-065.
- Weising, K., Nybom, H., Pfenninger, M., Wolff, K., Kahl, G. 2005. DNA fingerprinting in plants: principles, methods and applications (2nd ed.). CRC Press., Boca Raton, Florida. doi: 10.1201/9781420040043.
- Wierdl, M., Dominska, M., Petes, T.D. 1997. Microsatellite instability in yeast: dependence on the length of the microsatellite. *Genetics* 146: 767-779. doi: 10.1093/genetics/146.3.769.
- Wöhrmann, T., Weising, K. 2011. *In silico* mining for simple sequence repeat loci in a pineapple expressed sequence tag database and cross-species amplification of EST-SSR markers across Bromeliaceae. *Theoretical and Applied Genetics* 123:635-647. doi: 10.1007/s00122-011-1613-9.
- Young, A., Boyle, T., Brown, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11:413-418. doi: 10.1016/0169-5347(96)10045-8.
- Zalapa, J.E., Cuevas, H., Zhu, H., Steffan, S., Senalik, D., Zeldin, E., McCrown, B., Harbut, R., Simon, P. 2012. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences. *American Journal of Botany* 99:193-208. doi: 10.3732/ajb.1100394.

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1.1: Madagassische Inselberge. A-C: typische Granit- und Gneis-Inselberge. D-F: Matten-Gesellschaft mit *Xerophyta*. Bilder A-D von S. Porembski, E-F von J. Rexroth. .... 5
- Abbildung 1.2: Karte der Verbreitung der Velloziaceae, die die phylogenetischen Beziehungen der fünf anerkannten Gattungen der Velloziaceae zeigt (Mello-Silva et al., 2011). .... 7
- Abbildung 1.3: Frucht von *Xerophyta* spec. (A-D). B: Kapsel noch geschlossen mit sichtbaren drüsigen Auswüchsen. C: trockene geöffnete Kapsel. D: trockene Kapsel mit Samen. Bilder A-C von J. Rexroth, D von S. Porembski. .... 9
- Abbildung 1.4: Morphologie von *Xerophyta*. A: Habitus mit Frucht. B: Habitus mit Blüte. C: Habitus im trockenen Zustand. D: Blattanordnung. E: Blatt mit seitlicher borstiger Behaarung. F: Blatt mit weicher Behaarung überall. G: baumartiger Habitus (Höhe ~1,70 m). Bilder A-C von S. Porembski, D-G von J. Rexroth. .... 12
- Abbildung 1.5: Blüten von *Xerophyta dasylirioides* von verschiedenen Wuchsorten in Madagaskar (A-E). Bilder von S. Porembski. .... 13

## Abkürzungsverzeichnis

DTMFM	Desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons (= austrocknungstolerante mattenbildende Monokotyle)
m.ü.M.	Meter über dem Meeresspiegel
spec.	<i>species indeterminata</i> (= Art unsicher)
spp.	<i>species pluralis</i> (= Arten)
var.	<i>varietas</i> (= Varietät)

## Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die dazu beigetragen haben, dass diese Arbeit realisiert werden konnte.

Mein großer Dank gilt Prof. Dr. Stefan Porembski für die Bereitstellung des Themas, die Möglichkeiten die damit verbunden waren und die Betreuung. Vielen Dank für die unvergesslichen Feldexkursionen, die zahlreichen Ideen und für das Vertrauen.

Ein besonderes Dankeschön geht auch an meinen Mentor Melvin, sowie an Kurt, Tina und Katharina von denen ich sowohl fachlich als auch persönlich sehr vielen lernen durfte. Ihr habt immer ein offenes Ohr gehabt, mir in vielen Momenten Mut gemacht, Möglichkeiten aufgezeigt und mich mitunter auch wieder auf Kurs gebracht. Mein Dank gilt auch Ralf für seine Worte, die mich wie keine zweiten geprägt und mir tatsächlich oft geholfen haben.

Besondere Anerkennung geht auch an Dr. Ralf Bastrop für die Möglichkeit in seinem Labor Unruhe und Chaos stiften zu dürfen, an Lukas für die Einarbeitung in selbigem und Christian für die Unterstützung und Geduld bei den diversen Statistik-Problemchen.

Danke auch an alle ehemaligen und aktuellen Mitgliedern der Arbeitsgruppe *Allgemeine und Spezielle Botanik*, sowie auch den ehemaligen Bachelor- und Master-Studierenden. Eure Arbeiten haben nicht nur wichtige Erkenntnisse geliefert, sondern auch viel Spaß gemacht und für gute Laune gesorgt.

Ein riesengroßes Dankeschön gilt meiner Familie und meinen Freunden. Ihr habt mir immer den Rücken frei gehalten, habt viel Verständnis gezeigt und in schwierigen Phasen immer ein paar aufmunternde Worte gehabt. Danke für die kleinen Ablenkungen, für das Lachen und die Zuversicht. Mein ganz besonderer Dank gilt Steve. Meinem Felsen in der Brandung wider Willen.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Es wurden keine außer den von mir angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verwendet und die den benutzten Werken inhaltlich und wörtlich entnommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsvorhaben ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Auch habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen/Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistung für mich ganz oder teilweise erledigt. Diese Arbeit ist in dieser Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt worden.

Rostock, den 08.02.2023

Juliane Rexroth

## Curriculum Vitae

**Juliane Rexroth**

### Akademische Ausbildung

---

2017-2023	Universität Rostock, Biowissenschaften Institut für Botanik, Dissertation
2014	Universität Rostock, Biowissenschaften Masterstudiengang Diversität und Evolution
2012	Universität Rostock, Biowissenschaften Bachelorstudiengang
2005	Universität Rostock, Biowissenschaften Diplomstudiengang
2004	Christophorusschule (CJD) Rostock Abitur

## Publikationen

- Porembski, S., Rexroth, J., Weising, K., Bondi, L., Mello-Silva, R., Centeno, D.C., Datar, M.N., Watve, A., Thiombano, A., Tindano, E., Rabarimanarivo, M.N., de Paula, L.F.A. 2021. An overview on desiccation-tolerant mat-forming monocotyledons on tropical inselbergs. *Flora* 285:151953. doi: 10.1016/j.flora.2021.151953.
- Rexroth, J., Krebes, L., Wöhrmann, T., Harpke, D., Rabarimanarivo, M., Phillipson, P.B., Weising, K., Porembski, S. 2019. New microsatellite markers for *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae), an endemic species on Malagasy inselbergs. *Applications in Plant Sciences* 7:e11282. doi: 10.1002/aps3.11282.
- De Paula, L., Leal A. S. S., Rexroth, J. Porembski S., Palma-Silva, C. 2017. Transferability of microsatellite loci to *Vellozia plicata* (Velloziaceae), a widespread species on Brazilian inselbergs. *Brazilian Journal of Botany* 40:1071–1075. doi: 10.1007/s40415-017-0396-x.
- Rexroth, J., Porsche, C., Bastrop, R., Rabarimanarivo, M., Weising, K., Porembski, S. (sub.). Population genetic structure of the Malagasy inselberg species *Xerophyta dasylirioides* (Velloziaceae): Terrestrial islands and their evolutionary implications.

## Kongressbeiträge

### VORTRÄGE

- Rexroth, J. 2019. Genetic diversity and population structure of desiccation-tolerant *Xerophyta dasylirioides* mats (Velloziaceae) on Malagasy inselbergs- towards a better understanding of species evolution on terrestrial islands. Botanikertagung – International Plant Science Conference, Rostock, Deutschland.
- Rexroth, J. 2018. Genetic differentiation patterns of a desiccation-tolerant Velloziaceae on Malagasy inselbergs. 6<sup>TH</sup> International Conference on Comparative Biology of Monocotyledons – Monocots VI, Natal, Brazil.

### POSTER

- Kirchgesser, J., Rexroth, J., Nowak, P., Bartels, S., Porembski, S. 2019. Molecular genetic research on desiccation tolerant Malagasy Poaceae *Styppeiochloa hitchcockii*. Botanikertagung – International Plant Science Conference, Rostock, Deutschland.
- Rexroth, J., de Paula, L.F.A., Porembski, S. 2017. Species evolution of desiccation-tolerant Velloziaceae on tropical inselbergs: a molecular approach. Botanikertagung – Plant Research in a Changing World, Kiel, Deutschland.
- De Paula, L.F.A., Leal, B.S., Rexroth, J., Porembski, S., Palma-Silva, C. 2016. Transferability of microsatellite loci to *Vellozia plicata* (Velloziaceae), a widespread species on Brazilian inselbergs. 67° Brazilian National Botanical Congress (CMBOT), Vitória, Brazil.
- De Paula, L.F.A., Rexroth, J., Schmiel, J., Weising, K., Porembski, S. 2015. Velloziaceae from tropical inselbergs: A Gondwana family as a model for understanding species evolution on terrestrial island. 66° Brazilian National Botanical Congress, Santos, Brazil.