

Artkonzepte bei Makroalgen
Anwendbarkeit genetischer Methoden
zur Unterstützung morphologischer Artabgrenzungen
an den Gattungen *Chara* und *Fucus*



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
***doctor rerum naturalium* (Dr. rer. nat.),**

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Petra Nowak,
aus Rostock

Rostock, November 2015

Gutachter:

1. Gutachter:

Prof. Dr. Hendrik Schubert,

Universität Rostock, Institut für Biowissenschaften, Aquatische Ökologie

2. Gutachter:

Prof. Dr. Carles Martín-Closas,

Universitat de Barcelona, Departament d'Estratigrafia,

Paleontologia i Geociències marines, Facultat de Geologia

Datum der Einreichung:

27. November 2015

Datum der Verteidigung:

29. Januar 2016

“Nothing in biology makes sense except in the light of evolution.”

T. Dobzhansky

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis.....	iii
Tabellenverzeichnis	v
1. Einleitung.....	1
1.1 Artkonzepte - Stand der Forschung	1
1.2 Taxonomie der Algen	5
1.3 Vorstellung der Untersuchungsgegenstände.....	7
1.3.1 Characeae.....	7
1.3.2 <i>Fucus</i>	10
1.4 Hypothesen	13
2. Material und Methoden.....	14
2.1 Morphologie Characeae	14
2.2 Genetische Analyse Characeae.....	15
2.2.1 Probenahme	15
2.2.2 DNA Isolation, PCR und Sequenzierung	17
2.2.3 Phylogenetische Analyse	19
2.3 Lichtanpassung von <i>C. baltica</i> und <i>C. liljebladii</i>	21
2.3.1 Probenahme und experimentelles Design.....	21
2.3.2 Morphologische Analyse und statistische Auswertung.....	22
2.4 Gattung <i>Fucus</i>	23
2.4.1 Morphologische Analyse	23
2.4.2 Genetische Analyse.....	25
3. Ergebnisse.....	28
3.1 Characeae.....	28
3.1.1 Taxonomische Untersuchung „CHARA-SCHWEDEN“	28
3.1.2 Taxonomische Untersuchung „CHARA-EUROPA“	32
3.1.3 Rarefaction - Analysen	35
3.1.4 Taxonomische Untersuchung „NITELLA“	36
3.1.5 Untersuchung der morphologischen Plastizität	39
3.1.5.1 Morphologische Parameter vor der Inkubation	40
3.1.5.2 <i>C. baltica</i> nach vier Wochen Inkubation	42
3.1.5.3 <i>C. liljebladii</i> nach vier Wochen Inkubation.....	46

3.1.5.4 Vergleich <i>C. baltica</i> und <i>C. liljebladii</i>	49
3.2 <i>Fucus</i>	52
3.2.1 Beschreibung der <i>Fucus</i> -Arten auf Helgoland	52
3.2.2 Morphologische Analyse	53
3.2.3 Genetische Analyse.....	57
4. Diskussion.....	62
4.1 Characeae.....	63
4.1.1 Genetische Analyse - Gattung <i>Chara</i>	63
4.1.1.1 Sektion <i>Grovesia</i>	65
4.1.1.2 Sektion <i>Desvauxia</i>	71
4.1.1.3 Sektion <i>Chara</i>	73
4.1.1.4 Subsektion <i>Braunia</i>	80
4.1.1.5 Gattung <i>Lamprothamnium</i>	81
4.1.2 Genetische Analyse - Gattung <i>Nitella</i>	82
4.1.2.1 Subgenus <i>Nitella</i>	82
4.1.2.2 Subgenus <i>Tieffallenia</i>	83
4.1.3 Genetische Variabilität	84
4.1.4 Bewertung der morphologischen Merkmale.....	89
4.1.5 Morphologische Plastizität	93
4.1.5.1 <i>C. baltica</i> und <i>C. liljebladii</i>	94
4.2 <i>Fucus</i>	96
5. Zusammenfassende Diskussion	102
6. Zusammenfassung	111
7. Literaturverzeichnis	114
8. Anhang.....	vi
Danksagung	xxx
Erklärung	xxxi

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Schematische Darstellung einer diplostich tylacanthen <i>Chara</i> (z. B. <i>C. intermedia</i>).	14
Abbildung 2	Schematische Darstellung eines <i>F. vesiculosus</i> mit echten Blasen und ein- bis dreifingrigen Rezeptakula.	24
Abbildung 3	Phylogenie von 15 <i>Chara</i> -Taxa basierend auf den kodierenden Regionen dreier Marker (18S rRNA, <i>atpB</i> , <i>rbcL</i>) mit insgesamt 3410 bp.	31
Abbildung 4	Phylogenie von 15 <i>Chara</i> -Taxa basierend auf <i>atpB</i> , <i>rbcL</i> , <i>matK</i> , 18S rRNA und nrITS-1-Sequenzen (5573 bp) kombiniert mit den morphologischen Merkmalen der untersuchten Taxa.	32
Abbildung 5	Phylogenie der Gattung <i>Chara</i> basierend auf 843 bp des Markers <i>matK</i> . 35	
Abbildung 6	Phylogenie der Familie der Characeae basierend auf 1008 bp des Markers <i>rbcL</i>	39
Abbildung 7	Box-Whisker-Plot der Internodienlänge und -durchmesser des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von <i>C. baltica</i> und <i>C. liljebladii</i> vor der Inkubation gemessen.	41
Abbildung 8	MDS-Plot der morphologischen Parameter von <i>C. baltica</i> (Viereck) und <i>C. liljebladii</i> (Dreieck) gemessen vor der Akklimation.	42
Abbildung 9	Wachstumsraten des Taxons <i>C. baltica</i> unter den drei Lichtintensitäten (Weiß = 240, Grau = 90, Schwarz = 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$).	43
Abbildung 10	Box-Whisker-Plot der Internodien- und Quirlastlänge des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von <i>C. baltica</i>	44
Abbildung 11	MDS-Plot der morphologischen Parameter von <i>C. baltica</i> gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau) und 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$	45
Abbildung 12	Wachstumsraten des Taxons <i>C. liljebladii</i> unter den drei Lichtintensitäten (Weiß = 240, Grau = 90, Schwarz = 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$).	46
Abbildung 13	Box-Whisker-Plot der Internodien- und Quirlastlänge des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von <i>C. liljebladii</i>	47
Abbildung 14	MDS-Plot der morphologischen Parameter von <i>C. liljebladii</i> gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau) und 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$	48

Abbildung 15	Mittlere Wachstumsraten der Taxa <i>C. liljebladii</i> (Weiß) und <i>C. baltica</i> (Grau) unter den drei Lichtintensitäten.	49
Abbildung 16	Zusammenfassung der Kruskal-Wallis-Tests für den paarweisen Vergleich der als signifikant bewerteten morphologischen Merkmale...	50
Abbildung 17	Hauptkomponentenanalyse der morphologischen Parameter von <i>C. baltica</i> (Vierteck) und <i>C. liljebladii</i> (Dreieck) gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau) und 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$	51
Abbildung 18	Darstellung der Box-Whisker-Plots der Parameter Stiellänge und Abstand zweier dichotomer Verzweigungen für die analysierten <i>Fucus</i> -Taxa.	54
Abbildung 19	A) MDS-Plot der <i>Fucus</i> -Individuen anhand metrischer und beschreibender Parameter. B) MDS-Plot der <i>Fucus</i> -Individuen anhand beschreibender Parameter.	56
Abbildung 20	Phylogenie von der Gattung <i>Fucus</i> basierend auf PDI-Sequenzen mit 696 bp.....	58
Abbildung 21	Darstellung des Netzwerkes der Gattung <i>Fucus</i> basierend auf PDI-Sequenzen mit 696 bp.	60
Abbildung 22	Wood und Imahori's (1965) Phylogenie der Subsektionen der Gattung <i>Chara</i> basierend auf morphologischen Analysen.	64
Abbildung 23	Zusammengefasste Phylogenie der Gattung <i>Chara</i> basierend auf 843 bp des cpMarkers <i>matK</i>	64
Abbildung 24	Vergleich der interspezifischen (Grau) und intraspezifischen (Weiß) p-Distanzen für die Gattungen <i>Chara</i> , <i>Nitella</i> und <i>Tolypella</i> basierend auf 1008 bp des Marker <i>rbcL</i> sowie der Gattung <i>Chara</i> basierend auf 843 bp des Markers <i>matK</i>	88
Abbildung 25	Verteilung der durchschnittlichen p-Distanzen innerhalb der Characeae für den Marker <i>rbcL</i>	89

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der in den PCRs verwendeten Primerpaare.	18
Tabelle 2 Übersicht der <i>Fucus</i> -Arten, die für die morphologische Analyse genutzt wurden.	24
Tabelle 3 Übersicht der <i>Fucus</i> -Arten, die für die genetische Analyse genutzt wurden.	25
Tabelle 4 Zusammenfassung der Sequenzvariationen innerhalb des Datensets „CHARA-SCHWEDEN“.	29
Tabelle 5 Zusammenfassung der Sequenzvariationen des Markers <i>matK</i> innerhalb des Datensets „CHARA-EUROPA“.	33
Tabelle 6 Zusammenfassung der Rarefaction-Analysen basierend auf den erhaltenen Haplotypen der untersuchten Datensets.	36
Tabelle 7 Zusammenfassung der Sequenzvariationen für 1008 bp des Markers <i>rbcL</i> innerhalb des Datensets „NITELLA“.	37
Tabelle 8 Übersicht der durchschnittlichen Sequenzvariationen zwischen den Gattungen der Familie der Characeae basierend auf 1008 bp des Gens <i>rbcL</i>	37
Tabelle 9 Übersicht der in der Literatur verwendeten morphologischen Merkmale und Habitateigenschaften von <i>C. baltica</i> und <i>C. liljebladii</i> (Wood und Imahori 1965, Schubert und Blindow 2004).	40
Tabelle 10 Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests für die morphologischen Parameter des Taxons <i>C. baltica</i> , die nach vierwöchiger Akklimation gemessen wurden.	44
Tabelle 11 Simper-Analyse: Dargestellt sind Ähnlichkeiten der Individuen innerhalb einer Gruppe (Blau) und die Unterschiede zwischen den Gruppen (Schwarz) bei 240, 90 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	50
Tabelle 12 Komponentenmatrix der PCA aller metrischen Parameter der zu Gruppen zusammengefassten <i>Fucus</i> -Individuen.	55
Tabelle 13 Darstellung der durchschnittlichen p-Distanzen innerhalb (Rot) und zwischen (Schwarz), sowie der durchschnittlichen Zahl an Substitutionen zwischen (Blau) den verglichenen Gruppen.	58

1. Einleitung

1.1 Artkonzepte - Stand der Forschung

In der modernen Systematik vereinen sich die Identifikation (das Bestimmen von Arten), deren Benennung (die Nomenklatur), sowie deren Einteilung (die Taxonomie) mit der Rekonstruktion ihrer Stammesgeschichte (der Phylogenetik) und der Erforschung der Prozesse, die zur Vielfalt der Organismen führten (der Evolutionsbiologie). Der Begriff der „Art“ spielt dabei eine zentrale Rolle und soll eine diskrete/reale Einheit der Natur widerspiegeln, die sich von anderen „Arten“ deutlich abgrenzt. Eine Art als solche zu definieren ist allerdings eine beachtliche Herausforderung. Da man dieses Problem auf unterschiedliche Weise lösen kann verwundert es nicht, dass aktuell unterschiedliche Artkonzepte nebeneinander bestehen.

Das älteste und auch heute noch in der Botanik verwandte morphologische oder phänetische Artkonzept charakterisiert sogenannte Morphospezies anhand einer Auswahl struktureller Merkmale, die allen Angehörigen dieser Morphospezies gemein sind, sie aber zugleich von anderen Arten klar abgrenzen. Die Charakterisierung der einzelnen Merkmale wird allerdings durch Wissenschaftler vorgenommen; die Abgrenzung der Taxa folgt dementsprechend nicht zwingend natürlichen Mechanismen. So wurden ursprünglich zum Beispiel Männchen und Weibchen der Stockente (*Anas platyrhynchos*) als unterschiedliche Arten bewertet.

Joachim Jungius (1587-1657) und, auf seine Arbeiten aufbauend John Ray (1628-1705), gebührt hier der Verdienst durch Formulierung von Grundprinzipien zumindest einheitliche Kriterien für die Auswahl von morphologischen Charakteren vorgeschlagen zu haben. So sollten nur distinkte und klar definierte Merkmale zur Artunterscheidung genutzt werden dürfen und relative Unterschiede, wie z. B. Größe, möglichst vermieden werden (Mägdefrau 2013).

Ein anderer Ansatz wird vom sogenannten „Biologischen Artkonzept“ verfolgt, das erstmals 1942 von Ernst Mayr definiert wurde: „A biological species is a group of interbreeding or potentially interbreeding organisms that can produce viable offspring.“ Die damit definierte Biospezies besteht aus Populationen, die untereinander zu genetischem Austausch fähig sind, sich aber mit Hilfe von Fortpflanzungsbarrieren von anderen abgrenzt. Innerhalb der Zoologie findet dieses Artkonzept breite Anwendung, da die

meisten Tiere sich geschlechtlich fortpflanzen und damit eine direkte Beobachtung des Kreuzungserfolges möglich ist. Die Anwendbarkeit dieses Artkonzeptes stößt aber bereits dann an Grenzen, wenn es sich bei den oben erwähnten Fortpflanzungsbarrieren um sogenannte „präzygotische“, konkret noch vor der Paarung wirksame präzygotische Barrieren handelt. So lassen sich viele Tierarten unter Laborbedingungen oder in Zoos erfolgreich kreuzen, die sich in der Natur rein geografisch nicht begegnen würden¹. Aber auch in der freien Natur sind Hybride bzw. Hybridzonen ein verbreitetes Phänomen². Noch drastischer deutlich werden die Probleme dieses Artkonzeptes im Fall ungeschlechtlicher Vermehrung. Organismen, die sich, wie viele Pilze, einige Pflanzen- und auch Tierarten vollständig auf ungeschlechtlichem Wege durch z. B. Parthenogenese vermehren³, können mit Hilfe dieser Definition nicht oder bestenfalls nur über Einbeziehung ihrer sexuellen Ausgangsart bewertet werden.

Für die Paläontologie und auch im Bereich der Prokaryoten ist dieses Konzept prinzipiell nicht anwendbar. In der Paläontologie ist die Beobachtung des Kreuzungserfolges unmöglich – bestenfalls die Paarung könnte nachgewiesen werden. Bei allen Prokaryoten hingegen, ungeachtet der Möglichkeit genetischen Austauschs über z. B. Konjugation oder Transduktion, handelt es sich um klonale Abstammungslinien, auf die ein Konzept, das auf „Kreuzbarkeit“ basiert, nicht anwendbar ist. Auch das morphologische Konzept stößt bei Prokaryoten schnell an seine Grenzen, da die Formenvielfalt begrenzt ist und selbst der Einbeziehung ultrastruktureller Merkmale Grenzen gesetzt sind.

Dieses Problem lässt sich mit Hilfe des Ökologischen Artkonzeptes lösen. Dabei werden alle Populationen, die an bestimmte ökologische Nischen angepasst sind und aufgrund dieser Anpassungen diskrete Gruppen bilden, zu Arten zusammengefasst. Insbesondere innerhalb der Mikrobiologie wurden ursprünglich Arten aufgrund ihrer Substratabhängigkeit voneinander unterschieden, eine Vorgehensweise, die eine Anwendung des ökologischen Artkonzeptes darstellt.

Konfrontiert mit der Summe an Schwierigkeiten, die jedes einzelne Artkonzept aufwirft, wird in der taxonomischen Praxis meist ein pluralistisches Konzept angewendet, das Elemente der einzelnen Grundkonzepte miteinander verschneidet. Dadurch können die Effekte von z. B. geographischer Isolation, Habitatpräferenz, Verhaltensunterschiede und weiteres bei Bedarf Berücksichtigung finden. Kombiniert man z. B. das phäneti-

¹ z. B.: Liger, Wolphin

² z. B. Teichfrosch und Seefrosch, Saatkrahe und Nebelkrahe

³ z. B.: Honigbiene

sche mit dem biologischen Artkonzept, können sogenannte kryptische Arten aufgedeckt werden. Dabei handelt es sich um morphologisch identische Taxa, die aber durch Kreuzungsschranken voneinander isoliert sind. Bei längerem Fortbestehen derartiger Kreuzungsschranken ist das Auftreten von genetischen Unterschieden wahrscheinlich, es ist aber nicht Voraussetzung. So können lokale Verhaltensänderungen – z. B. der Übergang von Langkurztagspflanze zu Kurztagspflanze - eine sofort wirksame Kreuzungsschranke aufbauen, ohne dass die Suche nach genetischen Unterschieden zum Erfolg führt.

Im Gegensatz dazu spricht man von Varietäten im Fall von Arten mit hoher morphologischer Plastizität – im Extremfall (Standortvarietät) führen hier bereits die Habitatbedingungen zu sehr unterschiedlichen morphologischen Erscheinungsformen ein und desselben Genotyps.

Zwischen Art und Varietät wären dann die Subspezies (Unterarten) einzuordnen, bei denen durch den Anpassungsdruck der spezifischen Standortbedingungen eine Verschiebung in der Genhäufigkeit und damit auch der Morphologie hervorgerufen wird, ohne dass die Kreuzbarkeit beeinträchtigt ist (Extrembeispiel Hunderassen).

Alle oben angeführten Artkonzepte zählen zu den sogenannten horizontalen Konzepten, bei denen die Arten innerhalb eines eng begrenzten Zeithorizontes, meist der Gegenwart, definiert werden. Das dabei auftretende Problem der Abgrenzung (biologisches und ökologisches Konzept) bzw. der Auswahl „relevanter Merkmale“ (morphologisches Konzept) kann durch Einbeziehung der Abstammungsgeschichte und damit Übergang zu einem „vertikalen“ Konzept zumindest teilweise gelöst werden. Bei den vertikalen Konzepten steht die Entstehungsgeschichte der Arten im Verlauf der Evolution im Vordergrund, wobei das Ziel weniger die Artabgrenzung als vielmehr die Aufstellung einer „natürlichen“ Systematik ist. Dafür können unterschiedlichste Daten die Grundlage bilden. Ursprünglich waren es vor allem morphologische Parameter, die in der Paläontologie gewonnen wurden und in der Aufstellung natürlicher Stammbäume Verwendung fanden. In letzter Zeit gewinnen genetische Analysen, welche den Vorteil besitzen, dass unabhängig von der Verfügbarkeit der Bindeglieder und Vorfahren Aussagen über die Systematik getroffen werden können, immer mehr an Bedeutung. Sie nutzen genetische Ähnlichkeiten als stellvertretendes Merkmal für die Nachzeichnung der Abstammungsgeschichte und gehen davon aus, dass die genetische Ähnlichkeit mit der Dauer der Existenz von Reproduktionsschranken abnimmt. Je länger Populationen voneinander

genetisch isoliert sind, desto größer werden dementsprechend auch die genetischen Distanzen. Auch diese Vorgehensweise ist mit einer ganzen Reihe von bislang ungelösten Fragen und Problemen verbunden. So stellt sich z. B. das Problem der Artabgrenzung in anderer Form erneut: Wie viel genetischer Unterschied ist nötig, um Arten voneinander zu trennen? Diese Probleme werden in der Diskussion der hier vorgestellten Arbeiten erneut aufgegriffen und im Detail behandelt.

Taxonomie und damit auch die Artdefinition erscheint zunächst als vorwiegend akademisches Problem. Es kann aber weitreichende Folgen für den praktischen Naturschutz und der damit verbundenen Gesetzgebung haben, z. B. wenn bestimmte Arten als bedroht eingestuft und damit auch deren Habitate unter Schutz gestellt werden. Hier ist eine klare Grenzziehung zwischen Varietäts- und Artlevel notwendig, um dem Ziel des Naturschutzes; „Erhalt der Artendiversität“ Rechnung tragen zu können. Eine klare Abgrenzung von Arten; Subspezies und Varietäten ist aber auch eine Anforderung, die sich aus angewandten Aspekten der Biogeographie ergibt. Werden, wie z. B. in der EU-Wasserrahmenrichtlinie, Organismen als Bioindikatoren verwendet um eine Bewertung eines Umweltzustandes vorzunehmen, kann die individuelle Ausprägung der morphologischen Merkmale ein und derselben genetischen Entität von großer Bedeutung sein. Hier würden sich also die Akklimationsleistungen des Organismus als Teil der Umweltbewertung ergeben. Eine sichere Ansprache der Art- Subspezies- und Varietätslevel ist damit Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Bewertungsverfahren und die korrekte Bewertung des Ökosystemzustandes ihres Wuchsortes.

1.2 Taxonomie der Algen

Die oben angeführte Forderung nach verlässlicher Unterscheidung zwischen den einzelnen Hierarchieebenen ist bei Algen ungleich schwerer als z. B. bei Tieren oder höheren Pflanzen, die Ausgangspunkt für die Entwicklung der oben eingeführten grundlegenden Artkonzepte waren.

Eine generell akzeptierte Definition des Terminus „Alge“ existiert nicht⁴. Bei den hier im Mittelpunkt stehenden Makroalgen kann diese Schwierigkeit dadurch umgangen werden, dass man sie als diejenigen Vertreter der Rhodobionta, Chlorophytina, Streptophytina und Phaeophyceae auffasst, die unter Zuhilfenahme einer Lupe sicher bestimmbar sind.

Bei der Mehrzahl der Makroalgen handelt es sich um aquatische Organismen, die Photosynthese betreiben. Damit sind sie ein wichtiger Bestandteil in aquatischen Systemen, da sie diese nicht nur mit Sauerstoff versorgen und Nährstoffe binden, sondern auch als Nahrungsquelle und Habitatbildner dienen und dadurch z. B. Schutzmöglichkeiten bieten und die Kinderstube vieler Fische sind.

Die Taxonomie von Makroalgen basiert zunächst, wie in der Botanik generell vereinbart, auf dem morphologischen Artkonzept. Makroalgen besitzen dabei, verglichen mit Mikroalgen, meist eine komplexere Morphologie, so dass zumindest potentiell eine große Anzahl an Merkmalen zur Verfügung steht, die für taxonomische Zwecke eingesetzt werden kann. Während jedoch bei höheren Pflanzen und vor allem bei den Blütenpflanzen eine Vielzahl von morphologischen Merkmalen unmittelbar reproduktionsrelevant sind und damit zumindest die Möglichkeit einer direkten Reflektion der biologischen Artabgrenzung in morphologischen Merkmalen existiert, ist das bei Algen nicht der Fall. Bei Algen sind die einer Beobachtung zugänglichen Merkmale meist vegetativer Natur und schon die Zuordnung der einzelnen Stadien heteromorpher Generations-

⁴ Der Begriff „Alge“ ist dabei ein rein künstliches, historisch gewachsenes System, zu dem Vertreter unterschiedlichster Gruppen zählen. Keine der vorliegenden Definitionen ist zufriedenstellend: Jacob, Jäger und Ohmann (1994) fassen Algen als diejenigen autotrophen Eukaryoten zusammen, die ihre Gameten und Sporen in einzelligen, primär nicht umhüllten Behältern (Gametocysten, Sporocysten) bilden und meist an Wasser oder feuchtes Milieu gebunden sind – Cyanobakterien werden dabei nicht erfasst. Am ehesten treffen wohl die Negativdefinitionen von van den Hoek (1978) den Kern, wobei auch dabei offene Frage bleiben: Algen besitzen keine beblätterten Stengel – wie definiert man Kauloide und Phylloide? Algen besitzen keine Leitbündel – wie definiert man die siebröhrenähnliche Zellen z.B. bei Braunalgen? Algen besitzen keine Wurzeln – auch Rhizoide sind z.T. auch zur Nährstoffaufnahme befähigt, meist jedoch nur zur Anheftung. Algen sind im Allgemeinen zur Photosynthese befähigt – aber nicht immer.

zyklen zur betreffenden biologischen Art stellte eine Herausforderung dar, die erst in jüngster Vergangenheit gemeistert wurde⁵.

Im limnischen Bereich kommt die Fragmentierung des Lebensraums hinzu – die einzelnen Seen und Flusssysteme können im Fall von Makroalgen nur über Vektoren in einen genetischen Austausch treten, so dass Isolationsphänomene auftreten. In welchem Maße hier Isolation zur Entstehung „kryptischer Arten“ führt, wurde erstmals durch Proctor (1971) im Detail untersucht. Seine Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich bei limnischen Armleuchteralgen offenbar sehr eng begrenzte Reproduktionsgemeinschaften herausgebildet haben, die morphologisch nicht unterschieden werden können. Die Konsequenzen, die sich aus seinen Untersuchungen sowohl für praktische Belange wie Bioindikation und Naturschutz als auch hinsichtlich Taxonomie und molekulare Phylogenie ergeben, sind bislang nicht berücksichtigt worden. Seine Arbeit ist, obwohl oft zitiert, in ihren Folgerungen bis heute weitgehend unbeachtet geblieben, obwohl auch in anderen Gattungen dieser Algengruppe sich die Hinweise auf kryptische Arten mehren (z. B. Perez et al. 2014).

Das Problem ist aber keineswegs auf limnische Systeme beschränkt – auch im marinen Lebensraum treten Fragmentierungen auf, obwohl hier durch die globalen Zirkulationssysteme ein nahezu universelles Transportsystem existiert. Neben großräumigen geographischen Isolationsphänomenen (z. B. südliche kaltgemäßigte Inselregion oder Rand- und Kontinentalmeerlagen wie dem Mittelmeer) stellt vor allem die Anpassung an das Gezeitenregime eine Herausforderung dar, die im oberen Eulitoral und dem Supralitoral zu kleinräumigen Isolationen führt. Um in diesem Teil des Phytals überleben zu können, sind Anpassungen an extreme Strahlungs- und Temperaturschwankungen sowie Schwankungen des osmotischen Potentials der Umgebung notwendig. Derartige Anpassungen verhindern aber nicht *per se* das Vorkommen in unteren Etagen des Phytals. Um erfolgreich im Phytal „aufsteigen“ zu können, muss also jede mühsam neu erworbene Anpassung gegenüber der Ausgangsart verteidigt, d. h. ein genetischer Abschluss vorgenommen werden. Das Problem hierbei ist, dass das Ausgangs- und das neu eroberte Habitat nur wenige Meter voneinander entfernt sind und die Befruchtung nur im Zeitraum der Wasserbedeckung, also wenn die Lebensräume ohnehin vollständig miteinander verbunden sind, stattfindet. Gattungen, die mit morphologisch relativ ähnli-

⁵ Das illustriert auch die oben angeführte Verwendung pluralistischer Konzepte. In einem rein phänetischen Konzept würde die Behandlung heteromorpher Stadien eines Generationszyklus als separate Arten korrekt sein.

chen Arten entlang des Gezeitengradienten vertreten sind, stellen dementsprechend eine Herausforderung dar – handelt es sich hierbei um „echte“ Arten im Sinne des biologischen Artbegriffes oder lediglich um Subspezies oder sogar Varietäten ein und derselben genetischen Entität?

Basierend auf diesen offenen Fragen stellt sich für die vorliegende Arbeit daher die Aufgabe, die drei grundlegenden Artkonzepte an ausgewählten Makroalgen-Taxa aufeinander abzubilden um anhand von Überschneidung und Abgrenzung eine Abschätzung bezüglich der Anwendbarkeit treffen zu können. Die Wahl fiel dabei auf die Gattungen *Fucus* und *Chara*; Vertreter beider Gattungen werden als Bioindikatoren eingesetzt; eine genaue Kenntnis der Grundlagen dieser empirisch abgeleiteten Indikatorfunktion ist daher von großem praktischem Interesse.

1.3 Vorstellung der Untersuchungsgegenstände

1.3.1 Characeae

Characeen (deutsch: Armleuchteralgen) sind submers lebende, hoch differenzierte makrophytische Grünalgen. Systematisch gehören sie zu den Streptophyta (Lewis und McCourt 2004) und bilden zusammen mit den Coleochaetophyceae und Zygnematomyceae die nächsten Verwandten zu den Landpflanzen (Karol et al. 2001, Lewis und McCourt 2004, Finet et al. 2010, Wodniok et al. 2011, Leliaert et al. 2012). Von der phylogenetisch sehr alten Gruppe sind rezent noch sechs Gattungen aus der Familie der Characeae zu finden: *Chara*, *Nitella*, *Tolypella*, *Lychnothamnus*, *Lamprothamnium* und *Nitellopsis*.

Sie wachsen oft in dichten Beständen, die ihrerseits Tieren als Habitat und Nahrungsquelle dienen. In aquatischen Systemen spielen sie damit eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Biodiversität. Zahlreiche Arten werden darüber hinaus, aufgrund ihrer geringen ökologischen Varianz, als Bioindikator für oligo- und mesotrophe Gewässerqualität genutzt (e.g. Krause 1997, Blindow 2000, Selig et al. 2007, Penning et al. 2008, Steinhardt et al. 2009). Eine verlässliche Bestimmung von Characeen-Arten anhand robuster Merkmale ist unerlässlich für die unterschiedlichen Klassifikationssysteme die sowohl im Süß- als auch im Brackwasser angewendet werden (e.g. Melzer 1988, Schubert et al. 2005, Selig et al. 2007).

Wie bei anderen Makroalgen auch, folgt die Taxonomie von Characeen hauptsächlich einem rein phänetischen Artkonzept, wobei wiederum die genutzten morphologischen

Charakteristika in den meisten Fällen nicht mit der Reproduktion und damit dem biologischen Artkonzept in Verbindung gebracht werden können. Innerhalb dieser Gruppe hat die Diskussion über sinnvolle taxonomische Einheiten zu zwei extremen Systemen geführt, die parallel zur Anwendung kommen. Ein traditionelles Mikroarten-Konzept unterscheidet (z. B. Braun 1839, 1882, Migula 1898, Krause 1997) beispielsweise ungefähr 30 europäische Arten innerhalb der Gattung *Chara* mit einer begrenzten Anzahl an Varietäten und Formen. Diesem System steht ein Makroarten-Konzept gegenüber, das von Wood & Imahori (1965) entwickelt wurde und weltweit nur zwischen 18 Arten der Gattung *Chara* unterscheidet. Um der hohen morphologischen Variabilität dieser Makroarten gerecht zu werden, zeichnen sie sich durch eine Vielzahl an Subspezies, Varietäten und Formen aus.

Beide oben erwähnten Konzepte basieren dabei auf einem System, das ursprünglich von Migula (1898) eingeführt wurde, nehmen aber eine stark unterschiedliche Wichtung der einzelnen Merkmale vor. Dabei greifen beide Nachfolgersysteme die grundlegende Einteilung in die Unterfamilien (anhand der Ausbildung des Sporenkrönchens) des Vorgängersystems auf und stimmen auch bezüglich der Abgrenzung der Gattungen überein. Wo sich beide Systeme wesentlich voneinander unterscheiden ist die Bewertung der Relevanz der morphologischen Merkmale, die zur Unterscheidung der Arten, Subspezies und Varietäten herangezogen werden. Wood und Imahori (1965) sahen z. B. in der Häusigkeit ein rein sekundäres Merkmal, welches deshalb keine Bedeutung besaß. Sie vereinten damit eine Vielzahl von monözischen und diözischen Taxa (im Fall von *Chara canescens* sogar darüber hinaus ein parthenogenetisches Taxon) miteinander und verzichteten so auf eines der wenigen in der Gruppe auftretenden Merkmale mit zumindest potentieller Reproduktionsrelevanz. Dass solch eine Auffassung durchaus seine Berechtigung haben kann, zeigen die zahlreichen Beispiele von Triözie sowohl bei höheren Pflanzen (z. B. *Fraxinus excelsior*) als auch bei Algen (z. B. *Porphyra tenera*).

In der Vergangenheit gab es Bemühungen, die zur Artunterscheidung bei Characeen genutzten morphologischen Merkmale nicht nur qualitativ sondern auch quantitativ mit statistischen Verfahren zu bewerten um damit den taxonomischen Rang der einzelnen Taxa besser abschätzen zu können (z. B. Küster et al. 2004). Dabei wurden nicht nur die Pflanzen selbst (z. B. Ahmadi et al. 2012) sondern auch ihre generativen Fortpflanzungseinheiten, die Oosporen, analysiert (Ray et al. 2001, Mandal et al. 2002, Mandal und Ray 2004, Holzhausen et al. 2015). Ein anderer Ansatz versucht über die Bezie-

hung zum biologischen Artkonzept (Kreuzungsversuche; z. B. Blindow et al. 2009) hier zu einer Lösung zu kommen – allerdings tritt dabei sofort das bislang ungelöste Problem der Bewertung kryptischer Arten auf (s.o. Proctor 1971, Perez et al. 2014).

Im letzten Jahrzehnt wurde daher zunehmend versucht, das phylogenetische Artkonzept als Entscheidungshilfe heranzuziehen (Sakayama 2008, Schaible et al. 2009).

Dieses Vorgehen, der Vergleich phylogenetischer Analysen mit morphologischen Merkmalskomplexen, war durchaus von Erfolg gekrönt. Innerhalb der Gattungen *Nitella* und *Tolypella* konnte durch den Vergleich der Ergebnisse morphologischer Analysen mit der Variabilität von DNA Markersequenzen die Gültigkeit des traditionellen Mikroarten-Konzeptes unterstützt werden (Sakayama 2008, Perez et al. 2014). Die, verglichen mit den obigen Gattungen, große Vielfalt an zur Verfügung stehenden morphologischen Merkmalen innerhalb der Gattung *Chara* lässt vermuten, dass damit ebenfalls eine hohe genetische Variabilität verbunden ist. Bisher wurden zwar nur vereinzelt genetische Untersuchungen an ausgewählten Gruppen dieser Gattung durchgeführt, aber bereits hier erwiesen sich die verwendeten genetischen Marker (18S rRNA, *rbcL*) meist als überraschend konservativ (Meiers et al. 1999, Karol 2004). Um diesem Problem zu begegnen, wurden in der Gattung *Chara* auch Ansätze mit Markern höherer Variabilität wie z. B. Mikrosatelliten-Markern durchgeführt (Schaible et al. 2009). Selbst AFLP Analysen (Amplified Fragment Length Polymorphism) kamen ungeachtet der Tatsache, dass sie nur sehr begrenzt Aufschluss über phylogenetische Zusammenhänge geben, zum Einsatz (Boegle et al. 2010a, 2010b, Urbaniak und Combik 2013). Der letzte Entwicklungstrend versucht durch Kombination unterschiedlicher Marker eine ausreichende Trennschärfe innerhalb der Gattung *Chara* zu erzielen. So berichten Schneider et al. (2015b) über eine erfolgreiche Analyse der phylogenetischen Beziehungen einer bislang schwer zu trennenden Artengruppe der Gattung *Chara* mittels Untersuchung von drei Regionen des Kern- und Chloroplastengenoms. Diese Arbeit weist, da die hier analysierte Anzahl an Basenpaaren recht gering war, auf das hohe Potential dieser Vorgehensweise hin.

Trotz dieser Fortschritte lassen alle angeführten Arbeiten bislang keine endgültigen Schlüsse zu; eine klare Entscheidung, in welchem Maße die beiden oben angeführten morphologischen Konzepte die Phylogenie der Gattung *Chara* widerspiegeln, konnte bislang nicht getroffen werden.

1.3.2 *Fucus*

Die Gattung *Fucus* umfasst eine Gruppe hochentwickelter Braunalgen (Phaeophyceae), deren Thallus in unterschiedliche Gewebe⁶ differenziert ist und die sich vor allem hinsichtlich des Besitzes einer Eizelle von anderen Braunalgen unterscheidet⁷. *Fucus*-Arten sind vor allem im Eulitoral wesentliche Strukturbildner; ihr Vorkommen bietet die Voraussetzungen für das Auftreten einer Vielzahl weiterer auto- und heterotropher Organismen. So bieten dichte *Fucus*-Bestände Schutz vor zahlreichen Fraßfeinden und abiotische Extremzuständen (Trockenfallen, Licht- und UV-Stress), dienen als Nahrungsquelle und werden von einer Vielzahl an Algen und Invertebraten als Wachstumssubstrat genutzt (Janke 1986, 1990, Kornmann und Sahling 1977, Bartsch und Tittley 2004). Dementsprechend stellen *Fucus*-Bestände eine wichtige Säule in der Bewertung des ökologischen Zustandes von Küstenregionen dar.

Zumindest im nordeuropäischen Raum erscheint die sichere Identifikation von *Fucus*-Individuen einfach, da die Bestimmungsmerkmale sehr prägnant erscheinen. So besitzt *F. vesiculosus* echte Blasen (=Vesikel) auf dem Thallus und weist aufgeblähte Rezeptakel auf. Der Thallus von *F. serratus* ist gezähnt und hat flache Rezeptakula; *F. spiralis* weist einen spiralig verdrehten Thallus und einen ausgeprägten sterilen Rand an den aufgeblähten Rezeptakula auf. Typische Vertreter sind damit leicht voneinander zu unterscheiden. Allerdings weisen die Vertreter aller bislang untersuchten Arten der Gattung *Fucus*, einschließlich der drei oben genannten, eine hohe morphologische Plastizität auf, die sich nicht nur auf rein metrische Parameter beschränkt. Je nach konkretem Expositionsgrad, Süßwassereinfluss, Jahreszeit, Verschmutzungsgrad und weiteren Einflussgrößen sind die oben genannten Merkmale entweder nicht zu beobachten (fehlende Rezeptakel, Thallusfläche bis auf die Mittelrippen reduziert) oder nicht konsistent (Burrows und Lodge 1951, Russell 1988, Munda und Kremer 1997, Madsen et al. 2001, Bartsch und Tittley 2004, Cairrão et al. 2009). So kann *F. vesiculosus* als var. *linearis* auftreten; bevorzugt an süßwasserbeeinflussten Standorten bzw. mit ansteigender Höhe im Gezeitengradient, so dass das Hauptmerkmal der Vesikel nicht mehr vorhanden ist.

⁶ Rhizoid, Cauloid, Phylloid – erinnert an Wurzel, Sproß, Blatt der Gefäßpflanzen, aber nicht so hoch differenziert.

⁷ Die mehrjährige, diploide *Fucus*-Pflanze kann als Sporophyt verstanden werden, dessen Meiosporen direkt zum fast vollständig reduzierten Gametophyten werden. Die Oogonien und Spermatogonien befinden sich in dicht stehenden kugelförmigen Einsenkungen, den Konzeptakeln, die in Rezeptakeln an den Blattspitzen lokalisiert sind und alljährlich abgeworfen werden.

Auch ein spiralförmiges Wachstum ist, vor allem an stark exponierten Standorten, nicht selten.

Fucus spiralis tritt in zwei Erscheinungsformen auf: A) mit ausgeprägtem sterilen Rand, aber weitgehend geradem Wuchs (= *F. spiralis* var. *platycarpus* (Thuret) Batters 1902⁸) oder B) ohne sterilen Rand, dann meist spiralig wachsend. Beide Formen eint das Vorkommen in der obersten Etage des Littorals sowie die Einhäusigkeit. Bereits hier tritt jedoch das Problem auf, einen weit oben im Gezeitengradienten wachsenden *F. vesiculosus* var. *linearis* von *F. spiralis* zu trennen; der einzige Parameter wäre die Häusigkeit, wobei völlig ungeklärt ist, inwieweit es sich hier um ein stabiles Merkmal oder lediglich eine Verschiebung der Häufigkeit des Auftretens innerhalb einer triözi-schen Sippe handelt.

Die Frage nach der sexuellen Isolation innerhalb der Gattung *Fucus* wurde in jüngster Vergangenheit aktuell. Auf Helgoland ist *F. spiralis* vorwiegend als var. *platycarpus* verbreitet, deren Rezeptakula zwar einen sterilen Rand, jedoch keinen spiralisierten Thallus aufweisen. Die *Fucus*-Arten der Insel Helgoland unterscheiden sich von anderen nordeuropäischen Standorten bezüglich ihrer Populationsstruktur und Morphologie; so weisen sie z. B. längere und schmalere Thalli im Vergleich zu Individuen anderer Standorte in Westeuropa auf (Munda und Kremer 1997). Seit einigen Jahren wird jedoch ein Morphotyp von *Fucus* auf Helgoland angetroffen, dessen Abweichungen vom gewohnten morphologischen Muster sowie seine Stellung im litoralen Tiefengradienten eine Zuordnung zu den bislang beschriebenen Helgoland Taxa problematisch macht (Kommann und Sahling 1994). Da Hybridisierungen innerhalb der Gattung *Fucus* ausgiebig dokumentiert sind (z. B. Coyer et al. 2002, Wallace et al. 2004, Neiva et al. 2010), kann es sich hier einerseits um das Ergebnis der Einkreuzung eines Neuankömmlings – z. B. *F. ceranoides* – handeln (Kommann und Sahling 1994, Bartsch und Kuhlenkamp 2000). Andererseits kann es sich dabei auch um das Ergebnis genetischer Drift aufgrund der isolierten Lage der Insel oder um eine Verschiebung der Häufigkeit des Auftretens von Hybriden der bereits etablierten Arten handeln.

Solche Vermutungen werden gestützt durch die Tatsache, dass für die Gattung *Fucus* eine schnelle genetische Entwicklung bereits nachgewiesen wurde: Mit Hilfe von mole-

⁸ Basierend auf morphologischen, physiologischen und genetischen Untersuchungen schlugen Zardi et al. (2011) vor, *F. spiralis* var. *platycarpus* als *F. guiryi* den Status einer Art zuzusprechen. Beide Formen sollen daher so weit wie möglich im weiteren Verlauf der Arbeit voneinander unterschieden werden. Da diese Diskussion bisher jedoch nicht abgeschlossen ist, wird dabei der Name *F. spiralis* var. *platycarpus* verwendet.

kularbiologischen Methoden (Mikrosatelliten-Marker) konnte *F. radicans* als distinkte Art identifiziert werden, nachdem sie lange Zeit als Ökotypus von *F. vesiculosus* beschrieben war (Bergström et al. 2005).

Die oben bereits erwähnte Fragestellung – Abgrenzung einer Art – stellt sich damit hier erneut in vollem Umfang: beiden Taxa, *F. vesiculosus* und *F. spiralis*, sind nach dem ökologischem Konzept entsprechend ihrer Stellung im Gezeitengradienten gut voneinander trennbar; allerdings gibt es auch einen Überschneidungsbereich. Morphologisch weisen sie in „typischer“ Ausprägung klare Unterschiede auf; regionale Populationen sowie *F. vesiculosus* im ökologischen Überschneidungsbereich lassen hier jedoch nur noch ein Merkmal, das der Häufigkeit, übrig. Nach dem biologischen Artkonzept sind Hybride zwischen beiden Arten bereits bekannt, über deren Fortpflanzungserfolg liegen jedoch keine Informationen vor. Wie bei der Gattung *Chara* liegt daher die Hoffnung auf der Anwendung des genetischen Analysenrepertoires, um eine sichere Zuordnung der Morphotypen zu Verwandtschaftskreisen vornehmen zu können und, unter Hinzuziehung der Standortbedingungen die Frage nach Art, Unterart oder Varietät der bislang verwendeten Taxa klären zu können.

1.4 Hypothesen

Innerhalb dieser Arbeit soll die Anwendbarkeit der drei grundlegenden Artkonzepte für die Makroalgen der Gattungen *Chara* und *Fucus* untersucht werden, wobei sich die nachfolgenden Analysen auf folgende Hypothesen stützen:

1. Genetische Analysen können dazu genutzt werden, natürliche taxonomische Einheiten innerhalb der Gattung *Chara* darzustellen.
2. Innerhalb der Gattung *Chara* bestehen Übereinstimmungen zwischen genetischer Variabilität und morphologischer Plastizität.
3. Der auffällige Morphotyp der Gattung *Fucus* auf Helgoland ist ein Ökotyp von *F. vesiculosus*.

Um diese Hypothesen zu prüfen, wurden Taxa der Familie der Characeae und der Gattung *Fucus* sowohl traditionell nach dem morphologischen und dem ökologischen Artkonzept analysiert als auch durch die Sequenzierung spezifischer DNA Marker genetisch charakterisiert. Im Anschluss wurden die erhaltenen Systeme miteinander verglichen. Die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen sollten neben der konkreten Fragestellung dazu verwendet werden, die Anwendbarkeit der drei Artkonzepte auf die Verhältnisse innerhalb von Makroalgen darzustellen.

2. Material und Methoden

2.1 Morphologie Characeae

Wie bereits beschrieben beruht die Artdifferenzierung innerhalb der Characeen hauptsächlich auf morphologischen Merkmalen. Dabei besteht der schachtelhalmähnliche Thallus in abwechselnder Reihenfolge aus langgestreckten Internodialabschnitten und kurzen Knotenbereichen, an denen die Quirläste entspringen. Die Pflanze ist im Sediment durch ein Rhizoid verankert. Je nach Gattung können die Quirläste (verzweigt oder unverzweigt), die Stipularen (einreihig oder zweireihig) sowie die Berindung (berindet oder unberindet) unterschiedlich ausgeprägt sein (Abbildung 1).

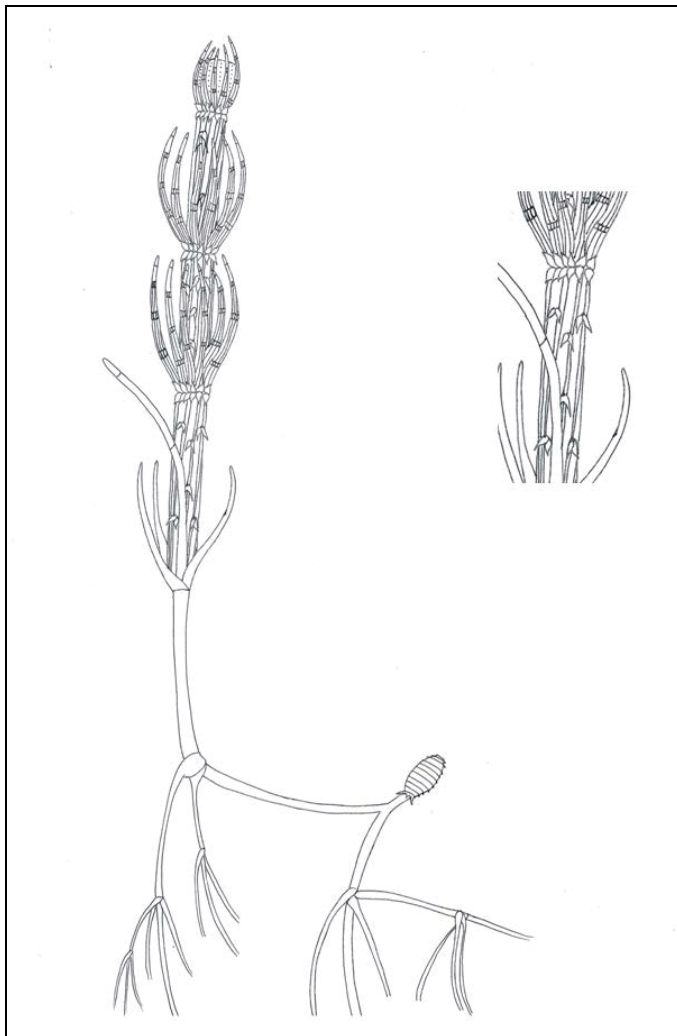


Abbildung 1 Schematische Darstellung einer diplostich tylacanthen *Chara* (z. B. *C. intermedia*).

Im Falle der Gattung *Chara* kann die Berindung der Internodien haplostich (Anzahl der Rindenreihen entspricht der Anzahl der Quirläste), diplostich (zweimal so viele Rindenreihen wie Quirläste) oder triplostich (dreimal so viele Rindenreihen wie Quirläste) ausfallen. Im Weiteren unterscheidet man zwischen aulacanthen (sekundäre Rindenreihen größer, Stacheln auf den dünneren primären Rindenzellen), tylacanthen (sekundäre Rindenreihen kleiner, Stacheln auf den dickeren primären Rindenzellen) und isostichen (primäre und sekundäre Rindenzellen gleich stark ausgeprägt) Berindungsformen, wobei die Stacheln von einzelnen, kurzen, papillenförmigen Typen bis hin zu langen und in Gruppen angeordneten Formen reichen. Bei den berindeten Quirlästen kann die Berindung vollständig oder unvollständig ausgebildet sein und ist, im Vergleich zu den Internodialzellen unregelmäßig. An den Knoten der Quirläste entwickeln sich die Gametangien, wobei man zwischen monözischen (Antheridien und Oogonien an einer Pflanze) und diözischen (Antheridien und Oogonien an unterschiedlichen Pflanzen) Arten unterscheidet. Ebenfalls an den Knoten der Quirläste entspringen die Blättchen und die Brakteolen (Tragblätter gegenüber der Oogonien) und im Falle von diözischen, weiblichen Characeen wird anstelle des Antheridiums eine sogenannte Braktee an den Knoten ausgebildet.

Die Nomenklatur der Characeae wird gegenwärtig überarbeitet, wobei die zugehörige Arbeit jedoch noch nicht veröffentlicht wurde und sich die vorliegende Arbeit daher an dem Konzept, wie es von Wood und Imahori (1965) sowie von Krause (1997) definiert wurde, orientiert. Dabei unterschied Krause (1997) 29 Mikroarten innerhalb der Gattung *Chara* und 12 innerhalb der Gattung *Nitella*.

2.2 Genetische Analyse Characeae

2.2.1 Probenahme

Um die genetische Variabilität der Gattung *Chara* zu bestimmen, wurden für den ersten Teil („CHARA-SCHWEDEN“) dieser Untersuchung 15 *Chara*-Taxa in Schweden sowohl im Süß- als auch im Brackwasser gesammelt (Tabelle A1), wobei nur Individuen in diese Analyse miteinbezogen wurden, bei denen die diagnostischen Merkmale des Mikroarten-Konzeptes vollständig ausgeprägt waren. Damit wurde sichergestellt, dass für diesen Teil der Untersuchung keine Übergangsformen mit unklarer taxonomischer Zuordnung eine genetische Grundlage für den Vergleich von morphologischem und phylogenetischem Artkonzept bildeten. Basierend auf Wood und Imahori's (1965) Einteil-

lung, welche vorwiegend auf dem Berindungstypus beruht, wurden Taxa der drei Sektionen Chara, Desvauxia und Grovesia analysiert. Die Art *C. canescens* ist der einzige Vertreter der Sektion Desvauxia in Europa und zeichnet sich durch eine haplostiche Berindung aus. Bei den neun untersuchten diplostichen Taxa der Sektion Chara handelte es sich um *C. baltica*, *C. contraria*, *C. filiformis*, *C. hispida*, *C. horrida*, *C. intermedia*, *C. rudis*⁹, *C. tomentosa* und *C. vulgaris*. Ein gegenwärtig als morphologische Varietät von *C. baltica* angesehenes Taxon (Schubert und Blindow 2004) ging ebenfalls in die Analyse mit ein und wird der Einfachheit folgend im Weiteren als *C. liljebladii*¹⁰ aufgeführt. Die vier triplostichen Arten, *C. aspera*, *C. connivens*, *C. globularis* und *C. virgata* gehörten der Sektion Grovesia an, wobei die Proben der Art *C. aspera* sowohl im Süß- als auch im Brackwasser gesammelt wurden.

Für den zweiten Datensatz („CHARA-EUROPA“) dieser Untersuchung wurden insgesamt 218¹¹ Individuen der Gattung *Chara* und ein Individuum der Gattung *Lamprothamnium* in insgesamt 15 Ländern Europas und vereinzelt auch in der Ukraine, Russland und Afrika gesammelt und konnten insgesamt 23 Taxa zugeordnet werden (Tabelle A1). Neben den oben aufgeführten Arten, ergänzten die Taxa *C. denudata*¹², *C. gymnophylla* und *C. polyacantha*¹³ die Liste der Arten in der Sektion Chara. Individuen, die morphologisch *C. intermedia* zugeordnet werden konnten, jedoch in einem Inlandbrackwassersee gesammelt wurden, werden in dieser Arbeit als *C. papillosa* gekennzeichnet. Diese Vorgehensweise ist rein pragmatisch begründet, da eine Lösung der nomenklatorischen und taxonomischen Probleme, die sich mit dem Namen *C. intermedia* verbinden (siehe Schubert et al. in Druck) ggw. nicht möglich ist. Innerhalb der Sektion Grovesia wurden zusätzlich die Taxa *C. galioides*, *C. strigosa* und *C. tenuispina* beprobt. Mit der unbe-

⁹ Der Name ist illegitim, der ggw. gültige ist *Chara subspinoso* Rupr., Symb. Pl. Ross.: 225. 1846. Jedoch ist die dazugehörige Veröffentlichung noch nicht erschienen (AG Chara, in Druck), so dass in Anlehnung an Krause (1997) der Name *C. rudis* verwendet wird.

¹⁰ ≡ *Chara baltica* (Hartman) Bruzelius var. *liljebladii* (Wallman) H. Schub., Blindow & K. Weyer 2015 [Basionym: *Chara liljebladii* Wallman, Kongl. Vetensk.-Akad. Handl. 1852: 314. 1853]

¹¹ Teile der Sequenzen wurde dabei in den Qualifizierungsarbeiten von Ammon 2011 und Eberlein 2015 erzeugt.

¹² Der Name *Chara denudata* A. Braun in Drège, Flora 26 Beigabe: 50. 1843, ist ein n. inv., wenn überhaupt, kann hier nur: *Chara denudata* A. Braun, Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Gesamten Naturwiss. 10(3): 5. 1847 Verwendung finden. Diese afrikanische Form wird aber ggw. (AG Chara, in Druck) als *Chara dissoluta* A. Braun ex Leonh. f. *africana* Mig., Charac. Deutschl. 384. 1891 aufgefasst und ist also mit den hier verwendeten Organismen NICHT identisch. Da das Buch der AG Chara ggw. noch nicht erschienen ist, wird, in Anlehnung an Krause (1997), der Name *C. denudata* verwendet.

¹³ Dieser Name ist ein n. inv., da ohne Beschreibung von Merkmalen publiziert – nach AG Chara (in Druck) ist *Chara aculeolata* Kütz. in Rehb., Fl. Germ. Excurs.: 843. 1832 der gültige Name – das Buch ist jedoch noch nicht erschienen ist, wird auch hier in Anlehnung an Krause (1997) der Name *C. polyacantha* verwendet.

rindeten *C. baueri* wurde ein Taxon aus der Sektion Charopsis und mit *Lamprothamnium papulosum* ein Taxon aus der Schwestergattung in diese Analyse miteinbezogen.

Um den Vergleich der genetischen Variabilität unterschiedlicher Gattungen der Familie der Characeae durchzuführen, wurden für einen dritten Datensatz („NITELLA“) die Taxa *N. confervacea*, *N. flexilis*, *N. gracilis*, *N. hyalina*, *N. mucronata*, *N. opaca* und *N. tenuissima* in sieben europäischen Ländern gesammelt. Zusätzlich wurden in diesem Datensatz Proben der Taxa *C. baueri*, *Nitellopsis obtusa*, *Lamprothamnium papulosum*, *Lychnothamnus barbatus* und zwei Arten der Gattung *Tolypella* (*T. glomerata*, *T. prolifera*) sequenziert (Tabelle A1).

Von allen Proben wurden Herbarbelege bzw. genaue morphologische Beschreibungen sowie Fotos angefertigt und anschließend wurde ein Teil der Alge eingefroren und lyophilisiert oder direkt mit Hilfe von Silikagel getrocknet.

2.2.2 DNA Isolation, PCR und Sequenzierung

Die gesamtgenomische DNA wurde mit Hilfe des DNAeasy PlantMini Kits (Quiagen, Hilden, Germany) dem Herstellerprotokoll folgend aus 2-10 mg getrocknetem Pflanzenmaterials isoliert und anschließend wurden, je nach Datensatz die genetischen Marker in einer PCR vervielfältigt.

Die Chloroplastengene *rbcL* und *matK* kamen schon in früheren Arbeiten innerhalb der Characeae zur Anwendung (McCourt et al. 1999, Sanders et al. 2003, Schneider et al. 2015b) und sollten auch in dieser Arbeit für die genetische Charakterisierung genutzt werden. Das funktionale Gen *rbcL* ist 1428 bp lang, kodiert für die große Untereinheit der Ribulose-1,5-Bisphosphat-Oxygenase/Carboxylase und katalysiert die Kohlenstofffixierung in der Dunkelreaktion der Photosynthese. Für die Proben der Gattung *Chara* wurden mit den Primern 1a und 1b ein 1108 bp-langes und für die Gattungen *Nitella*, *Lychnothamnus* und *Nitellopsis* mit den Primer RH1 und 1385R ein 1359 bp langes Stück in einer PCR vervielfältigt (Tabelle 1). Die Maturase *matK* (ORF: ~1500 bp), eines der am schnellsten evolvierenden Chloroplastengene (Barthel und Hilu 2008), ist Teil des Gruppe II Introns der *trnK* und wirkt während der Proteinsynthese als hochspezifischer *Splicing*-Faktor. Die Bedeutung dieser Region wurde bisher vielfältig diskutiert und neben einer Beteiligung an der Expression des Photosyntheseapparates¹⁴,

¹⁴ Bei Pflanzen, die keine Photosynthese betreiben, gingen neben Genen des Photosyntheseapparates auch die Region des *matK* verloren (Krause 2011).

wird auch die Bedeutung als Transkriptionsregulator während der Expression von ATP-Synthasen in Betracht gezogen (Schmitz-Linneweber et al. 2015). Die hierbei verwendeten Primer *matK*-F2 und *matK*-R1b wurden in dieser Studie spezifisch für die Gattung *Chara* entwickelt und amplifizieren 1202 bp des Gens (Tabelle 1). Neben diesen beiden Barcode-Regionen sollten 1208 bp des ebenfalls auf dem Plastom lokalisierten Gens *atpB* mit dem Primerpaar *atpB*-F und *atpB*-R amplifiziert werden (Tabelle 1). Die β -Untereinheit einer membrangebundenen ATP-Synthase ist insgesamt 1482 bp lang und wurde bereits erfolgreich bei der phylogenetischen Rekonstruktion der Gattung *Nitella* eingesetzt (Sakayama 2008).

Die beiden nuklearen Regionen 18S rRNA und nrITS-1 (nrITS1-5,8S rRNA) sind schon wiederholt für phylogenetische Analysen unterschiedlichster Gruppen herangezogen wurden, so auch zur Klärung der Beziehungen der Arten der Gattung *Nitella* (Sakayama et al. 2004a). Beide Loci sind Teil der ribosomalen RNA-Gencluster des Kerngenoms und während die 18S rRNA (SSU) hoch konservativ ist, sind die nichtkodierten ITS-Regionen hochvariabel. Für die PCR wurden die bereits etablierten Primer 18S-F und 18S-R' für die 18S rRNA und ITSfw und ITSrev für die nrITS-1-Region genutzt (Tabelle 1). Für den ersten Datensatz („CHARA-SCHWEDEN“) wurden alle fünf Marker, für den zweiten („CHARA-EUROPA“) *matK* und für den dritten Datensatz („NITELLA“) *rbcL* amplifiziert.

Anschließend wurden die Produkte der PCR über ein innuPREP Gel Extraction Kit (Analytik Jena AG, Jena, Deutschland) gereinigt und mit einem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) direkt sequenziert, wobei die verwendeten Sequenzierprimer denen der PCR entsprachen.

Tabelle 1 Übersicht der in den PCRs verwendeten Primerpaare.

Primer	Sequenz (5' - 3')	Quelle
<i>rbcL</i> -1a	TCG TGT AAC TCC ACA ACC TG	Schaible et al. 2009
<i>rbcL</i> -1b	TAC TCG GTT AGC TAC AGC TC	Schaible et al. 2009
<i>rbcL</i> -RH1	ATG TCA CCA CAA ACA GAA ACT AAA GC	Manhart 1994
<i>rbcL</i> -1385R	AAT TCA AAT TTA ATT TCT TTC C	Manhart 1994
<i>matK</i> -F2	GAA TGA GCT TAA ACA AGG ATT C	Ammon 2011
<i>matK</i> -R1b	GCA GCC TTA TGA ATT GGA TAG C	Ammon 2011
<i>atpB</i> -F	TGT TAC TTG TGA AGT TCA ACA	Nozaki et al. 1999
<i>atpB</i> -R	CCT ACT AAG TAG AAT GCT TGT T	Nozaki et al. 1999
18S-F	AAC CTG GTT GAT CCT GCC AGT	Katana et al. 2001
18S-R	TGA TCC TTC TGC AGG TTC ACC TAC G	Katana et al. 2001
ITSfw	GAT TGA ATG GTC CGG TGA AGT G	Sakayama et al. 2004a
ITSrev	CAC TAC GTA TCG CAT TTC GCT G	Sakayama et al. 2004a

2.2.3 Phylogenetische Analyse

Mit Hilfe des Programmpakets BioEdit (Hall 1999) wurden die erhaltenen Sequenzen kontrolliert und, basierend auf dem Algorithmus ClustalW (Thompson et al. 1994), Alignments erstellt. Für die phylogenetische Analyse wurden diese manuell optimiert, wobei Proben mit identischen Sequenzen als eine taxonomische Einheit bewertet wurden. Das hoch konservierte Zentrum (~500 bp) innerhalb der 18S rRNA wurde nicht in die Analyse miteinbezogen. In den Alignments der ribosomalen Bereiche („CHARA-SCHWEDEN“: 1-161 bp) und des Markers *matK* („CHARA-EUROPA“: 6 bp) traten sogenannte „Indels“ auf, die als „present/absent-Matrix“ in die Analyse mit eingingen, wobei zusammenhängende Indels als ein einziges evolutionäres Ereignis bewertet wurden (Simmons und Ochoterena 2000, Simmons et al. 2007, Nagy et al. 2012). Die „present/absent-Matrix wurde mit Hilfe des Programms FastGap (Löytynoja und Goldman 2008) erstellt. Um im Weiteren ein Multigen-Alignment für die phylogenetische Analyse nutzen zu können, wurde mit dem Programmpaket PAUP (Version 4.0 beta 10, Swofford 1998) ein Partition-Homogenitäts-Test durchgeführt, welcher keine Unstimmigkeiten zwischen den fünf sequenzierten Markern feststellen konnte. Daraufhin wurden zwei Alignments für die Analyse des ersten Datensets („CHARA-SCHWEDEN“) zusammengestellt. In einem ersten Alignment wurden die Regionen *atpB*, *rbcL* und 18S rRNA zusammen mit den GenBank-Sequenzen von *Lychnothamnus barbatus* (AF408784, AF097171, AF408225) und *Nitella hyalina* (AY823685, AY823703, AY823711) als Außengruppe analysiert. In einem zweiten Alignment wurden die fünf sequenzierten Bereiche von *rbcL*, *atpB*, *matK*, 18S rRNA und nrITS-1 ohne eine Außengruppe ausgewertet, da aufgrund der großen Variabilität der nrITS-1 eine Alinierung mit Taxa anderer Gattungen nicht durchzuführen war. Für das zweite Datenset („CHARA-EUROPA“) wurden Sequenzen der Taxa *C. longifolia* (AY170444), *C. connivens* (AY170442), *C. globularis* (AY170443), *C. polyacantha* (AY170445), *C. vulgaris* (DQ229102, NC00803) und *Lamprothamnium macropogon* (AY170446) aus der GenBank ins Alignment integriert und *Nitellopsis obtusa* (AY170447) als Außengruppe verwendet. Damit wurde die Zahl der 24 untersuchten morphologischen Taxa mit *C. longifolia*, *Lamprothamnium macropogon* und *Nitellopsis obtusa* in der phylogenetischen Analyse auf 27 erhöht. Das dritte Datenset („NITELLA“) wurde zusammen mit *rbcL*-GenBank-Sequenzen von *C. braunii* (AB606676), *N. flexilis* (AB076055,

AB076056), *N. hyalina* (AB076067, AY823703), *N. opaca* (AF097174), *Nitellopsis obtusa* (AY823702, U27530), *Lamprothamnium papulosum* (AF097170), *Lychnothamnus barbatus* (AF097171, AF097172), *Tolypella glomerata* (AF097176), *T. intricata* (KJ395918), *T. nidifica* (U27531), *T. porteri* (KJ395922) und *T. prolifera* (KJ395923) ausgewertet, wobei eine Sequenz von *Chlamydomonas* (EF537908, Eddie et al. 2008) als Außengruppe diente.

Um die Variabilität der sequenzierten Regionen darzustellen, wurden mit dem Programmpaket MEGA6 (Tamura et al. 2013) die unkorrigierten paarweisen genetischen Distanzen, die Anzahl der Nukleotid-Substitutionen und die Anzahl der variablen und parsimonie-informativen Bereiche der Sequenzen aller drei Datensätze bestimmt. Zur Rekonstruktion der phylogenetischen Stammbäume wurden im Anschluss drei verschiedene Verfahren angewendet und zu einem Konsensusbaum zusammengefügt. Dabei kamen das *Maximum Parsimony* (MP) und *Maximum Likelihood* (ML) Verfahren innerhalb des Programmpakets MEGA6 (Tamura et al. 2013) und das *Bayesian Inference* (BI) Verfahren des Programms MrBayes 3.1.2 (Ronquist und Huelsenbeck 2003) zur Anwendung. Die passenden Modelle der Sequenzevolution für das ML- und BI-Verfahren wurden unter Verwendung des *Akaike Information Criterion* ebenfalls mit MEGA6 (Tamura et al. 2013) ermittelt und ergaben für alle Datensets das komplexe GTR + I + G-Model. Um die phylogenetischen Wahrscheinlichkeiten der berechneten Stammbäume abschätzen zu können, wurden für das MP- und ML-Verfahren Bootstrap-Werte basierend auf 1000 Wiederholungen berechnet. Für das BI-Verfahren wurden Posteriori-Wahrscheinlichkeiten beruhend auf 2 Millionen Generationen und einen *Burn-In* von 10 % (1800 Einzelbäumen) genutzt.

Zur Beurteilung der in dieser Analyse verwendeten Stichprobenzahl wurde eine Rarefaction-Analyse (Coleman et al. 1982) mit Hilfe von Excel (Microsoft, USA) durchgeführt. Dabei wurden die zugehörigen genetischen Haplotypen für jedes Individuum aufsummiert, in einer Kurve dargestellt und so eine Steigung für die gefundenen Haplotypen bei einer gegebenen Anzahl an untersuchten Individuen bestimmt. Zur statistischen Absicherung wurde diese Berechnung 1000x wiederholt, wobei die Reihenfolge der Individuen für jede Wiederholung verändert wurde. Basierend auf den daraus resultierenden Mittelwerten und Standardabweichungen wurde mit Hilfe einer MONOD-Funktion die maximale Anzahl an zu erwartenden Haplotypen und ein Ks-Wert berech-

net, wobei dieser die Menge an Individuen angibt, die mindestens untersucht werden sollten, um die Hälfte der zu erwartenden Haplotypen zu identifizieren.

2.3 Lichtanpassung von *C. baltica* und *C. liljebladii*

2.3.1 Probenahme und experimentelles Design

Um die morphologische Variabilität von genetisch eng verwandten Taxa abzuschätzen, wurden in der Darß-Zingster-Boddenkette *C. baltica* in der Nähe der „Großen Kirr“ bei Zingst (54°25'37"N; 12°41'20"E) und *C. liljebladii* bei Michaelsdorf (54°22'17"N; 12°34'12"E) gesammelt. Die Darß-Zingster-Boddenkette ist durch starke Schwankungen im Salzgehalt zwischen 2,5 und 8,9 PSU (Zingster Strom, monatliche Messungen von 1988-1992), einen hohen Nährstoffgehalt und ausgeprägte saisonale Temperaturschwankungen gekennzeichnet (Schlungbaum et al. 1994).

Zur Messung des lichtabhängigen Wachstums wurden jeweils 21 Individuen von *C. baltica*¹⁵ und 30 Individuen von *C. liljebladii* identifiziert und bei drei unterschiedlichen Lichtstufen inkubiert. Die Pflanzen wurden einzeln in 1 L Glaszylinder mit einem phosphathaltigen Sediment und einem phosphatfreien Medium kultiviert, um das Wachstum von Phytoplankton und Epiphyten so gering wie möglich zu halten (Wüstenberg et al. 2011). Das Medium enthielt neben einem Eisen- (3,6 μM FeCl_3), einem Nitrat- (3 mM KNO_3) und einem Calciumchloridansatz (3 mM CaCl_2) auch Spurenelemente (0,51 μM MnCl_2 , 0,09 μM ZnSO_4 , 0,09 μM CoSO_4 , 0,10 μM Na_2MoO_4 , 0,01 μM CuSO_4) (Wüstenberg et al. 2011). Mit Hilfe des Salzes Instant Ocean® wurde ein Salzgehalt von 3,5 PSU für beide Taxa eingestellt. Alle Gefäße waren mit einem Glasdeckel verschlossen, um den Verdunstungsverlust zu minimieren. Während der Inkubation wurde die Temperatur durch eine externe Kühlung konstant bei 15°C gehalten und die Beleuchtung erfolgte mit Leuchtstoffröhren (Phillips, TLD 36W/950) 15 Stunden pro Tag. Der gesamte experimentelle Ansatz wurde zunächst eine Woche im Labor akklimatisiert, um ihn anschließend bei unterschiedlichen Lichtintensitäten zu inkubieren. Um diese zu erreichen, wurden die Gefäße mit lichtdurchlässiger Gaze abgedeckt bis Werte von 30, 90 und 240 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erreicht wurden, wobei die Lichtmengen mit Hilfe eines LiCor LI1000 *data logger* bestimmt wurden (LiCor Inc., U.S.A.).

¹⁵ Die Erhebung der Daten für das Taxon *C. baltica* erfolgte im Rahmen der Bachelorarbeit von Sommer (2013).

Um sicher zu gehen, dass die Lichtqualität keine Änderungen erfuhr, wurden für die drei Lichtintensitäten mit dem Macam Spectroradiometer (SR 9910; Macam Inc., Scotland, UK) zusätzlich Lichtspektren mit $\lambda=270-800$ nm aufgenommen und verglichen. Während des Experiments wurde die Stellung der Gefäße zueinander randomisiert, um eventuelle kleinskalige Unterschiede des Lichtklimas auszugleichen.

2.3.2 Morphologische Analyse und statistische Auswertung

Die Messung von morphologischen Merkmalen erfolgte für jedes Individuum vor dem Experiment und nach 4wöchiger Inkubation. Dabei wurden von den ersten zwei Wirteln (vom Köpfchen abwärts) Detailfotos mit einem Olympus SZX-16 angefertigt und mit dem Analyseprogramm Celsens Standard (Olympus, Japan) folgende Merkmale aufgenommen und vermessen: die Länge des Köpfchens, der Internodien, der Quirläste und deren Endzellen, der oberen und unteren Stipularen, der Brakteolen und der Stacheln; der Durchmesser der Internodien und Rindenzellen sowie die Anzahl der unberindeten Glieder der Quirläste. Während des Experiments wurde das Längenwachstum der Individuen einmal pro Woche dokumentiert.

Für die Betrachtung der Variabilität der Einzelparameter wurden mit Hilfe des Programmes IBM® SPSS Statistics software (Version 2.0, IBM, USA) Box-Plots erstellt und die beiden Populationen in Abhängigkeit der Lichtintensität voneinander getrennt verglichen.

Die statistische Auswertung der Gesamtheit der metrischen Parameter beider Taxa erfolgte mit dem Programm Primer 6 (Clarke und Gorley 2006), wobei die Daten vor der Analyse einer z-Transformation unterzogen wurden und die Berechnungen der Distanzen auf der Euklidischen Distanz beruhte. Unterschiede zwischen den Individuen, die bei unterschiedlichen Lichtintensitäten kultiviert wurden, wurden durch eine ANOSIM-Analyse (Clarke und Green 1988) getestet. Dabei werden die Ähnlichkeiten innerhalb der Gruppen mit den Ähnlichkeiten zwischen den Gruppen verglichen und ein R-Wert zwischen 0 und 1 gibt die Höhe und das Vorhandensein dieser Abweichungen an (Clarke und Warwick 2001). Durch eine SIMPER-Analyse (Clarke 1993) wurden die Ähnlichkeiten innerhalb und zwischen den verglichenen Gruppen ermittelt. Zusätzlich wurden Hauptkomponentenanalysen (PCA) durchgeführt, um die Parameter zu bestimmen, die prozentual am stärksten zu einer Trennung zwischen zwei Gruppen beitrugen. So wie auf Grundlage von Distanz-Matrizen Cluster-Analysen (Group-Average-Verfahren)

durchgeführt und MDS-Plots erstellt, die die Beziehungen der Individuen, die unter den drei Lichtintensitäten kultiviert wurden, darstellen sollten.

2.4 Gattung *Fucus*

2.4.1 Morphologische Analyse

Für die morphologische Analyse der Gattung *Fucus* wurden bei 119 Individuen von sieben Arten der Gattung *Fucus* (Tabelle 2) sowohl metrische Daten als auch beschreibende Merkmale aufgenommen¹⁶ (Bäck et al. 1992). Bei den metrischen Parametern handelte es sich um die Gesamtlänge der Pflanze von der Basis bis zur Spitze, die Stiel-
länge und -breite zwischen der Basis und der ältesten Verzweigung (Dichotomie), die Länge und Breite des größten und kleinsten Rezeptakulums, den Abstand von drei aufeinanderfolgenden Dichotomien ausgehend von der jüngsten, die Mittelrippenbreite in der Mitte zwischen zwei Dichotomien und die Thallusbreite ebenfalls in der Mitte zwischen zwei Dichotomien (Abbildung 2). Von den drei letzten Merkmalen wurden jeweils fünf Messungen an unterschiedlichen Stellen durchgeführt und der Mittelwert gebildet. Die Rezeptakel wurden an der breitesten durchgängigen Stelle (d. h. ggf. am Beginn einer Spaltung) vermessen. Ausschlaggebend für die Einordnung als größtes und kleinstes Rezeptakulum war dabei die Gesamtlänge. Weiterhin wurde von jedem Individuum die Form der Rezeptakel, das Auftreten eines sterilen Randes, die Lage der Rezeptakel (terminal oder subterminal), die Form des Thallusrandes (gezähnt/glatt), das Auftreten von Blasen sowie deren Lage, die Form der Mittelrippe (erhaben/flach) und das Auftreten von Aufblähungen als nichtmetrische Parameter dokumentiert. Für die Bestimmung der Häusigkeit wurden Querschnitte der Rezeptakel unter dem Mikroskop analysiert. Um diese Untersuchung auch mit Herbarmaterialien durchführen zu können, wurden die Rezeptakel etwa eine halbe Stunde gewässert, wodurch sie ihre ursprüngliche Form wieder erlangten und, wie das Frischmaterial, auf das Vorkommen von Antheridien und/oder Oogonien untersucht wurden.

Die statistische Analyse der morphologischen Parameter der untersuchten Taxa der Gattung *Fucus* war mit den Methoden, die in Kapitel 2.3.2 angewendet wurden, vergleichbar¹⁷.

¹⁶ Die morphologischen Daten wurden im Rahmen der Bachelorarbeit von Schmidt (2011) erhoben.

¹⁷ Die Ergebnisse der PCA-Analysen sowie der MDS-Plots wurden aus der Bachelorarbeit von Schmidt (2011) übernommen.

Tabelle 2 Übersicht der *Fucus*-Arten, die für die morphologische Analyse genutzt wurden. Die Anzahl der analysierten Individuen ist in Klammern angegeben und morphologisch auffällige Individuen des Taxons *F. vesiculosus* sind mit * gekennzeichnet.

Art	Ort
<i>F. ceranoides</i>	UK (12)
<i>F. cottonii</i>	Irland (8)
<i>F. distichus</i>	Norwegen (3)
<i>F. serratus</i>	Dänemark (3), Helgoland (7), Norwegen (10), UK (7)
<i>F. spiralis</i>	Norwegen (11), UK (13)
<i>F. spiralis</i> var. <i>platycarpus</i>	Helgoland (8)
<i>F. vesiculosus</i>	Estland (10), Helgoland (4*, 9), Norwegen (8), UK (6)

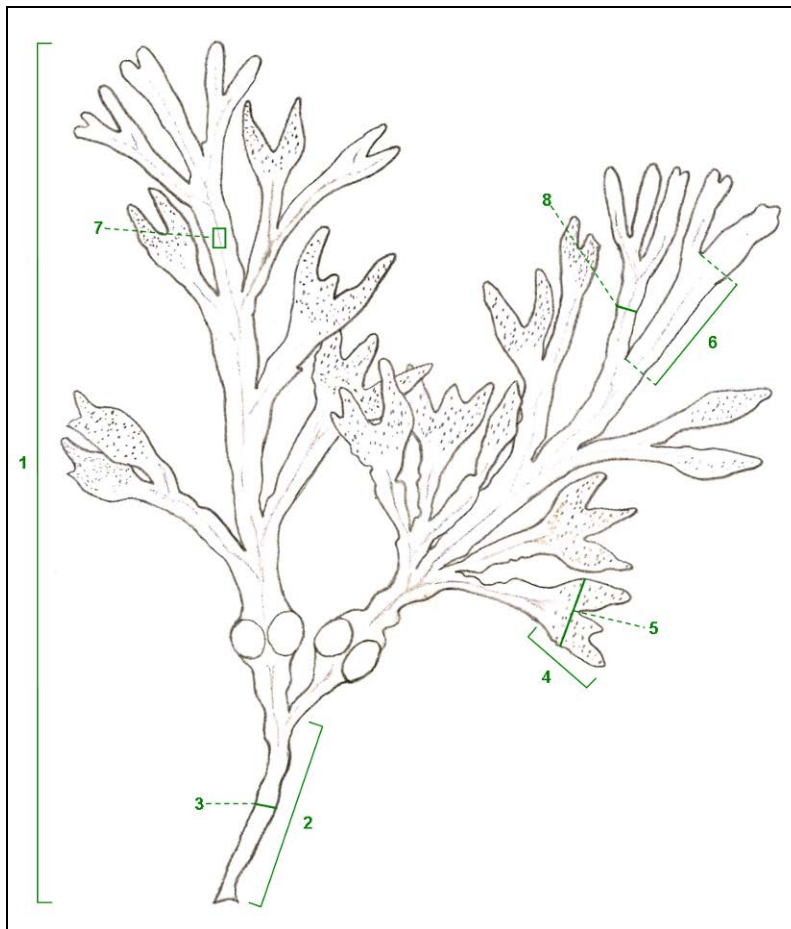


Abbildung 2 Schematische Darstellung eines *F. vesiculosus* mit echten Blasen und ein- bis dreifingrigen Receptakula. Morphologische Parameter, die bei den Individuen vermessen wurden, sind durch Zahlen gekennzeichnet: (1) Gesamtlänge, (2, 3) Stiellänge, -breite, (4, 5) Receptakulumlänge, -breite, (6) Abstand Dichotomie, (7) Mittelrippenbreite, (8) Thallusbreite.

2.4.2 Genetische Analyse

In dieser Analyse wurden insgesamt 97 *Fucus*-Individuen genetisch charakterisiert, die nach dem morphologischen Artkonzept acht unterschiedlichen Taxa zugeordnet werden konnten. Zusätzlich zu dem Standort Helgoland wurden umgebende Küstengebiete beprobt, um eine geographische Variation zu gewährleisten und weitere Arten wie *F. radicans* oder *F. cottonii* in den Datensatz zu integrieren. Im Falle von *F. vesiculosus* wurden sowohl eindeutig bestimmbare Individuen, als auch solche mit ungewöhnlicher Morphologie beprobt. Derartige ungewöhnliche Morphotypen, die dem Habitus der von Kornmann und Sahling (1994) beobachteten Pflanzen entsprachen, wurden außerhalb Helgolands auch auf der Insel Sylt und an der SW-Küste Englands beobachtet. Sie wurden vorläufig als *F. vesiculosus** erfasst und gingen ebenfalls in die genetische Analyse mit ein (Tabelle 3).

Tabelle 3 Übersicht der *Fucus*-Arten, die für die genetische Analyse genutzt wurden. Enthalten sind ebenfalls die Individuen aus der GenBank. Die Anzahl der Individuen ist in Klammern angegeben.

Art	Land
<i>F. ceranoides</i>	England (2), Frankreich (2), Spanien (2)
<i>F. cottonii</i>	Irland (4)
<i>F. distichus</i>	Norwegen (2)
<i>F. radicans</i>	Estland (5)
<i>F. serratus</i>	Deutschland (2), Frankreich (1), Norwegen (1), England (1)
<i>F. spiralis</i>	Frankreich (1), Marocco (1), Portugal (3), England (2)
<i>F. spiralis</i> var. <i>platycarpus</i>	Deutschland (3)
<i>F. vesiculosus</i>	Deutschland (13*,14), Dänemark (2), England (2*), Estland (6), Frankreich (5), Finnland (10), Irland (1), Island (1), Marocco (1), Norwegen (7), Niederlande (1), Portugal (3), Schweden (18), Spanien (2)

Mit Hilfe von Zirkonia/Glaskugeln (Ø: 3 mm, Roth) wurden 2-4 mg getrocknete Thalussstücke in einem Mini-Beadbeater (BioSpec Products, USA) zu feinem Pulver zermahlen und die gesamtgenomische DNA mit dem DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen, Hilden, Deutschland) isoliert. Die Menge und Qualität der gewonnenen DNA wurde durch eine Gelelektrophorese bestimmt und anschließend nach Bedarf Verdünnungen zwischen 1:200 und 1:500 angefertigt. Für die phylogenetische Analyse wurde ein nichtkodierender Bereich aus dem Kerngenom verwendet; die intronreiche Region für eine mögliche Disulfidisomerase (PDI) wurde mit den Primern PDI-F2: 5'- GCG CCA TGA AGA AGT ACA GGT GCG-3' (diese Studie) und PDI-R: 5'-AAC TCC ACC

ATC ACG TCC T-3' (Neiva et al. 2010) in einer PCR amplifiziert. Die PCR-Produkte wurden mit Hilfe eines innuPREP Gel Extraction Kits (Analytik Jena AG, Jena, Deutschland) aufgereinigt und direkt in einem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) direkt sequenziert. Proben mit heterozygoten Signalen wurden mit Hilfe des pGEM-T Vector Systems (Promega, Madison, USA) nach den Herstellerangaben in *Escherichia coli* DH5 α kloniert. Die gewonnene Plasmid-DNA wurde im Anschluß mit Hilfe des illustraTM plasmidPrep Mini Spin Kits (GEHealthcare, Buckinghamshire, GB) aufgereinigt und mit pUC/M13-Primern sequenziert (Forward: 5'-GTT TTC CCA GTC ACG AC-3', Reverse: 5'-CAG GAA ACA GCT ATG AC-3').

Alle Sequenzen wurden zunächst automatisch mit dem Programm BioEdit v. 7.0.5.3 (Hall 1999) abgeglichen und zu Alignments geordnet, die anschließend manuell kontrolliert wurden. Dabei gingen nicht eindeutig sequenzierbare Bereiche nicht in die phylogenetische Analyse ein. Um den Informationsgehalt für die Art *F. ceranoides* zu erweitern, wurden zusätzlich Sequenzen aus der GenBank (GQ385157-GQ385152, GQ385141-GQ385136, AY659874-AY659915, Coyer et al. 2006, Neiva et al. 2010) für die Stammbaumberechnungen genutzt und Indels wurden, wie bereits weiter oben beschrieben, in einer present/absent-Matrix verwendet. Das daraus resultierende Datenset umfasste 696 Basenpaare, bei dem die prozentualen paarweise Distanzen mit dem Programmpaket MEGA v.6 (Tamura et al. 2013) berechnet wurden. Die Berechnung der genetischen Variabilität und der phylogenetischen Stammbäume war mit den in 2.2.3 aufgeführten Details vergleichbar. Zusätzlich wurde mit Hilfe des Programms NETWORK 4.6.1.3 (Bandelt et al. 1999) ein Medien-Joining Netzwerk berechnet, welches auf Basis einer Parsimonie-Methode die evolutionäre Entwicklung der einzelnen Haplotypen in einer detaillierten Darstellung erlaubte. Dafür wurden wiederum Individuen mit identischen Sequenzen als eine einzige genetische Einheit bewertet und mit Hilfe der „star contraction“-Methode (Forster et al. 2001) das doch noch sehr große Datenset von 60 Sequenz-Typen auf 33 reduziert, indem sternförmige phylogenetische Cluster zu einem „Haplotypen“ zusammengefasst wurden.

Auch für dieses Datenset wurde mit Exel (Microsoft, USA) in einer Rarefaction-Analyse die mögliche maximale Anzahl an zu erwartenden PDI-Haplotypen bestimmt.

BOX – TECHNIK

Akaike Information Criterion (AIC) Kriterium zur Auswahl unterschiedlich komplexer Modelle (der Sequenzevolution) auf der Basis von Wahrscheinlichkeiten und Parameterzahl.

Alignment Vergleich homologer Positionen von Nukleotidsequenzen.

Bayesian-Inference (BI) Statistische Methode zur Wahrscheinlichkeitsabschätzung von Stammbaum-Rekonstruktionen bei vorgegebenem Evolutionsmodell.

Bootstrap Statistisches Verfahren, um die Verlässlichkeit der Knoten in einem Stammbaum einzuschätzen.

Burn-in Der Teil der BI-Berechnung, in der zunächst nur suboptimale Bäume mit schlechten „*Likelihoods*“ gefunden werden und der nicht für die Berechnung des BI-Konsensusbaumes genutzt wird.

Indel Das Fehlen eines oder mehrerer Nukleotide im Vergleich zu homologen Nukleotidsequenzen in einem Alignment.

nrITS (*Internal Transcribed Spacer*) Unkodierte Bereiche des Kerngenoms, welche die rRNAs voneinander separieren.

Maximum Likelihood (ML) Ermittelt den Stammbaum, der unter einem gegebenen Evolutionsmodell die Wahrscheinlichkeit der gegebenen Daten maximiert.

Maximum Parsimony (MP) Ermittelt den Stammbaum, der die gegebenen Daten mit der geringsten Zahl an Merkmalsübergängen erklärt.

Nukleotid-Substitutionen Merkmalsunterschiede im Alignment.

ORF (*open reading frame*) Ist eine Folge von Triplettcodons, die (gewöhnlich – aber nicht immer) mit einem Startcodon: ATG beginnen und einem Stoppcodon: TAA, TAG oder TGA enden.

Parsimonie-informativ Merkmale bzw. Alignmentpositionen die in mindestens zwei Merkmalszuständen in dem Alignment vorkommen, und jedes muss jeweils bei mindestens zwei Taxa vertreten sein.

Partition Zwei- oder Mehrfachunterteilung eines Datensatzes, hier: eine Aufteilung basierend auf den Sequenzen der unterschiedlichen Marker.

Posteriori-Wahrscheinlichkeiten In der Bayesianischen Statistik verwendetes Verfahren, um die Verlässlichkeit der Knoten in einem Stammbaum einzuschätzen.

Primer Kurze Oligonukleotide zum Start einer DNA-Synthese während der PCR.

Splicing Das Verknüpfen von Exons nach Entfernung von Introns bei der RNA-Synthese.

Maturasen Am Spleißvorgang beteiligte Enzyme, gelten als die „Vorfahren“ der „*Spleosomen*“ des Kerngenoms.

SSU 18SrRNA, Kleine Untereinheit der ribosomalen RNA.

unkorrigierte p-Distanzen Distanzmaß von zwei miteinander verglichenen Sequenzen, Anzahl der unterschiedlichen Nukleotide dividiert durch die Anzahl verglichener Nukleotide.

3. Ergebnisse

3.1 Characeae

3.1.1 Taxonomische Untersuchung „CHARA-SCHWEDEN“

Die hier vorgestellten Ergebnisse hatten das Ziel, die Anwendbarkeit phylogenetischer Analysen als Hilfsmittel bei der Bewertung der morphologischen Merkmale zur Artabgrenzung in der Gattung *Chara* zu untersuchen. Dafür wurde Probenmaterial aus einem weitgehend geschlossenen und eng umgrenzten geographischen Bereich verwendet. Es sollte damit sichergestellt werden, dass die morphologische Variabilität der einzelnen Genotypen (im Sinne biologischer Arten) möglichst wenig durch intraspezifische genetische Variabilität überlagert wird, d.h. die Unterschiede zwischen den einzelnen Populationen wurden damit so gering wie möglich gehalten.

Konkret wurden insgesamt 5573 bp von 15 Taxa der Gattung *Chara* analysiert, von denen 393 (7,1 %) Positionen variabel und 152 (2,7 %) Positionen parsimonieinformativ waren (Tabelle 4). Die Anzahl der Substitutionen war dabei erstaunlich gering. So konnte in dem kombinierten Alignment aller fünf Marker sowohl für die Sequenzen von *C. rudis* & *C. hispida*, *C. baltica* & *C. liljebladii* oder auch von *C. contraria* & *C. filiformis* keine Substitution beobachtet werden. Die maximale Anzahl von 166 Substitutionen wurde zwischen den Sequenzen der Taxa *C. canescens* und *C. tomentosa* beobachtet, was eine unkorrigierte paarweise genetische Distanz von maximal 3 % ergab (Tabelle A2). Vergleicht man die genetischen Unterschiede der einzelnen Marker, erwies sich nrITS-1 mit einer Variabilität von ca. 19 % und einer durchschnittlichen p-Distanz von 4,8 % als der variabelste und die 18S rRNA mit einer Variabilität von ca. 2 % und einer p-Distanz von 0,65 % als der konservativste analysierte Bereich (Tabelle 4). Die Sequenzvariationen des plastidären Markers *atpB* lagen mit durchschnittlich 0,7 % leicht unter der des Gens *rbcL* mit ca. 1 %. Insgesamt war die prozentuale Distanz der drei Marker (18S rRNA, *atpB*, *rbcL*) vergleichbar, wobei mit den cp-Markern neun und mit der 18S rRNA lediglich sieben Haplotypen voneinander unterschieden wurden (Tabelle 6). Der Locus *matK* war mit einer Variabilität von ca. 10 % und einer durchschnittlichen p-Distanz von 3,1 % der variabelste Plastommarker und zeigte damit eine etwa 3 mal so hohe genetische Variabilität wie die Gene *rbcL* oder *atpB*.

Tabelle 4 Zusammenfassung der Sequenzvariationen innerhalb des Datensets „CHARA-SCHWEDEN“.

	18S rRNA	nrITS-1	<i>rbcL</i>	<i>atpB</i>	<i>matK</i>	kombiniert
gesamt	1165	816-982	1081	1142	1203	5573
variabel	24 (2,1%)	183 (18,6 %)	39 (3,6 %)	26 (2,3%)	121 (10,1 %)	393 (7,1 %)
parsim.- informativ	2 (0,2 %)	79 (8,0 %)	11 (1,0 %)	8 (0,7 %)	47 (3,9 %)	152 (2,7 %)
konserviert	1141 (97,9 %)	623-790 (80,4 %)	1042 (96,4 %)	1116 (97,7 %)	1082 (89,9 %)	5171 (92,8 %)
p-Distanzen (Min, Max)	0,00-1,64 %	0,00-7,55 %	0,00-1,94 %	0,00-1,49 %	0,00-4,57 %	0,00-2,99 %
p-Distanzen (MW)	0,65 %	4,79 %	1,13 %	0,72 %	3,14 %	1,90 %

Der mit den drei unterschiedlichen Berechnungsverfahren (MP, ML und BI) ermittelte Konsensus-Baum der *atpB*, *rbcL* und 18S rRNA-Sequenzen (Abbildung 3) basierte auf 3410 bp und zeigte für die Gattung *Chara* ein strenges monophyletisches Cluster, was mit früheren phylogenetischen Untersuchungen übereinstimmte (McCourt et al. 1999). Mit dem Multi-Gen-Alignment der *rbcL*, *atpB*, *matK*, 18S rRNA und nrITS-1-Sequenzen (Abbildung 4) konnte in einem ungewurzelten Stammbaum, der auf 5573 bp basierte, eine feinere Auflösung der Taxa erreicht werden und die 15 morphologisch trennbaren Taxa konnten in 10 genetischen Clustern aufgetrennt werden. Eine Gruppierung zweier Hauptcluster konnte in beiden Bäumen beobachtet werden: 1) *C. globularis*, *C. connivens* und *C. virgata*; und 2) *C. canescens*, *C. vulgaris*, *C. aspera*, *C. baltica*, *C. liljebladii*, *C. horrida*, *C. contraria*, *C. filiformis*, *C. intermedia*, *C. rudis* und *C. hispida* (Abbildung 3, Abbildung 4). Das Taxon *C. tomentosa* konnte keiner der beiden Cluster zugeordnet werden und bildete mit diesen eine Tritomie¹⁸. Dieses Ergebnis wurde durch paarweise genetische Distanzen von 2,3 bis 3,0 % zu allen übrigen Taxa (Tabelle A2) unterstützt.

Die erste Hauptgruppe setzte sich ausschließlich aus triplostichen Taxa der Sektion *Grovesia* zusammen; wobei *C. globularis* als Schwestertaxon von *C. connivens* und

¹⁸ Tritomie: „Dreifachverzweigung“ Anders als bei einer dichotomen Verzweigung ein simultanes Abzweigen dreier Äste aus einem Knoten. Hier als eine „weiche“ Tritomie zu interpretieren, bei der die Verzweigungsmuster noch ungeklärt sind. Im Gegensatz zu einer harten Polytomie, die eindeutig die gleichzeitige Entstehung von drei oder mehr Nachkommenlinien aus einer Stammform ausdrückt.

C. virgata mit Bootstrap-Werten ≥ 73 % und einer maximalen Posteriori-Wahrscheinlichkeit von 1,0 unterschieden wurde (Abbildung 3, Abbildung 4).

Innerhalb der zweiten Hauptgruppe konnten die Beziehungen der Cluster untereinander nicht eindeutig aufgelöst werden. Das haplostiche Taxon *C. canescens* und das diplostiche Taxon *C. vulgaris* wurden mit p-Distanzen von 1,9 % klar voneinander getrennt (Tabelle A2), wobei beide Taxa auch morphologisch klar durch ihre Berindung und Bestachelung unterschieden wurden (Abbildung 4). Die phylogenetischen Beziehungen von *C. canescens* und *C. vulgaris* zu einem monophyletischen Cluster (Abbildung 3: A bis D) innerhalb der zweiten Hauptgruppe konnte in keinem der beiden Stammbäume aufgelöst werden. Zusammen bildeten diese ebenfalls eine weiche trichotome Verzweigung. Dieses monophyletische Cluster, das sich aus Taxa der Sektionen *Grovesia* and *Chara* zusammensetzte, wurde in beiden Stammbäumen beobachtet und durch hohe Posteriori-Wahrscheinlichkeiten ($\geq 0,98$), aber z.T. nur geringe Bootstrap-Werte ≥ 63 % unterstützt (Abbildung 3, Abbildung 4). Innerhalb dieses Clusters konnten vier robuste Einheiten in beiden Stammbäumen identifiziert werden: A) Vier *C. aspera*-Individuen, welche durch ihre triplostiche Berindung und ihre Diözie morphologisch klar von den übrigen Individuen dieses Clusters getrennt sind, zeigten identische Sequenzen aller DNA-Marker und wurden durch p-Distanzen zwischen 0,6 und 1,3 % von den übrigen getrennt. Die rein diplostiche Gruppe B) setzte sich aus Individuen der Taxa *C. baltica*, *C. liljebladii* und *C. horrida* zusammen, wobei die Sequenzen der *C. baltica* & *C. liljebladii*-Individuen sich durch zwei einzelne Insertionen und eine Substitution innerhalb der nrITS-1 Region von denen der *C. horrida*-Individuen unterschieden. Das dritte Cluster C) bestand aus identischen Sequenzen der diplostichen Taxa *C. contraria* & *C. filiformis*, welche ca. 1 % paarweise Distanz zu den übrigen Sequenzen des Clusters aufwiesen. Gruppe D) bestand aus den diplostichen Taxa *C. intermedia*, *C. rudis* und *C. hispida*, wobei erstere in Abbildung 4 von *C. rudis* & *C. hispida* unterschieden werden konnten. Diese Unterscheidung basierte auf zwei Substitutionen innerhalb der *matK*- und einer Substitution innerhalb der nrITS-1-Sequenzen und führte in Abbildung 4 zu einer maximal unterstützten Abzweigung. Dagegen waren die Sequenzen der Individuen von *C. rudis* & *C. hispida* auch mit 5573 bp identisch und konnten beide Morphotypen nicht voneinander trennen. Die Beziehungen der eben beschriebenen Einheiten A bis D wurden in beiden konstruierten Stammbäumen unterschiedlich aufgelöst, wobei in Abbildung 4 die Bootstrap-Werte z.T. sehr gering (46 %) ausfielen und in der Hauptsache auf die Sequenzen der nichtkodierenden nrITS-1 Region beruhten. Dabei

war neben unterschiedlichen Substitutionen eine Insertion von ~160 bp besonders auffällig. In dem Stammbaum stellten die Cluster A) *C. aspera* und B) *C. baltica* & *C. liljebladii*, sowie *C. horrida* die Schwestergruppe zu den Clustern C) *C. contraria* & *C. filiformis* und D) *C. intermedia*, *C. rudis* & *C. hispida* dar. Im Gegensatz dazu bildete in dem Stammbaum der kodierenden Regionen des Plastoms und der 18S rRNA (Abbildung 4) *C. aspera* mit höheren Bootstrap-Werten ($\geq 72\%$) das Schwestertaxon zu den Clustern B, C und D, wobei die Taxa der Hartmania Subsektion (B und D) als monophyletische Gruppe mit hohen Bootstrap-Werten ($\geq 93\%$) und eine Posteriori-Wahrscheinlichkeit von 0,99 *C. contraria* & *C. filiformis* (C) gegenübergestellt wurde.

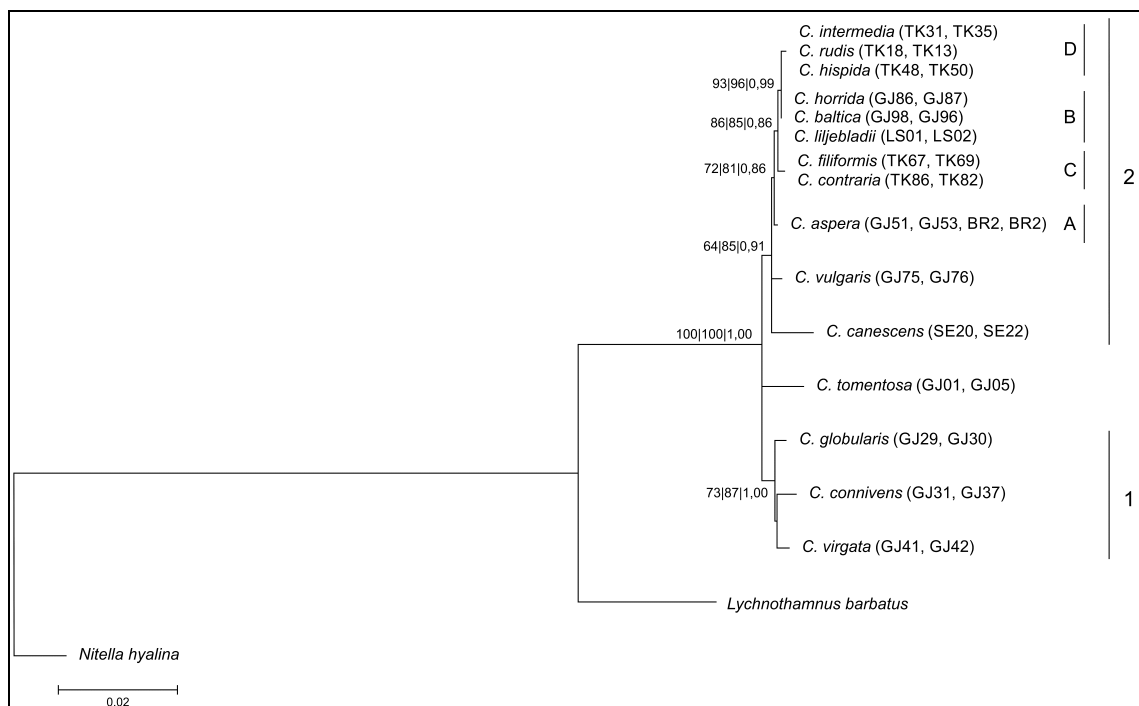


Abbildung 3 Phylogenie von 15 *Chara*-Taxa basierend auf den kodierenden Regionen dreier Marker (18S rRNA, *atpB*, *rbcL*) mit insgesamt 3410 bp. Der gewurzelte Baum wurde durch eine Maximum Parsimony, eine Maximum Likelihood und eine Bayesian Inference Analyse berechnet; Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten ($>50\%$) wurden bestimmt und sind über den Verzweigungen angegeben (MP|ML|BI). Der Balken zeigt 2 % Sequenzvariabilität an. Hinter den Taxa sind die Probennummern der untersuchten Individuen in Klammern angegeben.

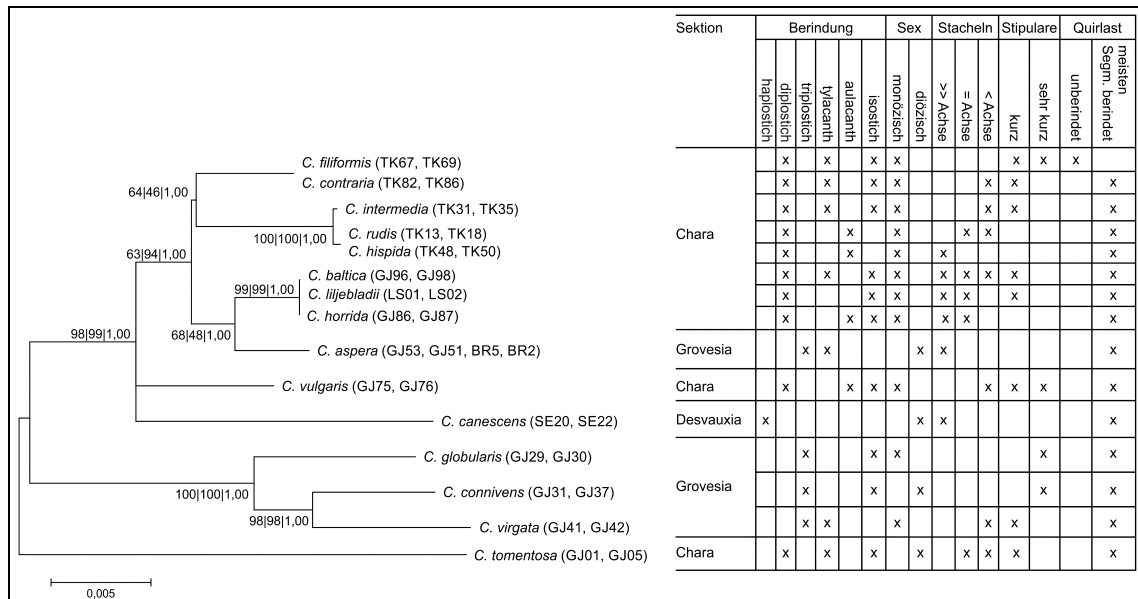


Abbildung 4 Phylogenie von 15 *Chara*-Taxa basierend auf *atpB*, *rbcL*, *matK*, 18S rRNA und nrITS-1-Sequenzen (5573 bp) kombiniert mit den morphologischen Merkmalen der untersuchten Taxa. Der ungewurzelte Baum wurde durch eine Maximum Parsimony, eine Maximum Likelihood und eine Bayesian Inference Analyse berechnet; Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten (>50 %) wurden bestimmt und sind über den Verzweigungen angegeben (MP|ML|BI). Der Balken zeigt 0,5 % Sequenzvariabilität an.

3.1.2 Taxonomische Untersuchung „CHARA-EUROPA“

Da der unter 3.1.1 vorgestellte Datensatz nur eine begrenzte Anzahl sowohl von Individuen als auch von Arten aufwies, wurde in einem zweiten Schritt Probematerial aus einem größeren geographischen Bereich einbezogen.

Insgesamt standen von 226 Individuen (inkl. 7 Sequenzen der GenBank) 843 bp zur Verfügung, von denen innerhalb der Gattung *Chara* 159 bp (18,86 %) variabel und 85 bp (10,08 %) parsimonie-informativ waren (Tabelle 5). Ließ man die genetisch sehr verschiedenen Sequenzen der Taxa der Subsektionen *Braunia* (*C. baueri*) und *Wallmania* (*C. longifolia*) außer Acht, die im Datenset „CHARA-SCHWEDEN“ nicht vertreten waren, wurden diese Werte geringfügig kleiner: die genetische Variabilität für die Sektionen *Desvauxia*, *Chara* und *Grovesia* betrug 13,6 % bei den variablen und 8,5 % bei den parsimonie-informativen Merkmalen (Tabelle 5). Damit konnte bei einer großen Steigerung der analysierten Individuen (von 32 „CHARA-SCHWEDEN“ auf 217 „CHARA-EUROPA“) nur eine geringfügige Steigerung der genetischen Variabilität für den Marker *matK* beobachtet werden (10,1 % variabel, 3,9 % parsimonie-informativ, vergl. Tabelle 4). Auffällig war auch die große Zahl an identischen Sequenzen von Individuen unterschiedlichster Probenahmeorte. So zeigten 12 *C. hispida*-Proben von Schweden bis Spanien keinerlei genetische Unterschiede und waren noch dazu identisch zu 25 Proben

von sechs weiteren morphologischen Taxa der Subsektion *Hartmania*. Die größten genetischen Distanzen konnten zwischen den Sequenzen des Taxons *C. baueri* und z. B. *C. aspera* oder *C. hispida* (p-Distanzen: 9,8 %) beobachtet werden (Tabelle A3). Betrachtet man wiederum nur die Sequenzen der Sektionen *Desvauxia*, *Chara* und *Grovesia* waren die größten p-Distanzen zwischen *C. connivens* und *C. canescens*-Proben aus Österreich mit 5,5 % zu beobachten. Auffällig war, dass sich die Sequenzen des Taxons der Gattung *Lamprothamnium* durchschnittlich mit 10 % von den Proben der Gattung *Chara* unterschieden und damit mit den Werten vergleichbar waren, die das Taxon *C. baueri* von den Taxa der Gattung *Chara* unterschied. Eine eindeutige Trennung beider Gattungen kann aufgrund der genetischen Distanzen demnach nicht erfolgen. Dagegen unterschied sich die Außengruppe *Nitellopsos obtusa* mit durchschnittlich 17 % deutlich von beiden Gattungen.

Tabelle 5 Zusammenfassung der Sequenzvariationen des Markers *matK* innerhalb des Datensets „CHARA-EUROPA“. Dargestellt sind die Variationen innerhalb der Gattung *Chara* und für die Taxa der Sektionen *Desvauxia*, *Chara* und *Grovesia*.

	<i>Chara</i>	<i>Desvauxia</i> , <i>Chara</i> , <i>Grovesia</i> ,
gesamt	843	843
variabel	159 (18,86 %)	115 (13,64 %)
parsim.-informativ	85 (10,08 %)	72 (8,54 %)
konserviert	679 (80,55 %)	723 (85,77 %)
p-Distanzen (Min, Max)	0,00-9,79 %	0,00-5,49 %
p-Distanzen (MW)	3,52 %	2,99 %

Die Stammbaumanalyse wurde mit drei unterschiedlichen Berechnungsverfahren durchgeführt und ergab einen Konsensus-Baum, der mit *Nitellopsis obtusa* (AY170447) als Außengruppe gewurzelt wurde (Abbildung 5). Auffällig war, dass die Gattung *Chara* kein Monophylum bildete, sondern die Sequenz von *Lamprothamnium papulosum* zusammen mit einer GenBank-Sequenz von *L. macropogon* (AY170446) innerhalb der Gattung *Chara* zu finden war. Sie bildeten die Schwestergruppe zu den übrigen untersuchten *Chara*-Taxa und trennten damit *C. baueri* (Subsektion: *Braunia*) phylogenetisch von den restlichen Proben der Gattung *Chara*. Die GenBank-Sequenz von *C. longifolia* (Subsektion: *Wallmania*) gruppierte innerhalb des *Chara*-Clusters, war aber durch hohe Bootstrap-Werte (≥ 79 %) und einer hohen Posteriori-Wahrscheinlichkeit (0,9) den an-

deren gegenübergestellt. Innerhalb dieses *Chara*-Clusters konnten die in Abbildung 3 zu beobachtenden Hauptcluster (1 & 2) ebenfalls gefunden werden, wobei *C. tomentosa* mit sehr hohen Wahrscheinlichkeiten (Bootstrap-Werte: $\geq 98\%$, Posteriori-Wahrscheinlichkeit: 1,0) klar das Schwestertaxon zu der zweiten Hauptgruppe bildete. Die 24¹⁹ untersuchten morphologischen Taxa der Gattung *Chara* (Tabelle A1) konnten 11 klar voneinander getrennten genetischen Clustern zugeordnet werden (Bootstrap-Werte $\geq 67\%$, Posteriori-Wahrscheinlichkeit: 0,9). Das Taxon *C. longifolia* aus der GenBank sowie die Gattungen *Lamprothamnium* und *Nitellopsis* bildeten ebenfalls eigenständige Cluster. Von den 11 in dieser Untersuchung erhaltenen Clustern setzten sich vier aus mehr als einer morphologischen Art zusammen. Dabei handelte es sich um eine $\geq 72\%$ unterstützte Gruppe (Cv = *C. virgata*-Cluster), bestehend aus fünf Individuen von *C. virgata*, zwei Individuen *C. strigosa* und einem als *C. globularis* bestimmten Individuum aus der GenBank (AY170443). Die zweite mit Bootstrap-Werten $\geq 76\%$ und einer Posteriori-Wahrscheinlichkeit von 0,99 unterstützten Gruppe (Ca = *C. aspera*-Cluster) setzte sich aus 14 *C. aspera* Proben, die sowohl im Süß- als auch im Brackwasser gesammelt wurden und 20 Proben des Taxons *C. galioides* zusammen. Die dritte Gruppe (Cc = *Chara contraria*-Cluster), welche mit sehr hohen Wahrscheinlichkeiten unterstützt wurde (Bootstrap-Werte $\geq 98\%$, Posteriori-Wahrscheinlichkeit: 0,98), bestand aus 20 Individuen *C. contraria*, fünf Individuen *C. filiformis* und sechs Individuen *C. denudata*. Die vierte, ebenfalls durch sehr hohe Bootstrap-Werte ($\geq 99\%$) und eine maximale Posteriori-Wahrscheinlichkeit unterstützte Gruppe (Ch = *C. hispida*-Cluster) setzte sich aus acht Taxa (inkl. *C. liljebladii*, *C. papillosa*) der Subsektion *Hartmania* zusammen. Im einzelnen handelte es sich um neun Individuen *C. baltica*, 13 Individuen *C. intermedia*, ein Individuum *C. papillosa*, 25 Proben von *C. hispida*, drei Individuen *C. horrida*, vier Individuen *C. liljebladii*, fünf Individuen *C. polyacantha* (inkl. AY170445) und sechs Individuen *C. rudis*. Das fünfte, durch maximale Wahrscheinlichkeiten unterstützte Cluster (Cg = *C. vulgaris*-Cluster), gruppierte 12 Individuen *C. vulgaris* und ein Individuum *C. gymnophylla*. Die übrigen sieben *Chara*-Cluster wurden durch Bootstrap-Werte $\geq 67\%$ und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten $\geq 0,9$ unterstützt, wobei innerhalb der Gruppen nur Individuen gefunden wurden, welche einem der morphologischen Taxa zugeordnet werden konnten. Dabei handelte es sich um ein Individuum *C. baueri*, 17 Individuen *C. globularis*, acht Individuen *C. connivens* (inkl.

¹⁹ Die 218 hier in dieser Analyse untersuchten Individuen konnten 23 morphologischen Taxa zugeordnet werden, zusätzlich ging das Taxon *C. longifolia* aus der GenBank in die phylogenetische Analyse mit ein.

AY170442), sechs Individuen *C. tomentosa*, zwei Individuen *C. tenuispina* und 14 Individuen *C. canescens*.

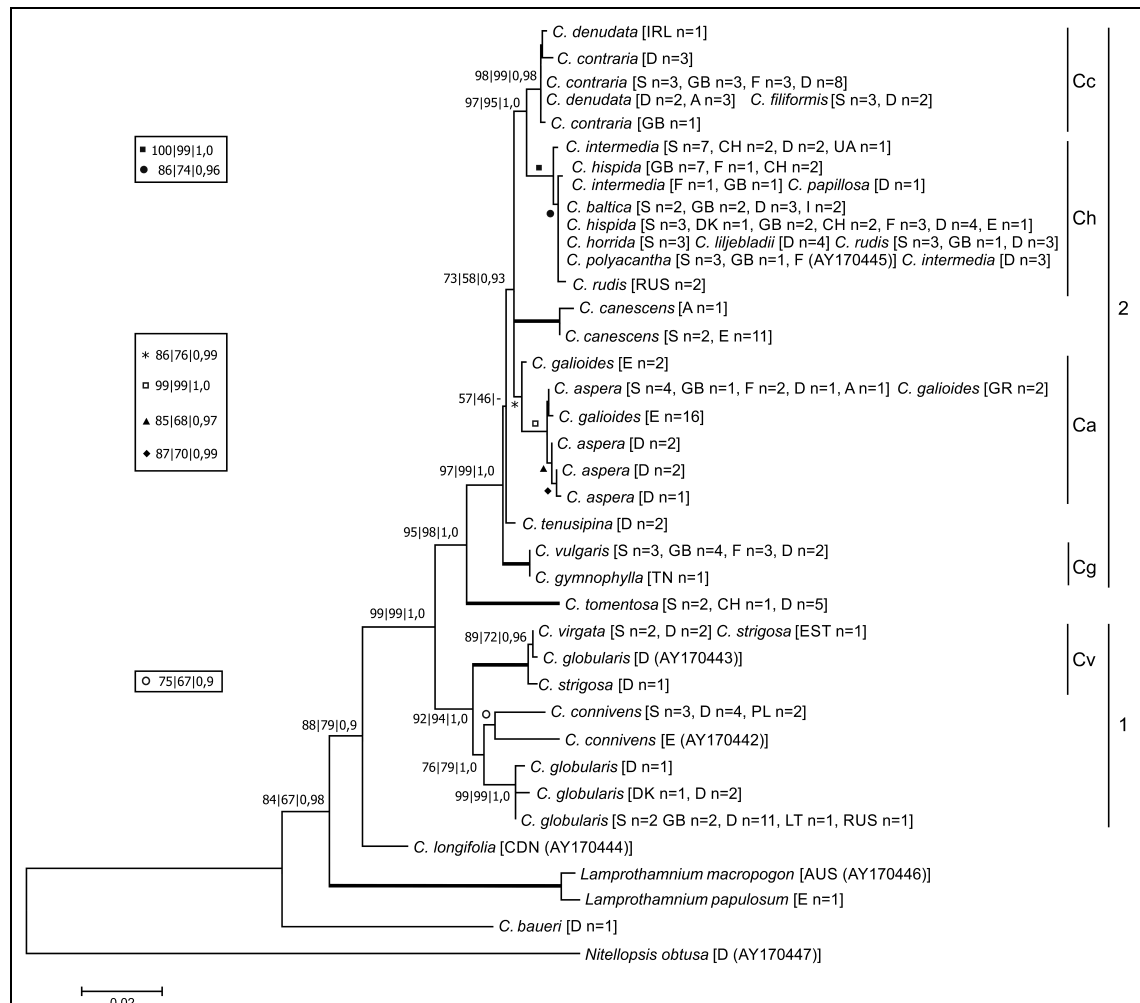


Abbildung 5 Phylogenie der Gattung *Chara* basierend auf 843 bp des Markers *matK*. Der gewurzelte Baum wurde durch eine Maximum Parsimony, eine Maximum Likelihood und eine Bayesian Inference Analyse berechnet; Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten (>50 %) wurden bestimmt und sind über den Verzweigungen angegeben (MP|ML|BI). Verzweigungen mit maximalen Bootstrap-Werten und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten sind „fett“ dargestellt und sowohl die Herkunftsländer als auch die entsprechende Individuenanzahl sind in eckigen Klammern hinter den Taxa angegeben. Cc=*C. contraria*-Custer, Ch=*C. hispida*-Cluster, Ca=*C. aspera*-Cluster, Cg=*C. vulgaris*-Cluster, Cv=*C. virgata*-Cluster. Der Balken zeigt 2 % Sequenzvariabilität an.

3.1.3 Rarefaction - Analysen

Um eine Aussage über die Steigerung der genetischen Variabilität innerhalb der Gattung *Chara* treffen zu können, wurden für beide Datensets für jeden Marker Rarefaction-Analysen durchgeführt. Dabei wurde für jedes Individuum der genetische Haplotyp bestimmt, wobei Proben mit identischen Sequenzen einen genetischen Haplotyp bildeten. Mit Hilfe einer MONOD-Funktion kann dann die mögliche Maximalzahl an vor-

handenen Haplotypen berechnet und der KS-Wert bestimmt werden, welcher angibt, wie viel Individuen beprobt werden müssen, damit die Hälfte der Haplotypen einer Gruppe identifiziert werden kann. Die für das Datenset „CHARA-SCHWEDEN“ sequenzierten Marker zeigten alle eine vergleichbare Variabilität mit 9 bis 11 Haplotypen bei 32 untersuchten Individuen. Für das Datenset „CHARA-EUROPA“ wurde etwa die 7fache Menge an Proben aus insgesamt 15 unterschiedlichen Ländern analysiert und es konnte ungefähr die 2,5fache Menge an Haplotypen identifiziert werden (Tabelle 6). Mit Hilfe der MONOD-Funktion konnte berechnet werden, dass für den Marker *matK* ungefähr 37 genetischen Haplotypen maximal vorkommen und mindestens 87 Proben sequenziert werden müssen, um die Hälfte dieser Haplotypen zu finden.

Tabelle 6 Zusammenfassung der Rarefaction-Analysen basierend auf den erhaltenen Haplotypen der untersuchten Datensets. Dargestellt ist die Anzahl an untersuchten Individuen und die daraus resultierenden Haplotypen der einzelnen Marker, sowie die mit der MONOD-Funktion berechneten maximal möglichen Haplotypen und der KS-Wert. Für die Analysen wurden 1000 Wiederholungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % berechnet.

	„CHARA-SCHWEDEN“					„CHARA-EUROPA“
	18S rRNA	nrITS-1	<i>rbcL</i>	<i>atpB</i>	<i>matK</i>	<i>matK</i>
Proben	32	32	32	32	32	219
Haplotypen	7	12	9	9	10	30
Morph. Taxa	15	15	15	15	15	24
Cluster	7	11	9	9	10	11
max	9,1	19,0	12,9	12,8	14,7	36,4
Ks	8,0	15,3	11,3	11,0	12,4	86,3

3.1.4 Taxonomische Untersuchung „NITELLA“

Da die Variabilität der Marker, die für die unter 3.1.1 und 3.1.2 vorgestellten Untersuchungen verwendet wurden, überraschend gering war, erfolgten Vergleichsuntersuchungen mit Individuen anderer Gattungen.

Dazu wurden für 56 Individuen insgesamt 1008 bp des proteinkodierenden Gens *rbcL* ausgewertet, von denen für die gesamte Familie der Characeae 240 bp (24 %) variabel und 223 bp (22 %) parsimonie-informativ waren (Tabelle 7) und die sechs Gattungen mit Substitutionen zwischen 21 (2 %, *Chara* vs. *Lamprothamnium*) und 92 Positionen (9 %, *Chara* vs. *Tolypella*) eindeutige Unterschiede aufwiesen (Tabelle 8). Die Sequenzen der Taxa *Lychnothamnus barbatus*, *Lamprothamnium papulosum* und *Nitellopsis obtusa* zeigten jeweils geringfügige intraspezifische Unterschiede von einem Basen-

paar oder auch komplett identische Sequenzen. Für die Taxa *C. braunii* und *C. baueri* konnten geringfügige Unterschiede von 0,1 % (1 bp) beobachtet werden. Die 32 Individuen der Gattung *Nitella*, von denen fünf Sequenzen aus der Genbank stammten, zeigten eine durchschnittliche p-Distanzen von 5,5 % (Tabelle 7), wobei die geringsten Unterschiede mit durchschnittlich 14 Substitutionen (1,4 %) zwischen den Sequenzen der Taxa *N. flexilis* und *N. opaca* und die größten Unterschiede mit Substitutionen an jeweils 86 Positionen (8,5 %) zwischen den Sequenzen der Taxa *N. flexilis* (Subgenus: *Nitella*) und *N. hyalina* bzw. *N. gracilis* (Subgenus: *Tieffallenia*) bestanden (Tabelle A4). Unter Berücksichtigung, dass für die Gattung *Tolypella* nur wenige Proben in die Analyse einbezogen wurden, zeigten die Sequenzen dieser mit ca. 5 % (50 bp) vergleichbar hohe prozentuale Distanzen. Innerhalb dieser Gattung konnten keine Unterschiede zwischen der Sequenz einer Probe *T. glomerata* aus Deutschland (BSII-Tol01) und zwei Sequenzen aus der GenBank, eine ebenfalls als *T. glomerata* (AF097176) und die andere als *T. nidifica* (U27531) identifiziert, gefunden werden. Eine Probe von *T. prolifera* zeigte identische *rbcL*-Sequenzen zu Proben der gleichen Art aus den USA (KJ395923) und unterschied sich mit Substitutionen an durchschnittlich sechs Positionen zu Sequenzen von *T. intricata* ebenfalls aus den USA (KJ395918).

Tabelle 7 Zusammenfassung der Sequenzvariationen für 1008 bp des Markers *rbcL* innerhalb des Datensets „NITELLA“. Dargestellt sind die Variationen innerhalb der Familie der Characeae und der Taxa der Gattungen *Nitella* und *Tolypella*.

	Characeae	<i>Nitella</i>	<i>Tolypella</i>
variabel	240 (24%)	137 (14%)	81 (8,0%)
parsim.-informativ	223 (22%)	124 (12%)	59 (5,9%)
konserviert	768 (76%)	871 (86%)	927 (92%)
p-Distanzen (Min, Max)	0 – 11,31%	0 – 8,53%	0 – 7,34
p-Distanzen (MW)	7,22%	5,48%	4,96%

Tabelle 8 Übersicht der durchschnittlichen Sequenzvariationen zwischen den Gattungen der Familie der Characeae basierend auf 1008 bp des Gens *rbcL*. Blau = Anzahl der Basenpaarunterschiede, Schwarz = p-Distanzen in %

	<i>Chara</i>	<i>Lamprothamnium</i>	<i>Lychnothamnus</i>	<i>Nitellopsis</i>	<i>Nitella</i>	<i>Tolypella</i>
<i>Chara</i>		21	45	51	87	92
<i>Lamprothamnium</i>	2,11%		43	48	84	90
<i>Lychnothamnus</i>	4,44%	4,22%		24	79	88
<i>Nitellopsis</i>	5,04%	4,76%	2,38%		85	89
<i>Nitella</i>	8,66%	8,39%	7,82%	8,48%		88
<i>Tolypella</i>	9,09%	8,88%	8,75%	8,80%	8,75%	

In den Stammbaumanalysen (Abbildung 6) bildeten die Gattungen *Lychnothamnus* und *Nitellopsis* mit hohen Wahrscheinlichkeiten das Schwestertaxon zu den Gattungen *Lamprothamnium* und *Chara*, wobei eine Monophylie der Gattung *Chara* nicht dargestellt werden konnte, sondern die Beziehungen der Gattung *Lamprothamnium* und der Subgenera *Chara* und *Charopsis* in einer tritomen Verbindung aufgelöst wurden. Die Gattung *Tolypella* formte mit Bootstrap-Werten $\geq 68\%$ und einer Posteriori Wahrscheinlichkeit von 0,93 ein eigenständiges Cluster neben zwei Clustern der Gattung *Nitella* - Subgenus *Nitella* und *Tieffallenia*, die mit hohen Bootstrap-Werten ($\geq 96\%$) und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten ($\geq 0,98$) unterstützt, ebenfalls eindeutig trennbare Cluster aufwiesen. Die Monophylie der beiden *Nitella*-Cluster wurde nur durch äußerst geringe Bootstrap-Werte ($\leq 43\%$) und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten ($\leq 0,50$) gestützt, wodurch die Beziehungen der drei Cluster in dieser Studie nicht aufgelöst werden konnte. Innerhalb des *Tieffallenia*-Clusters ist der Abzweig für die Gruppe um *N. confervacea* und *N. mucronata* nur durch geringe Bootstrap-Werte um 50 % unterstützt. Die Beziehung zwischen diesen beiden Taxa und *N. gracilis* konnte in dieser Studie nicht geklärt werden und sollte damit ebenfalls als Tritomie interpretiert werden.

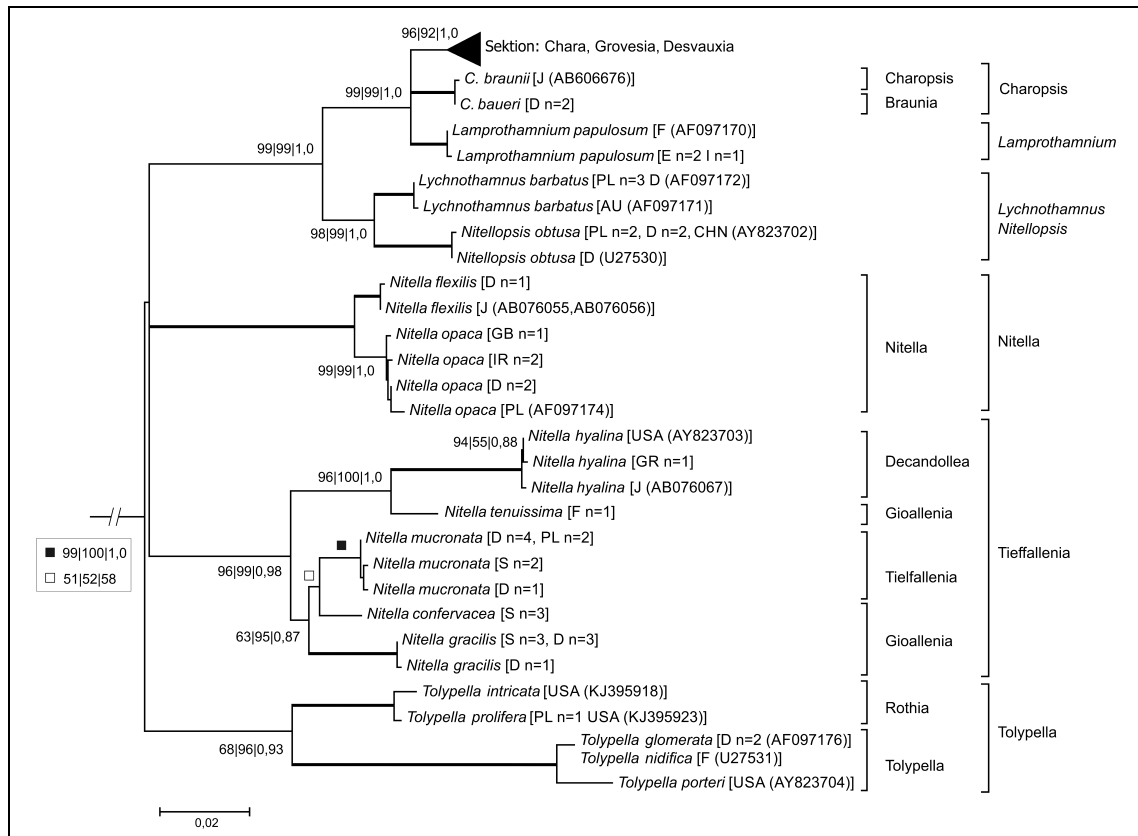


Abbildung 6 Phylogenie der Familie der Characeae basierend auf 1008 bp des Markers *rbcL*. Der gewurzelte Baum wurde durch eine Maximum Parsimony, eine Maximum Likelihood und eine Bayesian Inference Analyse berechnet; Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten (>50 %) wurden bestimmt und sind an den Verzweigungen angegeben (MP|ML|BI). Verzweigungen mit maximalen Bootstrap-Werten und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten sind „fett“ dargestellt und sowohl die Herkunftsländer als auch die entsprechende Individuenanzahlen sind in eckigen Klammern hinter den Taxa angegeben. Der Balken zeigt 2 % Sequenzvariabilität an.

3.1.5 Untersuchung der morphologischen Plastizität

Da keiner der verwendeten Marker eine direkte Beziehung zur Ausprägung der Morphologie vermuten ließ, sollte durch Inkubationsversuche getestet werden, ob sich die Morphologie eines Taxons durch entsprechende Umweltbedingungen in die Morphologie des anderen überführen lässt oder ob genetische Unterschiede, die mit Hilfe der eingesetzten Marker nicht identifizierbar waren, für die unterschiedliche morphologische Ausprägung verantwortlich zu machen sind. Für diese Untersuchungen besonders geeignet waren die Taxa *C. baltica* und *C. liljebladii*, da hier bereits eine klare Hypothese zum Auslösefaktor der morphologischen Veränderung (Tief- bzw. Flachwasserform, Lichtmangel als Auslöser des Langwuchses von *C. liljebladii*) vorlag.

3.1.5.1 Morphologische Parameter vor der Inkubation

In Übereinstimmung mit den Literaturdaten (Tabelle 9) konnten beide Taxa nicht eindeutig anhand qualitativer morphologischer Parameter unterschieden werden. Von den 28 analysierten morphologischen Parametern wurden 21 mittels Kruskal-Wallis-Tests als signifikant verschieden bewertet, allerdings zeigten die Box-Plots mehr oder weniger große Überlappungsbereiche für alle Parameter. In Abbildung 7 sind exemplarisch die Ergebnisse der Box-Plot-Analysen beider Taxa zu Länge und Durchmesser der Internodialzellen des ersten und zweiten Wirtels dargestellt. Dabei waren die Internodien von *C. liljebladii* leicht größer und schmaler als die von *C. baltica*. Mit dem Kruskal-Wallis-Test konnten signifikante Unterschiede sowohl für den Durchmesser der Internodien des ersten und zweiten als auch für die Länge der Internodien des zweiten Wirtels dargestellt werden. Damit unterschieden sich zwar die Mittelwerte der Parameter, aber eine Unterscheidung der Taxa anhand von Einzelmerkmalen war aufgrund der großen Überlappung dennoch nicht eindeutig möglich.

Tabelle 9 Übersicht der in der Literatur verwendeten morphologischen Merkmale und Habitateigenschaften von *C. baltica* und *C. liljebladii* (Wood und Imahori 1965, Schubert und Blindow 2004).

	<i>Chara baltica</i>	<i>Chara liljebladii</i>
Gesamtlänge	30-90 cm	bis 80 (-150) cm
Sproß	robust, Ø bis zu 1,6 mm, isostich, leicht thylacanth	schlanker, Ø bis zu 1 mm, isostich
Internodien	1-3 mal so lang wie Quirläste, bis 3 (-4) cm lang	1-2 mal so lang wie Quirläste, bis 18 cm lang
Stacheln	meist einzeln, gelegentlich 2-3er Gruppen, kurz und zugespitzt, meist kürzer als Sproß Ø	einzeln, können z.T. länger als Sproß Ø sein
Quirläste	(6)7-10(-11) Äste im Quirl bis 2,5 cm lang 5-8 (-9) Segmente, (0) -3 davon unberindet Endzelle 1-2zellig, verlängert, transparent	9-10(-11) Äste im Quirl bis 8-10 cm lang 6-8 Segmente, 6 davon unberindet Endzelle 1zellig, transparent
Blättchen	5-7 ½-1 mal so lang wie Ast Ø	6 bis 0,8 cm in lang
Salzgehalt	zwischen (0-) 2-10 (-18) PSU	
Tiefenbereich	meist im Flachwasser (< 1 m), Maximaltiefe bis 3 (-5) m	häufig in tieferem Wasser (zwischen 0,5-1,5 m) als <i>C. baltica</i>

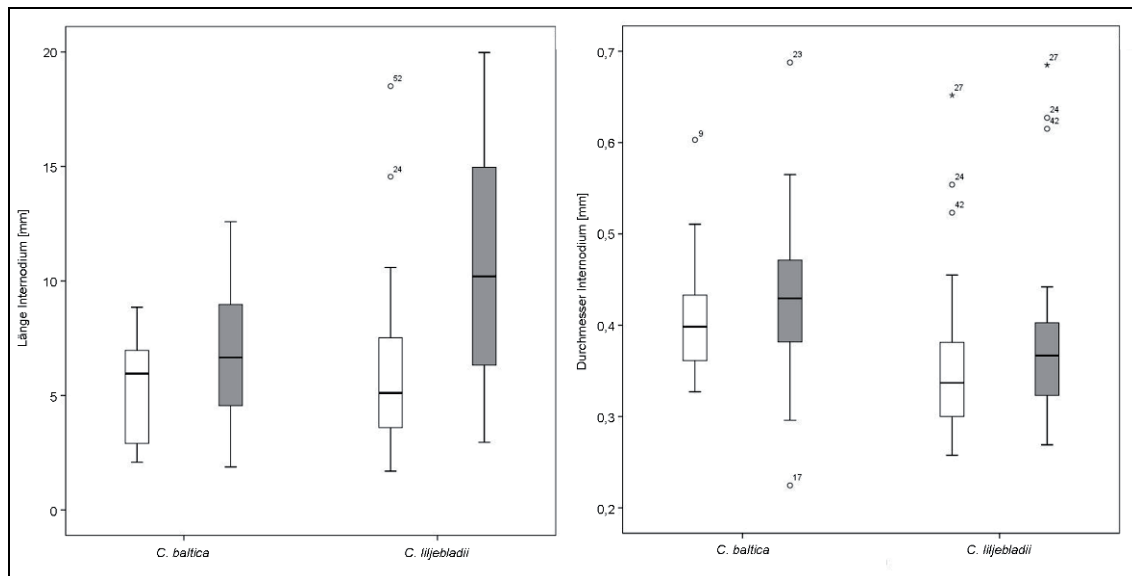


Abbildung 7 Box-Whisker-Plot der Internodienlänge und -durchmesser des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von *C. baltica* und *C. liljebladii*. Länge vor der Inkubation gemessen.

Mit Hilfe des Programms Primer5 konnte die Gesamtheit der aufgenommenen Merkmale für beide Taxa betrachtet werden. Dabei ergab sich mit einer ANOSIM-Analyse ein globaler R-Wert von 0,454, womit zwischen beiden Gruppen signifikante Unterschiede vorhanden waren. In einem MDS-Plot waren keine klar getrennten Punktwolken zwischen beiden Taxa zu erkennen, vielmehr reichten sich beide Gruppen aneinander ohne sich dabei direkt zu überlappen (Abbildung 8). Dieses Bild konnte durch die in einer SIMPER-Analyse berechneten Ähnlichkeiten unterstützt werden. Beide Taxa wiesen mit 87,03 % für *C. baltica* und 87,26 % für *C. liljebladii* vergleichbar hohe Ähnlichkeiten innerhalb der Gruppen auf, wohingegen die Unterschiede zwischen beiden mit 17,43 % relativ gering ausfielen. Eine Trennung der Taxa *C. baltica* und *C. liljebladii* anhand von 28 vermessenen Parametern konnte nur bedingt dargestellt werden.

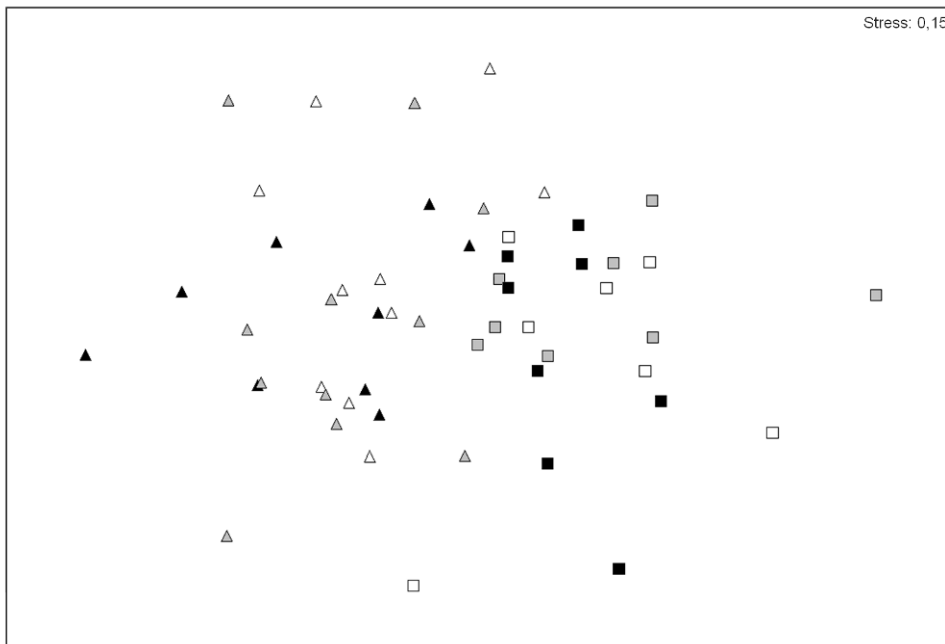


Abbildung 8 MDS-Plot der morphologischen Parameter von *C. baltica* (Viereck) und *C. liljebladii* (Dreieck) gemessen vor der Akklimation. Zum Vergleich mit nachfolgenden Ergebnissen sind die Individuen bereits der Lichtstufe zugeordnet, unter der sie im nachfolgenden Experiment vier Wochen inkubiert worden sind (240 = Weiß, 90 = Grau, 30 = Schwarz [$\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$]).

3.1.5.2 *C. baltica* nach vier Wochen Inkubation

Von den 21 Individuen, die für dieses Wachstumsexperiment eingesetzt wurden, konnten nach vierwöchiger Akklimation bei 240, 90 und $30 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ insgesamt 19 Individuen ausgewertet werden²⁰. Das in Abbildung 9 dargestellte Wachstum der Algen zeigte, dass die größte Zuwachsrates von $1,9 (\pm 1,0) \text{ mm d}^{-1}$ bei der geringsten Lichtintensität ($30 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) zu beobachten war. Zum Abschluss des Experiments waren diese Pflanzen im Durchschnitt zwei Mal länger als die Individuen, die bei $240 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ inkubiert worden sind und eine Wachstumsrate von $0,4 (\pm 0,4) \text{ mm d}^{-1}$ zeigten. So konnte unabhängig von den individuellen Unterschieden eine zunehmende Wachstumsrate mit abnehmender Lichtintensität beobachtet werden.

²⁰ Die Analyse der Daten entspricht zum Großteil der Bachelorarbeit von Sommer (2013).

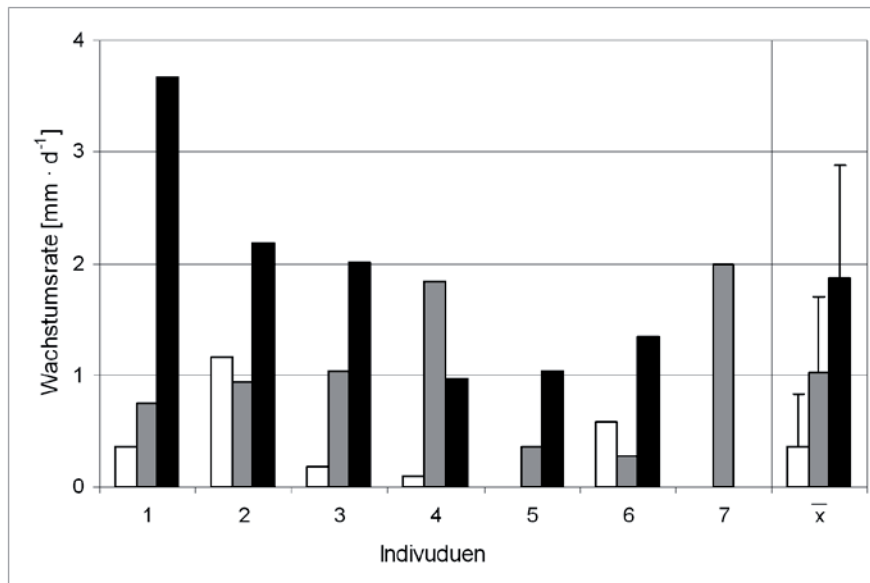


Abbildung 9 Wachstumsraten des Taxons *C. baltica* unter den drei Lichtintensitäten (Weiß = 240, Grau = 90, Schwarz = 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Für die Individuen, die die gesamte experimentelle Phase überlebten, wurden die Werte einzeln in mm d^{-1} aus vier wöchentlichen Messungen berechnet. Zusätzlich ist der Mittelwert (\bar{x}) und deren Standardabweichung im Diagramm mit dargestellt.

Mit Hilfe eines Kruskal-Wallis-Tests konnten insgesamt sieben Parameter bestimmt werden, deren Werte Unterschiede zwischen den Populationen der unterschiedlichen Lichtintensitäten erkennen ließen (Tabelle 10). Der paarweise Vergleich der Populationen zeigte, dass die Länge der Quirläste sowie die der Internodien des jeweils ersten und zweiten Wirtels sich signifikant zwischen den Populationen unter 240 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ unterschieden (Tabelle 10). Die Anzahl der berindeten bzw. unberindeten Segmente der Quirläste, die Länge ihrer Endzellen und der Durchmesser der Internodien zeigten schwache signifikante Unterschiede im gesamten Datensatz, allerdings konnten bei einem paarweise Vergleich keine signifikanten Unterschiede mehr identifiziert werden. In den Box-Plot-Diagrammen ist ersichtlich, dass mit abnehmender Lichtintensität sowohl die Internodien- als auch die Quirlastlängen zunahmen. Interessanter Weise war diese Tendenz am zweiten Wirtel ausgeprägter als am ersten (Abbildung 10), was darauf hindeutet, dass das Längenwachstum eines Internodiums während der Bildung des nächsten noch nicht abgeschlossen ist.

Tabelle 10 Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests für die morphologischen Parameter des Taxons *C. baltica*, die nach vierwöchiger Akklimation gemessen wurden. Dargestellt sind die p-Werte für alle Parameter, die signifikante Unterschiede ($p < 0,05$, „fett“) in der gesamten Datenmatrix zeigten ("gesamt") und die dazugehörigen Werte für den jeweiligen paarweisen Vergleich der Gruppen. (W1 = erster Wirtel, W2 = zweiter Wirtel)

Parameter [mm]	p-Wert gesamt	Gruppen [$\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]		
		240 - 90	240 - 30	90 - 30
Länge Quirlast W1	0,038	0,681	0,032	0,484
N berindete Segm. (Quirlast) W1	0,046	1	0,109	0,088
Länge Endzelle W1	0,049	0,198	0,055	1
Länge Internodium W1	0,032	1	0,022	0,212
Länge Quirlast W2	0,018	1	0,025	0,111
Länge Internodium W2	0,009	1	0,016	0,05
Durchmesser Internodium W2	0,045	1	0,079	0,139

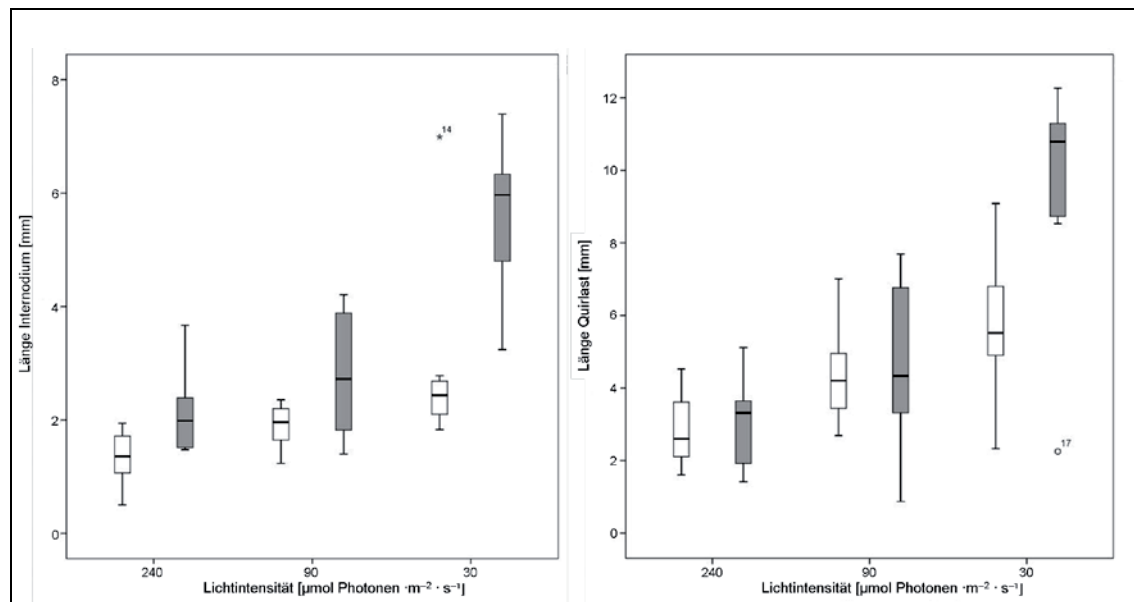


Abbildung 10 Box-Whisker-Plot der Internodien- und Quirlastlänge des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von *C. baltica*. Länge nach vier Wochen Akklimation bei 240 ($n = 5$), 90 ($n = 6$) und 30 ($n = 7$) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ gemessen.

Für einen MDS-Plot wurden für die Gesamtheit der erfassten Parameter aller Individuen paarweise Distanzen berechnet und dann in zweidimensionaler Form dargestellt. Dabei zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Proben, die unter 30 und denen die unter 240 und 90 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ inkubiert wurden (Abbildung 11). Erstere bildeten (mit einem Ausreißer) ein eindeutiges Cluster neben den Populationen der hohen und mittleren Lichtintensität. Diese Unterschiede spiegelten sich dann auch in den Ergebnissen der ANOSIM-Analyse wider. Dabei konnte ein globaler R-Wert von 0,351

berechnet werden, wobei dieser für leichte signifikante Unterschiede spricht. Bei dem paarweisen Vergleich der einzelnen Populationen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Populationen der mittleren und höchsten Lichtintensität ($R=0,211$) beobachtet werden. Allerdings zeigte der Vergleich der Populationen der geringsten und der höchsten Lichtintensität mit einem R-Wert von 0,567 deutlich signifikante Unterschiede. Für die Populationen der mittleren und niedrigsten Lichtstufe konnte mit einem R-Wert von 0,323 geringe signifikante Unterschiede beobachtet werden.

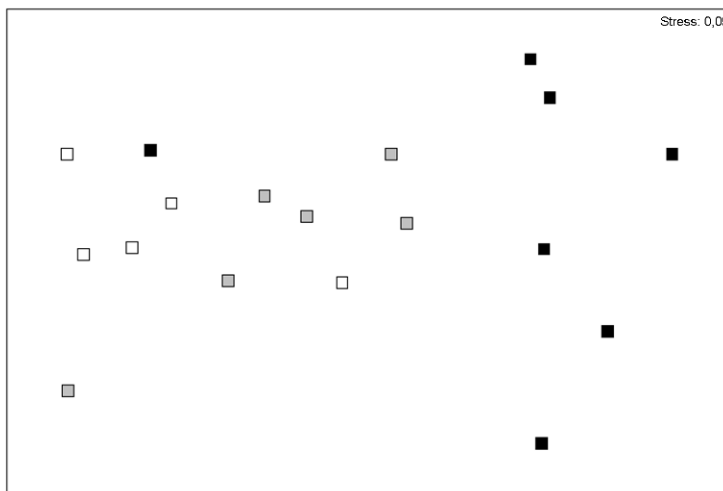


Abbildung 11 MDS-Plot der morphologischen Parameter von *C. baltica* gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau), 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die Individuen des Taxons *C. baltica*, die vier Wochen unter unterschiedlichen Lichtbedingungen akklimatisiert wurden, hinsichtlich ihrer Morphologie unterschiedlich entwickelten. Mit abnehmender Lichtintensität konnte eine Zunahme der Wachstumsraten beobachtet werden. Die unter Schwachlichtbedingungen gewachsenen Individuen, konnten von denen, die unter 90 und 240 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ inkubiert wurden, signifikant getrennt werden. Diese Trennung beruhte in der Hauptsache auf den Parametern der Internodien- und Quirlastlänge und damit auf den Merkmalen, die das Taxon *C. baltica* von dem Taxon *C. liljebladii* trennte.

3.1.5.3 *C. liljebladii* nach vier Wochen Inkubation

Alle 30 Individuen des Taxons *C. liljebladii*, die für diesen Teil der Analyse eingesetzt wurden, waren zum Abschluss des Experiments noch vital und konnten für die Auswertung genutzt werden. Dabei zeigten die Individuen, die bei der höchsten Lichtintensität ($240 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) inkubiert wurden, mit $1,4 (\pm 0,5) \text{ mm d}^{-1}$ die größte Zuwachsrates. Die Algen der anderen beiden Lichtintensitäten waren mit $1,1 (\pm 0,5)$ bzw. $1,0 (\pm 0,4) \text{ mm d}^{-1}$ aber nur geringfügig kleiner (Abbildung 12). Zum Abschluss des Wachstumsexperiments waren die Pflanzen der höchsten Lichtintensität etwa um ein Viertel größer als die der geringsten Lichtstufe. Für die hier untersuchten Pflanzen des Taxons *C. liljebladii* konnte damit bei zunehmender Lichtintensität auch eine leichte Zunahme der Wachstumsrate beobachtet werden.

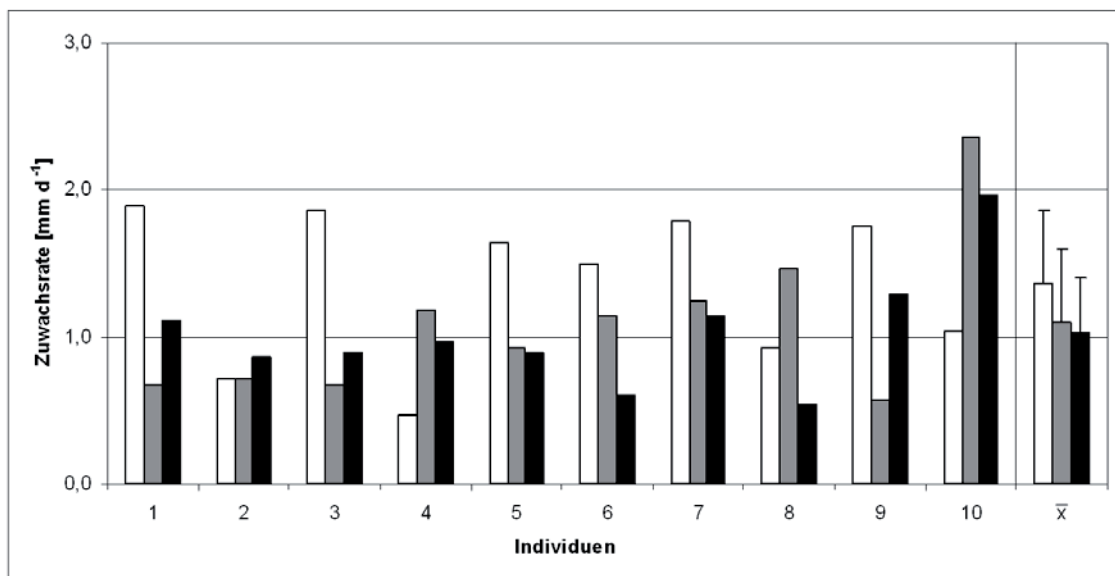


Abbildung 12 Wachstumsraten des Taxons *C. liljebladii* unter den drei Lichtintensitäten (Weiß = $240 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Grau = $90 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Schwarz = $30 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Für die Individuen wurden die Werte einzeln in mm d^{-1} aus vier wöchentlichen Messungen berechnet. Zusätzlich ist der Mittelwert (\bar{x}) und deren Standardabweichung im Diagramm mit dargestellt.

Mit Hilfe eines Kruskal-Wallis-Tests wies von den 30 vermessenen metrischen Parametern nur die Länge des Internodiums des ersten Wirtels (p-Wert: 0,021) einen signifikanten Unterschied innerhalb der drei Lichtintensitäten auf. Der paarweise Vergleich der Populationen zeigte, dass dieser Unterschied zwischen den Individuen beruhte, die unter 90 und $30 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ inkubiert wurden. Für die übrigen Parameter konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Populationen gefunden werden.

Die Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests spiegelten sich auch in den Box-Plot-Diagrammen wider, wobei die Internodien des ersten Wirtels bei den Individuen unter $90 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kürzer waren als bei denen unter $30 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Abbildung 13). Für alle übrigen Parameter konnten in den Box-Plot-Diagrammen keine Unterschiede zwischen den drei Lichtstufen gefunden werden. Exemplarisch sind die Werte der Quirlastlängen in Abbildung 13 ebenfalls dargestellt, bei denen sich die Werte aller Lichtstufen überlappten.

In den Box-Plot Diagrammen werden die Internodien zwar mit abnehmender Lichtintensität tendenziell länger, doch waren mit Ausnahme des Internodiums des ersten Wirtels, die Spannweiten in allen Fällen sehr groß. Auch kann ein minimal größeres Wachstum bei den Internodien der zweiten Wirtel beobachtet werden, was wiederum darauf hindeutet, dass für *C. liljebladii* das Längenwachstum des ersten Internodiums während der Bildung des zweiten noch nicht abgeschlossen zu sein scheint.

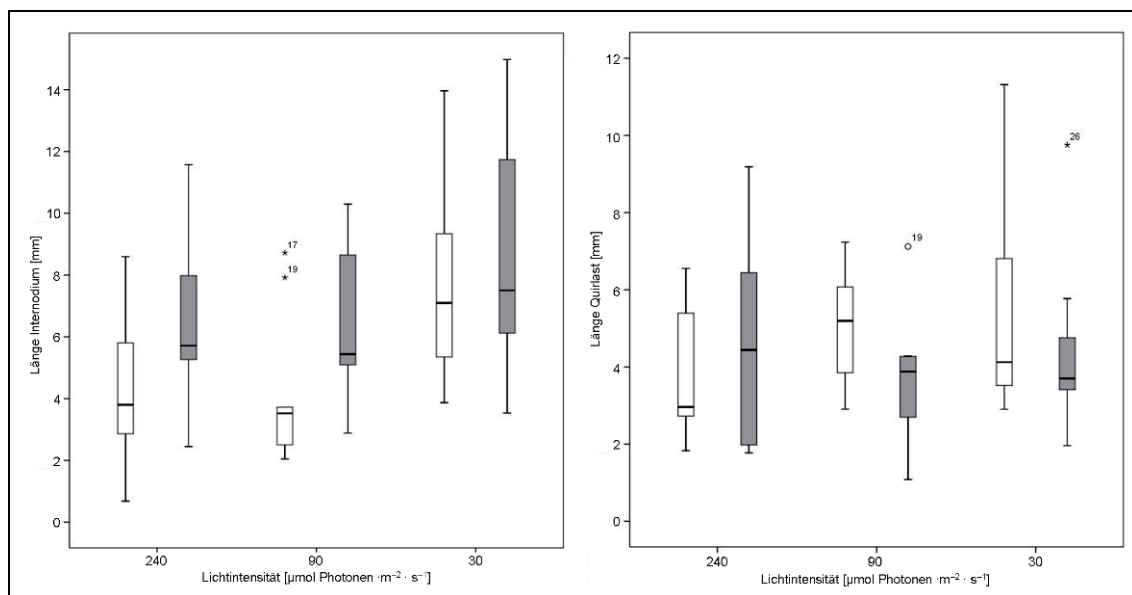


Abbildung 13 Box-Whisker-Plot der Internodien- und Quirlastlänge des ersten (Weiß) und zweiten (Grau) Wirtels von *C. liljebladii*. Länge nach vier Wochen Akklimation bei 240 ($n = 5$), 90 ($n = 6$) und 30 ($n = 7$) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gemessen.

Die einzelnen Parameter dieses Datensatzes zeigten kaum signifikante Unterschiede zwischen den Populationen. Dieses Bild setzte sich auch in der Auswertung der Gesamtheit aller Parameter fort. Mit Hilfe eines MDS-Plots konnte keine Trennung der Individuen, die unter unterschiedlichen Lichtintensitäten inkubiert worden sind, beobachtet werden (Abbildung 14). Die Ähnlichkeiten der drei untersuchten Gruppen wurde zusätzlich durch eine ANOSIM-Analyse gestützt, bei der die R-Werte des paarwei-

sen Vergleichs der Gruppen zwischen -0,048 und 0,048 betrugen und damit keine Unterschiede zwischen den Gruppen nachzuweisen waren.

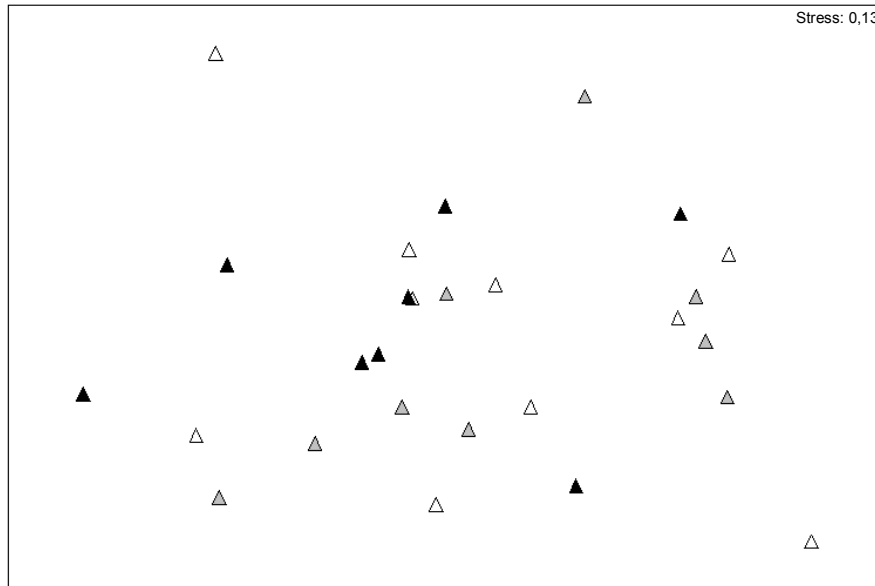


Abbildung 14 MDS-Plot der morphologischen Parameter von *C. liljebladii* gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau), 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Individuen des Taxons *C. liljebladii* mit zunehmender Lichtintensität insgesamt ein größeres Längenwachstum der Pflanzen aufwiesen, was sich allerdings nicht auf signifikante Unterschiede einzelner Parameter zurückführen ließ. Zwar konnte für den Faktor Lichtintensität eine gewisse Plastizität der aufgenommenen Merkmale beobachtet werden, allerdings führte dies nicht zu signifikanten Änderungen der morphologischen Merkmale für die drei getesteten Lichtintensitäten und auch nicht zu einer Verschiebung der Merkmale von *C. liljebladii* in Richtung eines *C. baltica*-Morphotyps.

3.1.5.4 Vergleich *C. baltica* und *C. liljebladii*

Die Wachstumsraten der mittleren Lichtstufen waren bei beiden untersuchten Taxa vergleichbar. Ansonsten verhielten sie sich in Bezug auf die Lichtintensität gegenläufig: Mit abnehmender Lichtmenge wurde *C. baltica* größer und *C. liljebladii* kleiner (Abbildung 15), wobei die Unterschiede bei *C. baltica* ausgeprägter waren. Signifikante Unterschiede zwischen den Wachstumsraten konnten mittels Kruskal-Wallis-Tests dann auch nur zwischen den *C. baltica*-Individuen nachgewiesen werden, die bei 240 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ inkubiert wurden ($p = 0,017$). Die übrigen Unterschiede in den Wachstumsraten waren mit $p \geq 0,6$ nicht signifikant.

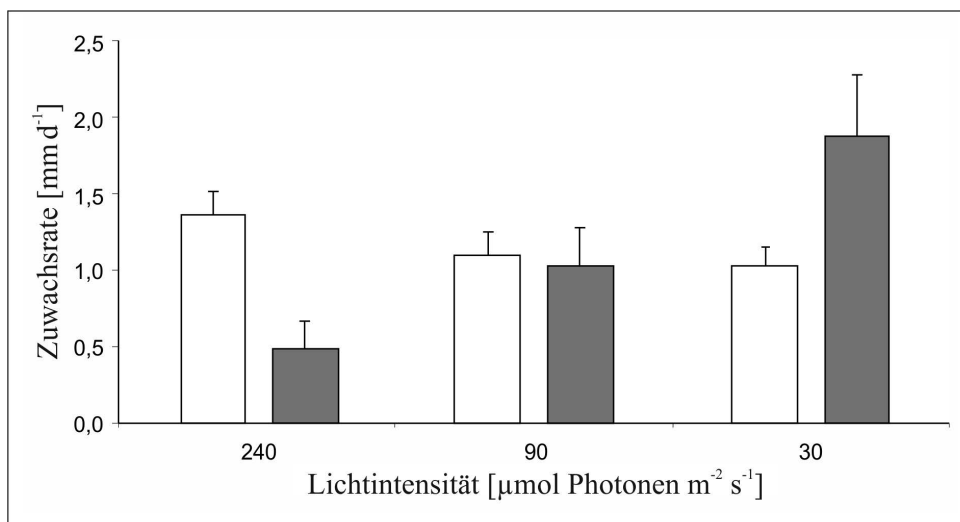


Abbildung 15 Mittlere Wachstumsraten der Taxa *C. liljebladii* (Weiß) und *C. baltica* (Grau) unter den drei Lichtintensitäten. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler (genormte Standardabweichung des Mittelwertes bezogen auf die Anzahl der untersuchten Individuen) dargestellt.

Bei der Analyse der Gesamtparameter zeigte die Simper-Analyse, dass die Ähnlichkeiten innerhalb der drei Lichtstufen für die untersuchten Taxa *C. baltica* und *C. liljebladii* mit durchschnittlich 83 % und 84 % in etwa gleich groß waren. Die Unterschiede zwischen den beiden Populationen waren mit 26 % leicht höher als die Unterschiede innerhalb der Populationen (zwischen den drei Lichtstufen), die bei *C. baltica* im Durchschnitt bei 18 % und bei *C. liljebladii* bei 16 % lagen (Tabelle 11).

Tabelle 11 Simper-Analyse: Dargestellt sind Ähnlichkeiten der Individuen innerhalb einer Gruppe (Blau) und die Unterschiede zwischen den Gruppen (Schwarz) bei 240, 90 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

		<i>C. baltica</i> 240	<i>C. baltica</i> 90	<i>C. baltica</i> 30	<i>C. liljebladii</i> 240	<i>C. liljebladii</i> 90	<i>C. liljebladii</i> 30
<i>C. baltica</i>	240	81,28					
<i>C. baltica</i>	90	17,42	83,85				
<i>C. baltica</i>	30	19,02	17,34	83,48			
<i>C. liljebladii</i>	240	26,73	26,64	24,61	81,90		
<i>C. liljebladii</i>	90	26,41	26,44	23,62	15,94	85,66	
<i>C. liljebladii</i>	30	28,10	27,29	25,20	16,46	15,17	85,69

Mit Hilfe von Kruskal-Wallis-Tests konnten insgesamt 20 der 30 aufgenommenen metrischen Parameter als signifikant bewertet werden. Dazu gehörten die Länge der Köpfchen, der Internodien, der Quirläste, der Stipularen, der Blättchen und der Endzellen der Quirläste, häufig sowohl am ersten und zweiten Wirtel. Außerdem der Durchmesser der Rindenzellen am ersten, des Internodiums am zweiten und die Anzahl der berindeten Segmente der Quirläste des zweiten Wirtels (Tabelle A5). Bei dem paarweisen Vergleich der untersuchten sechs Gruppen wurde deutlich, dass die meisten signifikanten Unterschiede zwischen beiden Taxa zu finden waren (Abbildung 16). Innerhalb des Taxons *C. baltica* konnten nur zwei Merkmale als signifikant bewertet werden: die Länge der Quirläste und der oberen Stipularen am zweiten Wirtel. Für das Taxon *C. liljebladii* zeigte keines der Merkmale signifikante Unterschiede (Abbildung 16).

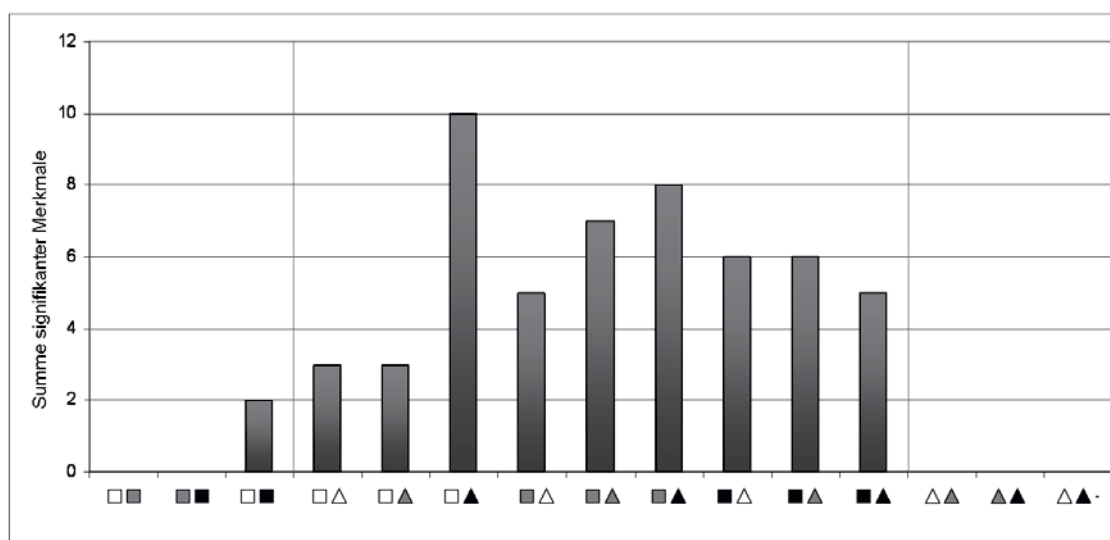


Abbildung 16 Zusammenfassung der Kruskal-Wallis-Tests für den paarweisen Vergleich der als signifikant bewerteten morphologischen Merkmale. Dargestellt sind die Summen aller signifikanten Merkmale für die jeweilige verglichene Gruppe. Viereck = *C. baltica*, Dreieck = *C. liljebladii*, Weiß = 240, Grau = 90, Schwarz = 30 in $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Zur Analyse der Gesamtheit aller aufgenommenen 37 metrischen und nicht-metrischen Parameter wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt, wobei mit fünf Hauptkomponenten nur insgesamt 66 % der Gesamtvariation im Datensatz erklärt werden konnten (Tabelle A6). Um ca. 80 % der Variation zu erklären, mussten insgesamt zehn Hauptkomponenten miteinbezogen werden. Ein ähnliches Bild zeigten dann auch die Eigenvektoren dieser Analyse (Tabelle A7), die für die ersten fünf Hauptkomponenten allesamt sehr gering ausfielen und die Bestimmung der relevanten Merkmale, die für eine Trennung der beiden Hauptgruppen verantwortlich waren, kaum möglich war. In der Analyse bildeten die beiden Taxa *C. baltica* und *C. liljebladii* zwei getrennte Cluster (mit einem Ausreißer), wobei diese Trennung hauptsächlich mit der zweiten Hauptkomponente erzielt wurde (Abbildung 17) und diese in ähnlichem Maße durch die Länge der Quirläste und der Endzellen des ersten und zweiten Wirtels, dem Durchmesser der Rindenzellen und der Anzahl der unberindeten Segmente der Quirläste bestimmt wurden (Tabelle A7). Die Aufteilung innerhalb dieser beiden Cluster war mit den oben beschriebenen MDS-Plots vergleichbar, wobei *C. baltica* scheinbar eine größere Plastizität der morphologischen Merkmale aufzuweisen scheint. Die Individuen von *C. liljebladii* gruppierten (bis auf drei Ausnahmen) unabhängig von den Lichtbedingungen während der Inkubation sehr nah beieinander.

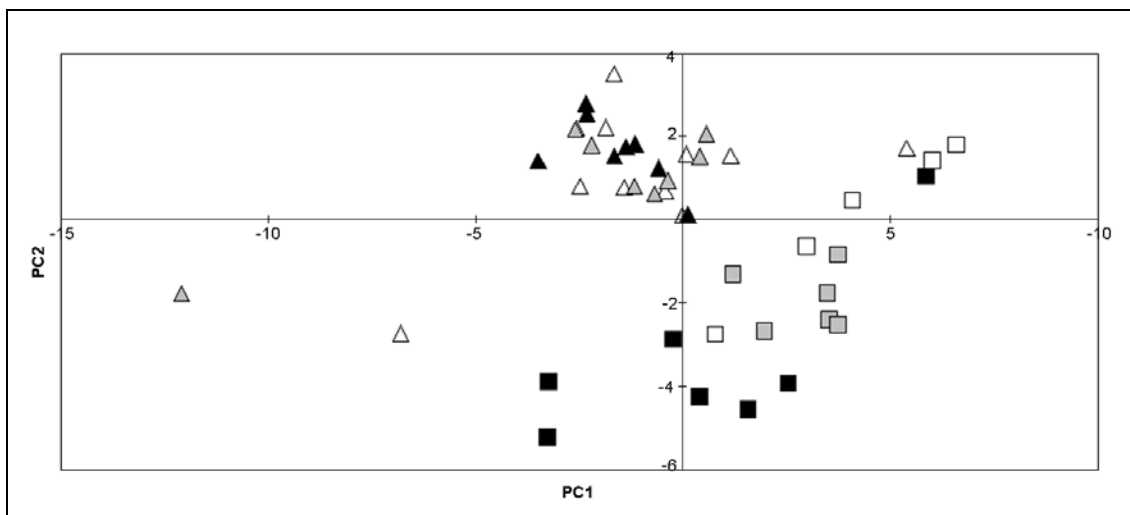


Abbildung 17 Hauptkomponentenanalyse der morphologischen Parameter von *C. baltica* (Vierteck) und *C. liljebladii* (Dreieck) gemessen nach vier Wochen Akklimation bei 240 (Weiß), 90 (Grau) und 30 (Schwarz) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.2 *Fucus*

In diesem Abschnitt sollte die taxonomische Zuordnung der auf Helgoland zu beobachteten *Fucus*-Individuen mit stark abweichender Morphologie geklärt werden. Dafür wurden neben einer ausführlichen Beschreibung des *Fucus*-Bestandes der Insel Helgoland auch Vergleichsmaterial von den umgebenden Küstengebieten gesammelt und analysiert, um die morphologische Variabilität der Gattung *Fucus* darzustellen und evtl. vorhandene Kreuzungspartner zu identifizieren²¹. In einem weiteren Schritt wurden die *Fucus*-Arten genetisch charakterisiert und mit den traditionellen morphologischen Clustern verglichen.

3.2.1 Beschreibung der *Fucus*-Arten auf Helgoland

Im Juli 2010 und Mai 2011 erfolgte die Probenahme auf der Insel Helgoland an vier Standorten: dem Felswatt, dem NO-Hafen, dem S-Hafen und am Südstrand. An allen Standorten konnten die drei *Fucus*-Arten in ihrer typischen Form beprobt werden, wobei eine große Variabilität der morphologischen Parameter auffällig war.

Die an den unterschiedlichen Standorten angetroffenen Individuen von *F. vesiculosus* variierten sehr stark in ihrer Länge (12 – 72 cm) und kamen sowohl mit als auch ohne echte Vesikel vor, sodass sie nur durch die Bestimmung der Häusigkeit von den monözischen Individuen des *F. spiralis* zu trennen waren. Sowohl im Felswatt als auch im NO-Hafen konnten Individuen von *F. vesiculosus* beobachtet werden, deren Rezeptakel ebenfalls einen mehr oder weniger deutlichen sterilen Rand aufwiesen. Zusätzlich waren im Felswatt Formen von *F. vesiculosus* zu finden, die Rezeptakel mit unterschiedlichsten Formen zeigten: ein- bis mehrfingrig, herz- und doppelherzförmig, sehr groß und breit. Damit erinnerten diese an die Individuen, welche im NO-Hafen von Kornmann und Sahling (1994) als *F. ceranoides* beschrieben wurden. Aufgrund ihrer Häusigkeit gingen sie zunächst als *F. vesiculosus** in die Analyse mit ein, wobei die tatsächliche taxonomische Zugehörigkeit im Folgenden noch geklärt werden sollte.

Individuen von *F. spiralis* traten vorwiegend als *F. spiralis* var. *platycarpus* auf; es wurden aber auch sehr kleine Individuen (12 cm) mit aufgeblähtem Thallus und runden, fast randlosen Rezeptakula beobachtet. Weiterhin wurden sehr lange Individuen (40 cm) von *F. spiralis* angetroffen, deren Rezeptakel nur einen kaum wahrnehmbaren sterilen

²¹ Die Rohdaten und deren Analyse innerhalb der MDS-Plots und PCAs wurden der Bachelorarbeit von Schmidt (2011) entnommen.

Rand aufwiesen, wobei eine Artzuordnung hier ebenfalls durch die Bestimmung der Häufigkeit erfolgte.

Die Individuen von *F. serratus* waren an allen Standorten in der typischen Morphologie zu beobachten und nur im Felswatt wurden vereinzelte Individuen mit glattem bis wenig gezähntem Rand beobachtet.

Während im NO-Hafen alle Arten in ähnlicher Abundanz vorhanden waren, dominierten im Felswatt die beiden Arten *F. serratus* und *F. vesiculosus*, wohingegen *F. spiralis* auf den Trümmerblöcken im Felswatt nur selten anzutreffen war. Am häufigsten konnte diese Art noch an der Molenwand in der typischen Form als *F. spiralis* var. *platycarpus* beobachtet werden. Am Südstrand traten die Vertreter der Gattung *Fucus* in seiner typischen Vertikalgliederung mit *F. spiralis* als obersten, *F. vesiculosus* und *F. serratus* als untersten Vertreter auf. Alle Taxa waren hier ausschließlich in ihrer typischen Morphologie zu beobachten, wohingegen der Bewuchs des S-Hafens durch *Ascophyllum nodosum* und *F. serratus* dominiert wurde.

Sowohl 2010 als auch 2011 wurden auf Helgoland Individuen angetroffen deren Zuordnung zu den Taxa *F. spiralis*, *F. vesiculosus* und *F. serratus* problematisch war, da die beobachteten morphologischen Merkmale nicht konsistent in den Merkmalskomplex der Arten eingeordnet werden konnten. Als eindeutiges Trennungsmerkmal insbesondere zwischen *F. spiralis* und *F. vesiculosus* blieb somit nur die Unterscheidung zwischen monözischen und diözischen Pflanzen. Die Individuen, die potentiell dem von Kornmann und Sahling (1994) als *F. ceranoides* bezeichneten Morphotyp entsprachen, gingen mit den Probennummern Fu022* bis Fu025* und Fu124* in die Analyse ein. Es ist hier allerdings anzumerken, dass keines der Individuen vollständig der Beschreibung in Kornmann und Sahling (1994) entsprach.

3.2.2 Morphologische Analyse

Um zu klären, ob anhand einzelner metrischer Parameter eine Trennung zwischen unterschiedlichen *Fucus*-Arten möglich ist, wurden mit Hilfe des Programms SPSS (Version 2.0, IBM, USA) die metrischen Daten von *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. ceranoides*, *F. cottonii*, *F. serratus* und *F. distichus* von Helgoland und umgebenen Küstengebieten in Form von Box-Whisker-Plots dargestellt. Hinsichtlich der untersuchten Parameter waren kaum Unterschiede zwischen den analysierten Arten zu erkennen, wobei hier beispielhaft die Box-Plots zur Stiellänge und dem Ab-

stand von dichotomen Verzweigungen gezeigt werden sollen (Abbildung 18). Die übrigen Diagramme waren diesen vergleichbar und sind im Anhang aufgeführt (Abbildung A1-1, A1-2). Eine Trennung der Taxa *F. serratus* von *F. cottonii* bzw. *F. distichus* konnte in alle Box-Plots beobachtet werden, wobei diese bei letzterem auch auf die geringe Probenahmegröße zurückzuführen sein kann. Weiterhin konnte *F. cottonii* als einer der kleinsten Vertreter dieser Gattung von den übrigen Taxa durch die Parameter Gesamtlänge oder Dichotomieabstand (Abbildung 18) unterschieden werden, wobei für die übrigen Parameter Überschneidungen zu *F. spralis*, *F. vesiculosus* oder auch *F. ceranoides* zu beobachten waren. Für die übrigen Taxa war jedoch aufgrund der großen Streuung mit keinem der metrischen Parameter eine Trennung der Taxa möglich, welche auch durch die Bildung von unterschiedlichen Verhältnissen (z. B. Gesamtlänge zu Stiellänge) nicht erreicht werden konnte (vergleiche Abbildung A1-2).

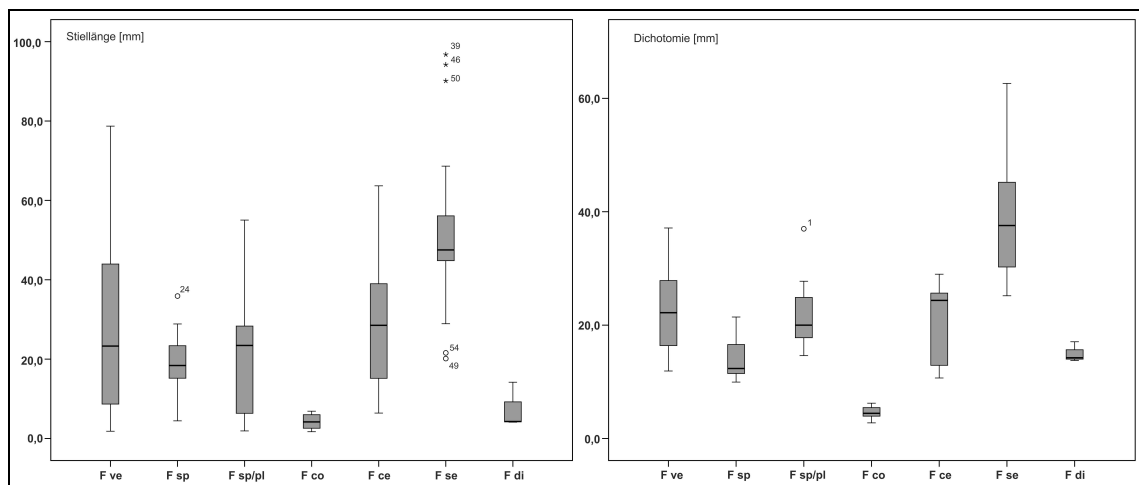


Abbildung 18 Darstellung der Box-Whisker-Plots der Parameter Stiellänge und Abstand zweier dichotomer Verzweigungen für die analysierten *Fucus*-Taxa. F ve = *F. vesiculosus*, F sp = *F. spiralis*, F sp/pl = *F. spiralis* var. *platycarpus*, F co = *F. cottonii*, F ce = *F. ceranoides*, F se = *F. serratus*, F di = *F. distichus*.

Zur Absicherung dieses Eindrucks erfolgten für alle vermessenen Parameter Kruskal-Wallis-Tests (Tabelle A9), die durchgehend signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten einzelner Gruppen darstellen konnten. Vor allem *F. serratus* und *F. cottonii* zeigten dabei immer wieder Unterschiede zu den übrigen Taxa. So ergaben sich z. B. für den Parameter Siellänge mit Werten zwischen 0,0 und 0,014 (Signifikanzgrenze: 0,05) signifikante Unterschiede zwischen *F. serratus* und *F. cottonii*, *F. spiralis* bzw. *F. distichus* sowie mit einem Wert von 0,034 für *F. cottonii* und *F. vesiculosus*. Ein ähnliches Bild ergaben die Tests des Parameters Abstand zweier dichotomer Verzweigungen, bei denen *F. cottonii* mit Werten zwischen 0,0 und 0,02 signifikante Un-

terschiede zu *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. vesiculosus* und *F. serratus* zeigte und *F. serratus* zusätzlich von *F. spiralis* (0,0) und *F. vesiculosus* (0,05) unterschieden werden konnte. Eine eindeutige Zuordnung auf Basis einzelner metrischer Parameter erwies sich jedoch auch hier, aufgrund der zahlreichen Überschneidungen der Daten, als schwierig. Zwischen den Taxa *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus* und *F. ceranoides* waren nur vereinzelt signifikante Unterschiede zu beobachten (Tabelle A9).

Da mit Hilfe von einzelnen Parametern keine Trennung der Taxa möglich war, erfolgte im Weiteren eine Auswertung der Gesamtheit der vermessenen Parameter durch Hauptkomponentenanalysen (PCA) und MDS-Plots. Es wurden verschiedene PCAs der metrischen Parameter durchgeführt, wobei die Individuen sowohl einzeln als auch in Gruppen (nach Art und Standort zusammenfasst) in die Analyse mit eingingen. Zunächst wurde der Gesamtdatensatz ausgewertet und anschließend der Datensatz reduziert, um durch Eliminierung von Parametern, die eine geringe Rolle bei der Auflösung spielten (nur in höheren Dimensionen auftretend), zu einer besseren Trennung zu gelangen. Da die Ergebnisse aller durchgeführten Analysen sehr ähnlich ausfielen, sollen hier nur die Analysen der zu Gruppen zusammengefassten Individuen erläutert werden.

Tabelle 12 Komponentenmatrix der PCA aller metrischen Parameter der zu Gruppen zusammengefassten *Fucus*-Individuen.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Länge größtes Rezeptakulum	0,182	0,559	0,117	-0,086	-0,504
Breite größtes Rezeptakulum	0,072	0,227	0,175	-0,182	-0,444
Länge kleinstes Rezeptakulum	0,144	0,455	0,096	0,575	0,216
Breite kleinstes Rezeptakulum	0,070	0,274	0,069	0,262	0,188
Stiellänge	0,183	0,153	-0,949	0,052	-0,116
Stielbreite	0,056	0,102	-0,043	-0,048	0,101
Stielbreite	0,117	0,388	0,048	-0,278	0,573
Mittelrippenbreite	0,001	0,066	-0,005	0,072	0,110
Thallusbreite	0,075	0,221	0,048	-0,510	-0,010
Gesamtlänge	0,937	-0,318	0,118	-0,022	0,038
Dichotomieabstand	0,025	0,019	-0,001	0,048	-0,009

Bei der Betrachtung der PCA wurde deutlich, dass die PC1, die vor allem durch die Gesamtlänge des Thallus bestimmt wurde, mit ~80 % den größten Anteil an der Verteilung der Gruppen hatte. Gefolgt von den PC2 und PC3 mit 8 bzw. 7 % Anteil, wobei die Stielbreite, die Gesamtlänge und die Länge der Rezeptakula hauptsächlich zur Trennung beitrugen (Tabelle 12). Für die auf den metrischen Parametern basierenden PCA (Abbildung A2) konnte festgestellt werden, dass eine Gruppierung von Individuen oder Taxa in keiner Analyse beobachtet wurde.

Um sowohl die vermessenen als auch die beschreibenden Parameter in die Analyse mit einzubeziehen, wurden beide Datensätze einzeln sowie in Kombination in MDS-Plots dargestellt. Für die kombinierten Datensätze wurde deutlich, dass sich die Bereiche der einzelnen Taxa überschneiden und keine Trennung durch die Verknüpfung der beiden Datensätze erreicht werden konnte (Abbildung 19A). Im Gegensatz zu den eben genannten Analysen ergab sich in der Auswertung der rein beschreibenden Parameter ein anderes Bild. Es war jetzt eine klare Trennung zwischen den einzelnen Arten zu beobachten und die morphologisch auffälligen Individuen von Helgoland mit den Nummern Nr. 22* bis 25* ordneten sich ausnahmslos in das *F. vesiculosus*-Cluster ein (Abbildung 19B).

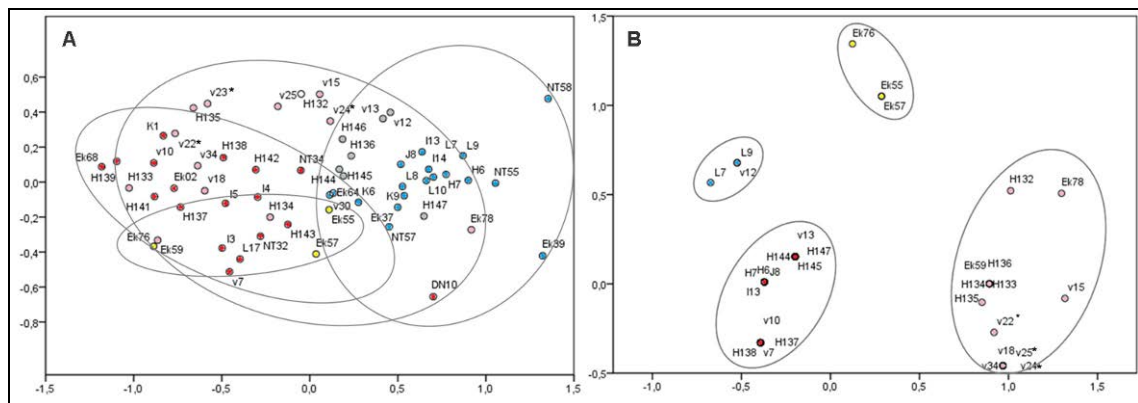


Abbildung 19 **A)** MDS-Plot der *Fucus*-Individuen anhand metrischer und beschreibender Parameter. Blau = *F. spiralis*, Grau = *F. spiralis* var. *platycarpus*, Rot = *F. serratus*, Rosa = *F. vesiculosus*, Gelb = *F. ceranoides*. **B)** MDS-Plot der *Fucus*-Individuen anhand beschreibender Parameter. Da eine Vielzahl der Individuen dabei eine Ähnlichkeit von 100 % aufwies, sind die Proben des Taxons *F. spiralis* var. *platycarpus* innerhalb des Clusters *F. spiralis* zu finden. Blau = *F. spiralis*, Rot = *F. serratus*, Rosa = *F. vesiculosus*, Gelb = *F. ceranoides* (verändert nach Schmidt 2011).

3.2.3 Genetische Analyse

Um diese rein morphologische Zuordnung der Individuen mit auffälligem Morphotyp zu *F. vesiculosus* zu stützen, wurden im Folgenden phylogenetische Analysen basierend auf 696 bp des nuklearen Markers PDI durchgeführt, von denen 86 (12,4 %) Positionen variabel und 51 (7,3 %) parsimonie-informativ waren. Bei der Analyse der p-Distanzen ergaben sich zwischen den Sequenzen Unterschiede von 0 - 5,87 %, wobei die größten durchschnittlichen p-Distanzen zwischen *F. cottonii* und *F. serratus* zu beobachten waren. Innerhalb des Alignments konnten insgesamt 18 Indels identifiziert werden, dessen Größe zwischen 1 und 89 bp variierte und von denen 11 mit Hilfe des Programms Fast-Gap v1.2 als informativ bewertet und daher in den nachfolgenden Analysen berücksichtigt wurden. Die Topologien der ermittelten Stammbäume waren dabei für die zu beobachtenden drei Hauptcluster vergleichbar und zeigten zwischen diesen eine klare Trennung (Abbildung 20). Das erste Cluster setzte sich aus den Taxa *F. serratus* und *F. distichus* zusammen. Das zweite gruppierte Individuen des Taxons *F. ceranoides* und in dem dritten Cluster wurden Individuen von *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. radicans* und *F. cottonii* mit hohen Bootstrap-Werten (≥ 97) und maximalen Posteriori-Wahrscheinlichkeiten zu einem Monophylum zusammengefasst, wobei die Beziehungen innerhalb dieses Cluster in den berechneten Stammbäumen nicht einheitlich war und die zu beobachtenden Verzweigungen meist durch sehr geringe Wahrscheinlichkeiten unterstützt wurden. Ausnahmslos alle morphologisch nicht eindeutig bestimmbaren Individuen der Insel Helgoland ordneten sich gemeinsam mit vergleichbaren Morphotypen anderer Standorte (Sylt und der SW-Küste Englands) in dieses Cluster ein und zeigten zu den Sequenzen von *F. ceranoides* mit ca. 2,5 % vergleichbar hohe genetische Unterschiede. In Tabelle 13 wird deutlich, dass die genetische Variabilität innerhalb der Taxa *F. vesiculosus* und *F. cottonii* mit 0,7 % bzw. 1,3 % vergleichsweise höher ausfiel als die genetischen Unterschiede zwischen einzelnen Taxa (z. B.: 0,4 % zwischen *F. serratus* und *F. distichus*). Da die Beziehungen des dritten Clusters um *F. vesiculosus* mit Hilfe der Stammbaumanalysen nicht dargestellt werden konnten, wurde ein Haplotypen-Netzwerk konstruiert.

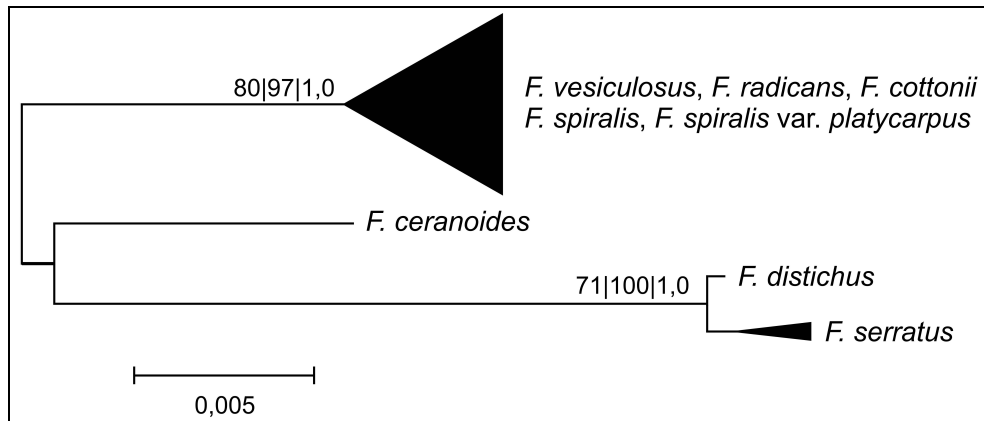


Abbildung 20 Phylogenie von der Gattung *Fucus* basierend auf PDI-Sequenzen mit 696 bp. Der Stammbaum wurde durch eine Maximum Parsimony, eine Maximum Likelihood und eine Bayesian Inference Analyse berechnet; Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten (>50 %) wurden bestimmt und sind über den Verzweigungen angegeben (MP|ML|BI). Für eine bessere Visualisierung sind monophylethische Verzweigungen des *F. vesiculosus*- und *F. serratus*-Clusters zusammengefasst (Dreiecke).

Tabelle 13 Darstellung der durchschnittlichen p-Distanzen innerhalb (Rot) und zwischen (Schwarz), sowie der durchschnittlichen Zahl an Substitutionen zwischen (Blau) den verglichenen Gruppen.

	<i>F. vesiculosus</i>	<i>F. radicans</i>	<i>F. cottonii</i>	<i>F. spiralis</i>	<i>F. spiralis</i> var. <i>platycarpus</i>	<i>F. serratus</i>	<i>F. distichus</i>	<i>F. ceranoides</i>
<i>F. vesiculosus</i>	0,70 %	2,9	7,5	4,8	3,9	20,5	18,2	13,4
<i>F. radicans</i>	0,49%	0,00%	6,3	5,0	4,0	20,2	18,0	12,8
<i>F. cottonii</i>	1,21%	0,86%	1,38%	8,5	7,5	24,2	22,0	16,8
<i>F. spiralis</i>	0,83%	0,86%	1,47%	0,40%	1,3	21,2	18,9	13,8
<i>F. spiralis</i> var. <i>platycarpus</i>	0,67%	0,69%	1,30%	0,22%	0,00%	20,2	18,0	12,8
<i>F. serratus</i>	3,55%	3,49%	4,19%	3,67%	3,49%	0,35%	2,2	18,0
<i>F. distichus</i>	3,26%	3,22%	3,94%	3,38%	3,22%	0,39%	0,00%	15,8
<i>F. ceranoides</i>	2,32%	2,22%	2,91%	2,39%	2,22%	3,12%	2,83%	0,24%

Mit Hilfe des Netzwerkes (Abbildung 21) sollten die phylogenetischen Beziehungen der untersuchten Taxa und damit die mögliche Evolution der gefundenen Haplotypen dargestellt werden. Wie in den Stammbaumanalysen war dabei die grundsätzliche Trennung der Gruppen *F. serratus*, *F. distichus* und *F. ceranoides* von den anderen Taxa ersichtlich. Jedoch war auch mit dieser Analyse eine eindeutige Zuordnung von Haplotypen zu den Taxa *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. radicans* und *F. cottonii* nicht möglich. Die hohe intraspezifische Variabilität von *F. vesiculosus*

(0,7 %, Tabelle 13) wird durch 21 Haplotypen, die innerhalb dieses Taxons gefunden wurden, besonders deutlich (Abbildung 21). Dabei konnten auf der einen Seite 20 Haplotypen nur dem morphologischen Taxon *F. vesiculosus* zugeordnet werden. Auf der anderen Seite waren in einem der Haupthaplotypen von *F. vesiculosus* (n = 23) aber auch Individuen anderer Taxa vertreten und wiesen identische Allele zu diesem auf (z. B. *F. spiralis* GQ385148, *F. spiralis* var. *platycarpus* FU016 & *F. cottonii* AM08). Die Individuen der Taxa *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. radicans* und *F. cottonii* ordneten sich zunächst in zwei Gruppen, wobei der Hauptunterschied zwischen beiden in einem Indel von 89 bp bestand. Insgesamt kann jedoch festgestellt werden, dass sich die Individuen der beiden Hauptgruppen, abgesehen von diesem Indel, nur minimal voneinander unterschieden, wobei geringfügige Unterschiede von durchschnittlich 0,7 % beobachtet wurden. Auffällig war, dass innerhalb der Sequenzen, die das Indel besaßen, nur zwei Individuen zu finden waren, die in Habitaten mit einem Salzgehalt >25 PSU gesammelt wurden (Sylt), und der Großteil der Individuen dieses Haplotypen in der Ostsee beheimatet war. Individuen von *F. cottonii* und *F. vesiculosus*, sowohl mit typischer als auch mit ungewöhnlicher Morphologie, konnten in beiden Gruppen beobachtet werden. Das Ostsee-Taxon *F. radicans* zeigte identische Sequenzen zu Individuen von *F. vesiculosus* die hauptsächlich an der Ostseeküste gesammelt wurden und ist in der Gruppe ohne Indel nicht vertreten, wobei das auch auf die geringe Probenzahl von drei Individuen zurückzuführen sein kann. Dagegen waren beide Formen von *F. spiralis* nur in der Gruppe mit Indel zu finden und zeigten sehr große Gemeinsamkeiten, bis hin zu identische Sequenzen, mit Individuen von *F. vesiculosus*. Eine genetische Trennung von *F. spiralis* und *F. spiralis* var. *platycarpus* konnte mit Hilfe dieses Markers nicht beobachtet werden. Für den Großteil der untersuchten Individuen wurde ein einziger genetischer Haplotyp bestimmt. Jedoch konnten für vier Individuen heterozygote Signale für den Marker PDI beobachtet werden. Bei der Proben GB-HS02 wurden zwei unterschiedliche Allele sequenziert, deren genetische Unterschiede sehr gering ausfielen (3 bp). Für drei *F. vesiculosus*-Individuen (Fu098*, BA077, BA24) wurden jedoch jeweils zwei genetisch sehr unterschiedliche Allele bestimmt. Die Allele von Fu098* zeigten dabei p-Distanzen von 1,0 %, wobei eines der Allele mit einem Haplotypen anderer *F. vesiculosus*-Individuen identisch war, während das zweite sich lediglich durch eine Substitution zu einem Haplotypen des Taxons *F. spiralis* unterschied. Jeweil ein Allel der Proben BA24 und BA77 besaß das Indel von 98 bp und war identisch mit 32 weite-

ren Individuen, die größtenteils an der Ostseeküste gesammelt wurden. Während das jeweils zweite Allel dieses Indel nicht aufwies. Innerhalb der Netzwerkanalyse wurden die heterozygoten Allele eines Individuums als unterschiedliche Haplotypen behandelt, wodurch sich die Gesamtzahl der in der Netzwerkanalyse untersuchten Individuen „künstlich“ erhöhte.

In der Rarefaction-Analyse konnte ein Ks-Wert von 141 sowie eine zu erwartende maximale Zahl an Haplotypen von 66 bestimmt werden. Damit würde durch eine weitere Erhöhung des Probenahmeradius die genetische Variabilität mit großer Wahrscheinlichkeit noch einmal gesteigert werden, da die hier analysierten 97 Individuen unter dem KS-Wert liegen.

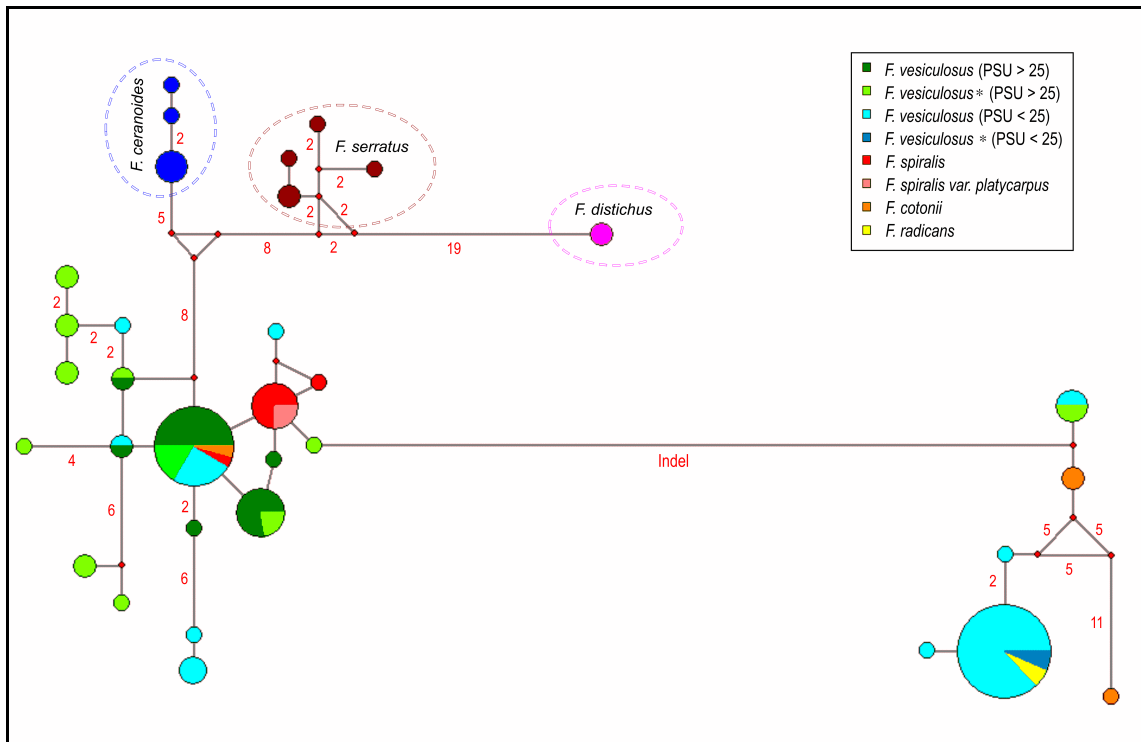


Abbildung 21 Darstellung des Netzwerkes der Gattung *Fucus* basierend auf PDI-Sequenzen mit 696 bp. Die Größe der Kreise korreliert mit der Anzahl der Individuen, die den Haplotypen aufwiesen. Farbige Kreise entsprechen den jeweiligen Taxa, wobei bei *F. vesiculosus* zusätzlich zwischen Standorten mit > und < 25 PSU unterschieden wird und ungewöhnliche Morphotypen durch * gekennzeichnet sind. Kleine rote Kreise kennzeichnen Haplotypen, die nötig sind, das Netzwerk zu erklären, aber nicht im Datensatz gefunden wurden. Die roten Zahlen an den Linien geben die Anzahl an Mutationsschritten an, die zwischen den einzelnen Haplotypen liegen. Sind keine Zahlen angegeben, handelt es sich um einen Mutationsschritt. Die Anzahl der hier dargestellten 33 Haplotypen wurde durch die Anwendung einer Star Contraction (Forster et al. 2001) von ursprünglich 60 Sequenz-Typen erreicht.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass *F. ceranoides* eindeutig mit dem nuklearen Marker PDI von anderen Taxa der Gattung *Fucus* unterschieden werden kann und es sich bei den auf Helgoland gesammelten auffälligen Morphotypen nicht um *F. ceranoides* handelt. Auch wurden keine Hinweise auf mögliche Hybridisierungen mit diesem Taxon gefunden. Für die Taxa *F. vesiculosus*, *F. spiralis*, *F. spiralis* var. *platycarpus*, *F. radicans* und *F. cottonii* können möglicherweise ökologische Tendenzen (Salzgehalt, geografische Verteilung) in Zusammenhang mit den genetischen Haplotypen beobachtet werden, aber eine Trennung der Taxa war mit diesem Marker nicht möglich.

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war eine Überprüfung der Aussagekraft der morphologischen Merkmale, die gegenwärtig zur Artabgrenzung bei Makroalgen Verwendung finden. Zu diesem Zweck sollten genetische Analysen phylogenetische Informationen liefern, die als objektives Maß für Verwandtschaftsverhältnisse mit den Ergebnissen morphologischer Analysen verglichen wurden.

In dieser Studie wurden dafür exemplarisch Algen aus der Familie der Characeae und der Gattung *Fucus* verwendet, da hier aktuell Probleme bei der Artabgrenzung aufgetreten waren, die aus Anwendungsgründen (EU-WRRL) einer Lösung bedurften.

Wegen dieses direkten Anwendungsbezuges sollen im Folgenden zunächst die Details der Ergebnisse für die beiden Gruppen diskutiert werden, bevor eine abschließende Generalisierung erfolgt.

Für die Gattung *Chara* wurden die erhaltenen genetischen Cluster mit den Taxa, die basierend auf den traditionellen morphologischen Methoden bestimmt wurden, verglichen. Da in den Arbeiten von Karol (2004) und Perez et al. (2014) die phylogenetischen Beziehungen der Gattungen der Characeae untereinander bereits detailliert erörtert wurden und die Ergebnisse dieser Studie damit übereinstimmten, soll hier nicht näher darauf eingegangen werden. Gleiches gilt für den Artstatus der europäischen Taxa der Gattung *Nitella*, der ebenfalls durch Karol (2004) ausführlich erörtert wurde. Die Ergebnisse der Stammbaumanalysen der *rbcL*-Sequenzen, die im Rahmen dieser Studie erzeugt wurden, werden daher nur bezüglich ihrer Unterschiede und neuen Erkenntnisse diskutiert. Des Weiteren werden die verwendeten genetischen Marker kritisch betrachtet und die zurzeit verwendeten morphologischen Merkmale innerhalb der Gattung *Chara*, sowie das Ausmaß der morphologischen Plastizität bei genetisch identischen Taxa erörtert.

Für die Gattung *Fucus* werden zunächst die unterschiedlichen Morphotypen der Insel Helgoland betrachtet um darauffolgend die Ergebnisse der genetischen Analysen mit diesen abzugleichen.

In der Schlussbetrachtung dieser Arbeit wird die Verwendung von phylogenetischen Analysen in heutigen taxonomischen und systematischen Untersuchungen kritisch hinterfragt und das Vorhandensein oder Fehlen genetischer Variabilität bewertet.

4.1 Characeae

4.1.1 Genetische Analyse - Gattung *Chara*

Traditionell wird die Gattung *Chara* aufgrund von vegetativen Merkmalen wie Stipularen²² und Berindungstypus²³ taxonomisch unterteilt. Wood und Imahori (1965) haben, basierend auf diesen morphologischen Merkmalen, eine erste Phylogenie der Gattung entwickelt und diese in Sektionen und Subsektionen eingeordnet (Abbildung 22). Sowohl die Ergebnisse der Multi-DNA-Marker Analyse basierend auf 32 Individuen von insgesamt 15 unterschiedlichen *Chara*-Taxa, als auch die Sequenzierung des Markers *matK* von 219 Individuen, die insgesamt 24 Taxa zugeordnet wurden, konnten dieses Bild der morphologischen Phylogenie nur teilweise widerspiegeln (vergleiche Abbildung 22 und Abbildung 23).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Hypothese 1

– Genetische Analysen können dazu genutzt werden, natürliche taxonomische Einheiten innerhalb der Gattung *Chara* darzustellen. –

bestätigt werden konnte. Dabei wurde für der Gattung *Chara* eine größere genetische Variation beobachtet als von Wood und Imahori (1965) prognostiziert wurde - es konnten mehr genetisch eindeutig trennbare Cluster identifiziert werden, als Makroarten von Wood und Imahori (1965) vorgeschlagen wurden. Andererseits wurde jedoch mit den hier verwendeten genetischen Markern nicht die Variabilität erreicht, die eine durchgängige Verwendung des traditionellen Mikroarten-Konzeptes rechtfertigen würde.

In dem nun folgenden Abschnitt soll auf die einzelnen Cluster der Stammbaumanalysen eingegangen werden, wobei die genetischen Cluster dieser Studie mittels der monophyletischen Abstammung einer Gruppe definiert und durch die Morphologie bzw. Ökologie der enthaltenen Taxa begrenzt wurden. Die Grundlage für einen Vergleich mit den morphologischen Konzepten sollen dabei die Arbeiten von Wood und Imahori (1965) als Vertreter des Makroarten-Konzeptes und Corillion (1957) für die Verwendung von Mikroarten bieten. Zusätzlich wurde Krause (1997) für einen Vergleich herangezogen, da dieser sich auf die in Europa vorkommenden Arten konzentrierte und, neben lokal begrenzter Literatur, aktuell häufig verwendet wird.

²² Wood und Imahori's (1965) Subgeni *Charopsis* und *Chara* entsprachen den *Haplostephanae* (Stipularkranz einreihig) und *Diplostephanae* (Stipularkranz zweireihig) von Braun (1882).

²³ Die Sektionen *Desvauxia*, *Chara* und *Grovesia* der berindeten Taxa der Gattung entsprachen den *Haplostichae*, *Diplostichae* und *Triplostichae* von Braun (1882).

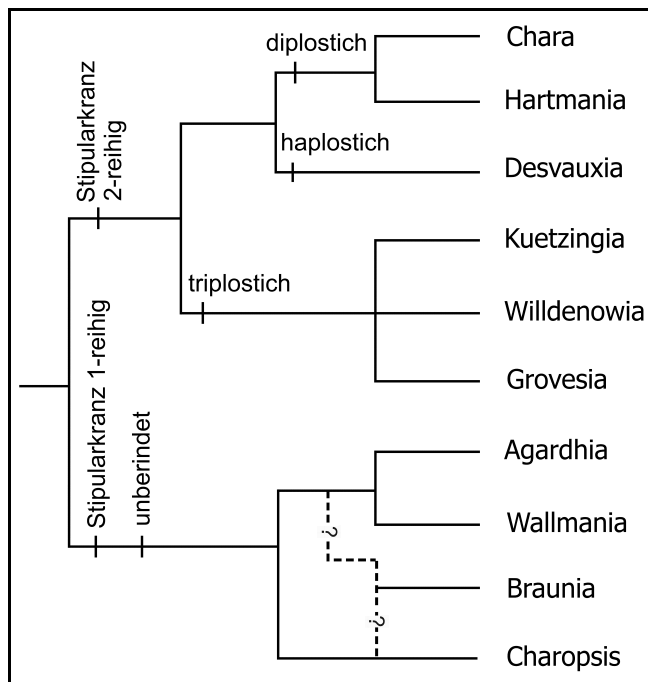


Abbildung 22 Wood und Imahori's (1965) Phylogenie der Subsektionen der Gattung *Chara* basierend auf morphologischen Analysen. Abbildung verändert nach Meiers et al. (1999).

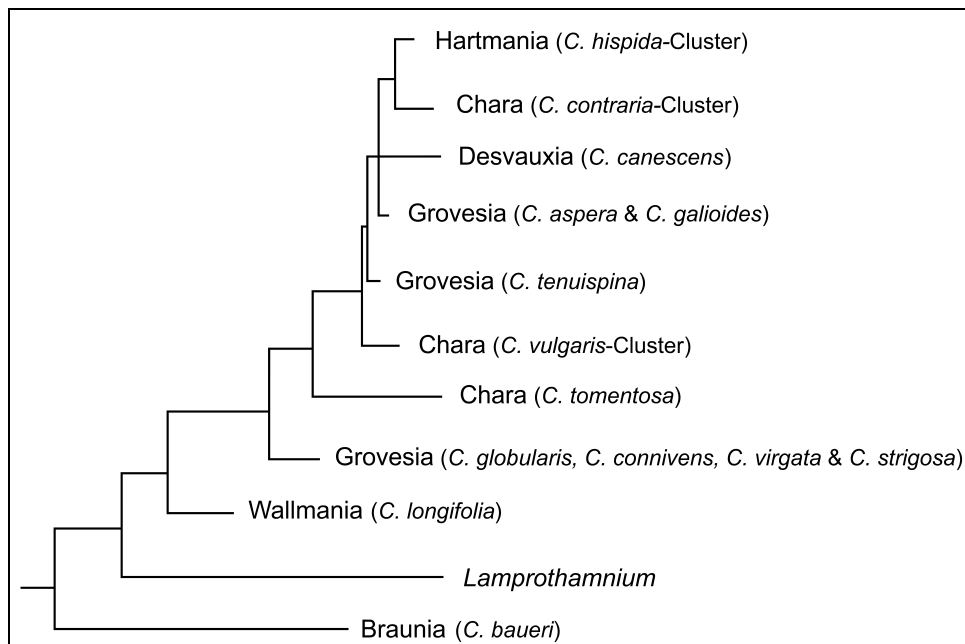


Abbildung 23 Zusammengefasste Phylogenie der Gattung *Chara* basierend auf 843 bp des cpMarkers *matK*. Dargestellt sind die Subsektionen der Gattung.

4.1.1.1 Sektion *Grovesia*

Nach Wood und Imahori (1965) bilden die triplostichen Taxa der Sektion *Grovesia*: *C. aspera*, *C. connivens*, *C. galioides*, *C. globularis*, *C. strigosa*, *C. tenuispina* und *C. virgata* ein nah verwandtes Cluster und sind durch zahlreiche Übergangsformen ihrer morphologischen Merkmale gekennzeichnet, weshalb sie als Varietäten oder Formen in der Makrospezies „*C. globularis*“ zusammengefasst werden. Die Sequenzen der fünf analysierten DNA-Marker unterstützten diese Hypothese bei den Taxa *C. connivens*, *C. globularis* und *C. virgata*, wobei drei klar voneinander getrennte Cluster unterschieden werden konnten. Allerdings wurden die phylogenetischen Beziehungen der drei Taxa in den Datensets unterschiedlich dargestellt. Mit Hilfe des Markers *matK* (Abbildung 5) ist das Cluster *C. virgata* & *C. strigosa* der ursprüngliche Zweig der Gruppe und *C. globularis* und *C. connivens* die beiden abgeleiteten Schwestertaxa. Bei der Analyse der fünf unterschiedlichen Marker (Abbildung 4) erschien *C. globularis* als das phylogenetisch älteste Taxon und *C. virgata* und *C. connivens* als die abgeleiteten, wobei dieses Bild aufgrund der darin enthalten Kombination von Chloroplasten- und Kernmarkern das wahrscheinlichere ist. Das Taxon *C. tenuispina* und das Cluster *C. aspera* & *C. galioides* folgten dem Bild der Makroart „*C. globularis*“ (Wood und Imahori 1965) allerdings nicht und sind phylogenetisch eher mit den Sektionen *Chara* und *Desvauxia* in Verbindung zu bringen.

C. globularis

Dieses Cluster wurde von 21 als *C. globularis* identifizierte Individuen gebildet, welche in Schweden, Dänemark, England, Deutschland, Litauen und Russland gesammelt wurden. In beiden Datensets konnten die Individuen dieses Clusters klar von den Individuen des Taxons *C. virgata* unterschieden werden (CHARA-SCHWEDEN: 1,6 %, CHARA-EUROPA: 2,5-2,8 %). Da zwischen beiden Taxa häufig morphologische Übergangsformen zu beobachten sind, ist es z.T. schwierig *C. globularis* (papilliforme Stipularen) von *C. virgata* (obere Stipularen verlängert) abzugrenzen. In dieser Analyse clusterten Individuen (IW5a, IW13, SO21) mit einem leicht verlängerten oberen Stipularkranz, allerdings ohne Stacheln, ebenfalls eindeutig mit den übrigen Individuen des Taxons *C. globularis*. In den verschiedenen Bestimmungsschlüsseln ist diese Art als triplostich und monözisch beschrieben, allerdings fällt die Beschreibung der Ausbildung der Stipularen und Stacheln sehr unterschiedlichen aus: Krause (1979) beschreibt *C. globularis* ohne Stacheln und mit einem reduzierten Stipularkranz, bei Wood und Imahori (1965)

ist der Stipularkranz stets reduziert, es können aber leicht verlängerte Stacheln auftreten und bei Corillion (1957) können die Stipularen leicht verlängert sein und an den jüngsten Internodien können ebenfalls leicht verlängerte Stacheln auftreten. Die phylogenetischen Daten unterstützen eine Kombination der Merkmale nach Krause (1997), bei der Stacheln fehlen und nach Corillion (1957) bei der dieses Taxon einen, wenn auch nur leicht, verlängerten oberen Stipularkranz ausbilden zu kann. Die Beschreibung nach Wood und Imahori (1965) konnte mit dem derzeitige Datensatz nicht bestätigt werden. Innerhalb dieses Clusters konnte eine genetische Variabilität der *matK*-Sequenzen zwischen 0,2 % und 0,6 % beobachtet werden, was 2-5 Basenpaaren entsprach. Diese genetische Variabilität konnte nicht mit bestimmten Standorten oder morphologischen Besonderheiten in Verbindung gebracht werden. Allerdings sind die vier Individuen, welche nicht dem üblichen *C. globularis*-Haplotyp (17 Indiv.) entsprachen, in Keimungsexperimenten gewachsen und drei der vier Individuen unter Schwachlichtbedingungen gekeimt sind. Besonders interessant ist dabei, dass in Sedimentproben aus dem Stoßdorfer See zwei Individuen (AH05-Fe15, AH07-15C01) unter 30-40 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ den Haupthaplotypen aufwiesen und ein Individuum (Sts19) einer Parallelprobe, welche unter 15-20 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ keimte, sich durch Substitutionen an drei Positionen von diesen unterschied. Das wirft die Frage auf, ob sich die beiden Haplotypen physiologisch voneinander unterscheiden und z. B. unter bestimmten Lichtbedingungen auch unterschiedliche genetische Haplotypen auskeimen.

Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen damit die Resultate von Proctor (1971), welcher bei unterschiedlichen Populationen von *C. globularis* Kreuzungsschranken beobachten konnte. Inwieweit sich die verschiedenen Genotypen von *C. globularis* in ihren ökophysiologischen Charakteren unterscheiden, sollte in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.

C. connivens

Das Cluster um das diözische Taxon *C. connivens* konnte mit hohen Bootstrap-Werten (CHARA-SCHWEDEN: $\geq 73\%$, CHARA-EUROPA: $\geq 76\%$) und maximalen Posteriori-Wahrscheinlichkeiten von der monözischen *C. globularis* getrennt werden. Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen damit die These, dass dieses Merkmal genutzt werden kann, um monözische (*C. globularis*) von diözische (*C. connivens*) Arten abzugrenzen. Beide Taxa werden in den Bestimmungsschlüsseln als triplostiche Pflanzen beschrieben, die reduzierte Stipularen und Stacheln aufweisen und von Krause (1997) und Coril-

lion (1957) nur aufgrund der Häufigkeit voneinander abgegrenzt werden. Wood und Imahori (1965) beschreiben in beiden Formen sowohl mon- als auch diözische Formen und definieren *C. connivens* durch einwärtsgebogene Quirläste, wobei dieses Merkmal in Wachstumsversuchen bei *C. hispida*, *C. intermedia* und *C. contraria* durch unterschiedliche Lichtbedingungen ebenfalls beeinflusst werden konnte (Schneider et al. 2006, 2015a). Ob das Merkmal der einwärtsgebogenen Quirläste für eine Differenzierung beider Taxa genutzt werden kann, was sich speziell bei nicht fertilen Individuen als hilfreich erweisen könnte, kann mit den Daten dieser Studie nicht geklärt werden und erfordert weitere Untersuchungen.

Innerhalb dieses Clusters konnte mit Hilfe des Markers *matK* eine vergleichbar hohe genetische Variabilität von 2,6 % (entspricht 22 bp) zwischen den neun genetisch identischen Individuen aus Schweden, Deutschland und Polen und einer GenBanksequenz aus NO-Spanien (AY170442, Sanders et al. 2003) beobachtet werden. Vergleichbare intraspezifische p-Distanzen sind sonst in keinem anderen genetischen Cluster beobachtet worden. Im Gegenteil, bereits geringere Werte von ca. 2 % unterschieden z. B. Individuen des Taxons *C. vulgaris* von *C. baltica*- oder *C. canescens*-Proben. Geht man davon aus, dass die Sequenz der GenBank korrekt sequenziert ist, stellt sich damit die Frage, ob das entsprechende Individuum einer Fehlbestimmung unterlag oder ob *C. connivens* sich aus zwei nah verwandten, aber getrennten Taxa zusammensetzt. Die Verbindung einer diözischen Vermehrung mit einer erhöhten genetischen Diversität wurde zwar in anderen Algenarten häufig beschrieben (z. B. Dorken und Barrett 2004, Perrin et al. 2007), ist aber in diesem Fall aufgrund der hohen Werte im Vergleich mit den ebenfalls diözischen Taxa *C. aspera* und *C. galiodes* (0,12-1,08 %) oder auch *C. tomentosa* (0 %), als Erklärung eher unwahrscheinlich. Die hohen p-Distanzen von 2,6 % deuten möglicherweise darauf hin, dass es sich um ein weiteres, mit *C. connivens* nah verwandtes Taxon handeln könnte. In Frage kommt dabei die in mediterranen Gebieten Europas und N-Afrika beschriebene Art *C. fragifera* Dur. 1859. Sie ist ebenso wie *C. connivens* triplostich, diözisch und die Stacheln sind reduziert. Im Gegensatz zu *C. connivens* bildet *C. fragifera* allerdings Bulbillen aus (Corillion 1957). Wood und Imahori (1965) führen beide Taxa als unterschiedliche Formen der Varietät „*globularis*“ und definieren *C. connivens* als relativ starre Pflanzen mit einwärtsgebogenen, kurzen Quirlästen, die keine Bulbillen bilden und *C. fragifera* als sehr lange Pflanzen mit langen, dünnen Quirlästen, die Bulbillen ausbilden können. Inwieweit diese Vermutung zutrifft kann nur in weiteren Analysen geklärt werden.

C. virgata - *C. strigosa*

Mit Hilfe der fünf DNA Marker lies sich ein separates *C. virgata*-Cluster mit sehr hohen Wahrscheinlichkeiten ($\geq 98\%$) von *C. globularis* und *C. connivens* trennen. In den Stammbaumanalysen basierend auf den Sequenzen des Markers *matK* setzte sich dieses Cluster aus jeweils zwei *C. virgata*-Individuen aus Schweden und Deutschland zusammen. Daneben waren zwei Individuen des Taxons *C. strigosa* zu finden, bei der eines (Estland) eine identische Sequenz zu den *C. virgata*-Proben aufwies und das zweite (Irland) an zwei Positionen (0,24 %) eine Substitution zu diesen. Des Weiteren wurde eine als *C. globularis* registrierte Sequenz aus der GenBank (AY170443, 2003), bei der es sich um eine Fehlbestimmung oder auch um eine unvollständige Benennung handeln könnte, ebenfalls in dieses Cluster gruppiert. Letzteres kann in der unterschiedlichen Anwendung des Mikro- oder Makroarten-Konzeptes begründet sein. Geht die Benennung des GenBank-Individuums auf das Makroarten-Konzept zurück, wäre „*C. globularis*“ nicht grundsätzlich falsch, sondern lediglich nicht vollständig bis zu *C. globularis* var. *virgata* f. *virgata* benannt (Wood und Imahori 1965). Eine Kennzeichnung in der Datenbank ist bisher nicht erforderlich. Jedoch ist eine Fehlbestimmung ebenso möglich, da, wie bereits im Abschnitt über *C. globularis* beschrieben, die morphologische Unterscheidung zwischen *C. virgata* und *C. globularis* nicht immer eindeutig ausfällt.

Innerhalb dieses Clusters wurde eine geringe genetische Variabilität der *matK*-Sequenzen von 0,24 % beobachtet, wobei fünf der sieben analysierten Individuen identische Sequenzen aufwiesen und morphologisch den zwei Taxa *C. virgata* und *C. strigosa* zugeordnet wurden. In den Bestimmungsschlüsseln werden beide Taxa gewöhnlich als getrennte Arten beschrieben. Dabei besitzt *C. virgata* eine triplostiche Berindung, die oberen Stipularen sind deutlich, die Stacheln nur unauffällig oder leicht verlängert (Corillion 1957, Krause 1997). Wohingegen bei *C. strigosa* zwei bis drei Rindenreihen beschrieben werden, beide Reihen der Stipularen gut entwickelt und die Stacheln lang und spitz sind (Corillion 1957, Krause 1997). Diese Beschreibungen treffen inhaltlich auch auf die in Wood und Imahori (1965) beschriebenen Taxa zu, nur dass sie keinen Artstatus besitzen, sondern unterschiedlichen Varietäten der Makroart „*C. globularis*“ zugeordnet werden, wobei *C. strigosa* eine Varietät von „*aspera*“ ist und *C. virgata* der Varietät „*virgata*“ zugeordnet wird. Auch Corillion (1957) weist darauf hin, dass *C. strigosa* entweder eine Verbindung zu *C. aspera* oder aber, aufgrund

der irregulären Berindung auch zu *C. aculeolata*²⁴ aufweisen könnte. Durch die hier erzeugten Daten konnten beide Theorien nicht bestätigt werden. Dafür stimmen die Ergebnisse der *matK*-Sequenzen mit den Ergebnissen der AFLP-Analysen von Mannschreck (2003) überein, in denen beide Taxa ein eigenständiges Cluster bildeten, aber eine genetische Trennung nicht möglich war. Jedoch war die Anzahl der hier untersuchten Individuen sehr gering, so dass weitere Analysen mit größerer Probenzahl, aber auch weiteren genetischen Marker erforderlich sind, um den Artstatus beider Taxa zu prüfen.

C. aspera - *C. galioides*

Die Sequenzen von *C. aspera* bildeten ein eigenständiges Cluster und unterschieden sich von den übrigen Taxa innerhalb der fünf DNA-Marker im Durchschnitt um 1,7 % (94 bp) und mit Hilfe der *matK*-Sequenzen um 2,9 % (10 bp). Sie wurden phylogenetisch von den anderen Taxa der Sektion Grovesia getrennt, was mit den AFLP-Analysen von Mannschreck (2003) ebenfalls beobachtet werden konnte.

Die Analysen der *matK*-Sequenzen zeigten ein Cluster, das aus insgesamt 34 Individuen bestand, welche zwei morphologisch getrennten Arten zugewiesen werden konnten: *C. aspera* und *C. galioides*. Auffällig dabei war, dass sich die Proben des Taxons *C. galioides* über das gesamte Cluster verteilten und keine monophyletische Gruppe bildeten. Zwei *C. galioides* aus Spanien (E1-8, E1-12) bildeten das Schwestertaxon zu allen restlichen Proben und unterschieden sich von diesen mit p-Distanzen von durchschnittlich 0,9 % (7 bp). Die Unterschiede innerhalb der restlichen Individuen waren mit Substitutionen an durchschnittlich zwei Positionen (0,2 %) wesentlich geringer. Dabei zeigten zwei Individuen aus Griechenland identische Sequenzen zu neun *C. aspera*-Individuen, die in fünf europäischen Ländern gesammelt wurden. Von denen unterschieden sich 16 *C. galioides*-Individuen aus Spanien in einem Basenpaar (0,1 %) und bildeten ein eigenes Cluster. Diesen beiden Gruppen gegenübergestellt waren weitere *C. aspera*-Proben, welche an der deutschen Ostseeküste in unterschiedlichen Salzgehalten gesammelt wurden und Substitutionen an ein bis zwei Positionen aufwiesen.

Die Taxa *C. aspera* und *C. galioides* sind einander sehr ähnlich und werden als diözische, irregulär triplostiche Pflanzen beschrieben, deren Stacheln und Stipularen sehr variabel sowohl in ihrer Länge als auch in ihrer Form sein können (Corillion 1957,

²⁴ Corillion (1957) sah zwischen *C. intermedia* A. Er. und *C. polyacantha* A. Br. einen fließenden morphologischen Übergang und fasste beide zu *C. aculeolata* zusammen.

Wood und Imahori 1965, Krause 1997) und nur anhand des größeren Antheridien- und z.T. auch Internodiendurchmessers bei *C. galioides* voneinander unterschieden werden (Flor-Arnau et al. 2006). Die Ergebnisse der *matK*-Sequenzen unterstützen die Ansicht von Wood und Imahori (1965), die beide Taxa als unterschiedliche Formen der Varietät „*aspera*“ beschrieben haben. Allerdings ist eine p-Distanz der beiden spanischen Individuen (E1-8 & E1-12) von ~1 % im Vergleich zu den übrigen intraspezifischen Unterschieden vergleichsweise hoch. Zum Beispiel konnten ähnliche Werte auch zu den Sequenzen von *C. contraria*-Proben beobachtet werden. Zusätzlich konnte Mannschreck (2003) mit Hilfe von AFLP-Analysen beide Taxa eindeutig voneinander trennen. Es besteht folglich auch die Möglichkeit, dass das Taxon *C. galioides* in zwei unterschiedlichen genetischen Formen vorkommt. Weitere Untersuchungen, auch mit weiteren genetischen Markern sind notwendig, um die Frage der Eigenständigkeit des Taxons *C. galioides* zu klären.

Die an der deutschen Ostseeküste gesammelten *C. aspera*-Proben (7-14 PSU) wiesen z.T. den Haupthaplotypen dieser Gruppe auf, dessen Proben sowohl im Süß- als auch im Brackwasser gesammelt wurden. Sie zeigten aber auch genetische Unterschiede mit Substitutionen an ein bis vier Positionen (0,1-0,5 %). Mannschreck (2003) konnte bei AFLP-Analysen von 12 *C. aspera* -Populationen aus dem Süß- und Brackwasser eine starke genetische Differenzierung zwischen den Populationen beobachten und vermutete, auch basierend auf den von Croy (1982) beobachteten Kreuzungsschranken zwischen Individuen eines Kontinentes, dass innerhalb dieses Taxons verschiedene Schwesternarten koexistieren. Im Gegensatz dazu konnten Blindow et al. (2009), ebenfalls mit Hilfe von AFLP-Analysen und Kreuzungsexperimenten, keine Unterschiede zwischen *C. aspera*-Proben aus Habitaten mit unterschiedlichen Salzgehalten nachweisen.

Blindow et al. (2009) konnten aber auch beobachten, dass speziell im Brackwasser der Ostsee die Oosporenproduktion sehr gering ausfiel und die asexuelle Fortpflanzung über Bulbillen oder Pflanzenteile einen sehr großen Stellenwert einnahm. Das könnte in diesem Fall als Konkurrenzvorteil gegenüber anderen Arten interpretiert werden, da die Bulbillen an die jeweiligen Standortbedingung bereits angepasst sind und das Austreiben einer Bulbille oder Austreiben aus vegetativen Pflanzenteilen schneller erfolgt als das Auskeimen einer Oospore. Damit können mit großer Wahrscheinlichkeit an den jeweiligen Standorten klonale Linien gefunden werden die, in Verbindung mit der diözyse Vermehrung von *C. aspera*, welche gemeinhin zu einer erhöhten genetischen

Diversität führt (Lu und Williams 1994, Dorken und Barrett 2004, Perrin et al. 2007), die beobachteten Unterschiede erklären würden. Für eine Absicherung dieser Hypothese sind weiterführende Untersuchungen nötig, bei denen neben einer großflächigen Beprobung auch eine intensive Dokumentation von abiotischen Faktoren (z. B. Leitfähigkeit, Wassertiefe, Sichttiefe, Temperatur) empfohlen wird.

C. tenuispina

Mit Hilfe der *matK*-Sequenzen konnten zwei Individuen des Taxons *C. tenuispina* als eigenständiges Cluster identifiziert werden. Morphologisch ist dieses Taxon triplostich, monözisch und besitzt lange und dünne Stacheln. In den Bestimmungsschlüsseln von Krause (1997) und Corillion (1957) wird *C. tenuispina* als eigenständige Art beschrieben. Wood und Imahori (1965) definieren dieses Taxon als Form der Varietät „*globularis*“, was durch die Daten dieser Analyse nicht bestätigt werden konnte. Phylogenetisch unterscheidet sich *C. tenuispina* von dem Cluster um *C. globularis* eindeutig. Allerdings ist die genaue Stellung im Stammbaum nur durch geringe Wahrscheinlichkeiten ($\leq 57\%$) unterstützt und kann allein durch die Analyse der *matK*-Sequenzen nicht endgültig geklärt werden.

4.1.1.2 Sektion *Desvauxia*

C. canescens

Die Sequenzen der fünf DNA Marker platzierten die beiden schwedischen Individuen des Taxons *C. canescens* phylogenetisch in ein Cluster mit Arten der Sektion *Chara*. Damit unterstützten diese Ergebnisse frühere phylogenetische Studien, welche auf morphologischen und biogeografischen Daten beruhten (Wood und Imahori 1965, Proctor 1980) und nach denen sich die Rindenzellen innerhalb der Gattung *Chara* ausgehend von einer diplostichen in eine haplo- oder triplostiche Berindung entwickelt haben.

Mit den Sequenzen des Markers *matK* bildeten 18 *C. canescens*-Individuen ein eigenständiges genetisches Cluster, welches durch maximale Bootstrap-Werte und Posteriori-Wahrscheinlichkeiten unterstützt wurde. Durch ihre haplostiche Berindung kann *C. canescens* in der Regel leicht von anderen Arten abgegrenzt werden und besitzt in den Bestimmungsschlüsseln, selbst bei Wood und Imahori (1965), Artstatus (Corillion 1957, Krause 1997). Diese Auffassung wird durch die genetischen Daten gestützt. Interessant dabei ist, dass ein Individuum aus Spitzbergen, welches an älteren Internodien

eine triplostiche Berindung aufwies und von Anders Langangen (pers. Komm. 2013) ebenfalls als *C. canescens* identifiziert wurde, identische Sequenzen mit 15 Proben aus Schweden, Deutschland und Spanien besaß. In früheren Arbeiten wurden solche Proben aus Spitzbergen als *C. aspera* f. *spitzbergensis* C.F.O. Nordstedt, 1921 (vergl. Langangen 1979) beschrieben, was Langangen (2000) aufgrund einer haplostichen Berindung zumindest an jungen Internodialzellen und den rein weiblichen Populationen in Frage stellte. Die genetischen Daten dieser Studie unterstützen Langangens Annahme, dass es sich trotz der triplostichen Berindung um *C. canescens* handelt.

Innerhalb des Clusters konnte die Probe eines Weibchens, welches aus einer diözischen Population aus Österreich stammte, mit Substitutionen an drei Positionen (0,36 %) von den übrigen Individuen aus sich parthenogenetisch fortpflanzenden Populationen getrennt werden. Zwar basierte dieses Ergebnis nur auf der Sequenz eines einzelnen Individuums und sollte durch weitere Analysen verifiziert werden, ist aber mit den Resultaten von Schaible et al. (2009) vergleichbar, welche ebenfalls genetische Unterschiede zwischen Populationen mit unterschiedlichen Reproduktionssystemen u. a. mit Hilfe von Mikrosatelliten-Markern und *rbcL*-Sequenzen (2 Substitutionen) nachweisen konnten.

Eine weitere genetische Variabilität in diesem Cluster stellt eine Probe vom Borkener See dar, bei der eine Substitution an einer Position (0,1 %) beobachtet werden konnte. Der Borkener See stellte, neben dem in Österreich beprobten Standort, den einzigen weiteren Binnensalzsee dar, der in dieser Studie untersucht wurde. Die übrigen Proben stammten neben Spitzbergen, entweder von der Ostsee- (DZBK, Schweden) oder der Mittelmeerküste (Spanien). Inwieweit sich die sich parthenogenetisch fortpflanzenden Individuen der Binnensalzseen von den Populationen der Küstenregionen unterscheiden, sollte in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden. Schaible et al. (2009) konnten mit Hilfe des Markers *rbcL* keine regionalen Unterschiede zwischen Proben der Ostsee- und Mittelmeerküste und Proben eines weiteren Binnensalzstandortes (Salziger See, Halle, Deutschland) feststellen. Da *matK* eine ca. 3 x so hohe Variabilität wie *rbcL* besitzt, liegen regionale oder auch ökophysiologische Unterschiede jedoch durchaus im Bereich des Möglichen.

4.1.1.3 Sektion Chara

Basierend auf den morphologischen Analysen von Wood und Imahori (1965) sind die Taxa der Sektion Chara monophyletisch und teilen sich in zwei Subsektionen: Chara und Hartmania. Schon die genetischen Analysen allein basierend auf den Sequenzen der 18S rRNA von Meiers et al. (1999) konnten diese Ansicht nicht bestätigen und trennten das Taxon *C. tomentosa* von den übrigen Taxa der Sektion, was mit den Daten dieser Studie bestätigt werden konnte. Die phylogenetischen Beziehungen der übrigen diplostichen Taxa wurden durch die Daten dieser Studie je nach verwendetem Datensatz jedoch unterschiedlich dargestellt. Der Stammbaum basierend auf den Sequenzen des Markers *matK* trennte, neben *C. tomentosa*, noch zwei weitere Cluster der Subsektion Chara (*C. vulgaris* und *C. contraria*, *C. filiformis* & *C. denundata*) von einem monophyletischen Hartmania-Cluster. Diese monophyletische Beziehung der Hartmania-Taxa konnte in der Stammbaumanalyse der fünf DNA-Marker jedoch nicht nachgewiesen werden. Darin standen sich zwei Cluster bestehend aus den Subsektionen Chara und Hartmania sowie Hartmania und Grovesia gegenüber. Das letztgenannte Cluster setzte sich dabei aus Taxa zusammen, die an Brackwasserbedingungen angepasst waren und damit war auch eine ökophysiologische Trennung im Stammbaum zu erkennen. Die Unterscheidung der Hartmania Taxa in zwei verschiedene Cluster beruhte in der Hauptsache auf den Sequenzen des nichtkodierenden Kernmarkers nrITS-1. Da auch diese hochvariablen Regionen des Kerngenoms in der Vergangenheit schon zur Klärung phylogenetischer Fragestellungen genutzt wurden (z. B. Marcilla et al. 2001), kann keinem der beiden Szenarien der Vorrang gegeben werden. Die Frage, ob die Sektion Hartmania einen monophyletischen oder paraphyletischen Ursprung besitzt, kann demnach nur mit weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.

C. tomentosa

Die meist kräftigen und starren, diözischen Pflanzen des Taxons *C. tomentosa* besitzen an den Quirlästen aufgeblähte Blättchen und sind morphologisch meist eindeutig zu erkennen. Sie besitzen in den Bestimmungsschlüsseln durchgängig Artstatus (Corillion 1957, Wood und Imahori 1965, Krause 1997) und konnten mit paarweisen prozentualen Distanzen von durchschnittlich 2,8 % für alle fünf Marker und 4 % für den Marker *matK* auch in dieser Studie einem eigenständigen genetischen Cluster zugeordnet werden. Die acht analysierten Proben wiesen identische Sequenzen des Markers *matK* auf und zeigten keinerlei intraspezifische Variabilität, was aber auch auf die geringe Pro-

benzahl zurückzuführen sein kann. In den genetischen Analysen von Meiers et al. (1999) konnte ein Schwesterngruppenverhältnis mit den Taxa der Subsektion *Wallmania* beobachtet werden und aufgrund von Ähnlichkeiten in der Pigmentierung der Taxa *C. tomentosa* und *C. hornemannii* (in geringerem Ausmaß auch bei *C. longifolia*) stellten sie die Vermutung auf, dass *C. tomentosa* zu der Subsektion *Wallmania* gehören könnte. Mit den Ergebnissen der *matK*-Sequenzen kann diese Vermutung widerlegt werden, da auch *C. longifolia* ein eigenes genetisches Clustern bildete. Die basale Stellung von *C. tomentosa* im Stammbaum sowie die Stellung von *C. longifolia* deuten dennoch darauf hin, dass sich die Pigmentierung einmal im Laufe der Evolution entwickelt haben könnte und bei den phylogenetisch folgenden Taxa der Gattung *Chara* verloren ging. Zur Klärung dieser Aussage könnten, wie bereits von Meiers et al. (1999) vorgeschlagen, Pigmentanalysen durchgeführt werden.

Subsektion *Chara*

C. vulgaris - Cluster

Die Sequenzen des Clusters *C. vulgaris* zeigten in allen Datensets eindeutige Unterschiede zu dem morphologisch sehr ähnlichem Taxon *C. contraria*. Zwischen beiden Clustern konnten innerhalb der Sequenzen des Markers *matK* Substitutionen an 23 Positionen (2,7 %) und für die Sequenzen aller fünf Marker an 94 Positionen (1,7 %) des Alignments beobachtet werden. Damit ließ sich ein *C. vulgaris*-Cluster (*aulacanth*) genetisch eindeutig von einem *C. contraria*-Cluster (*tylacanth*) trennen und unterstützte damit die traditionelle Unterscheidung beider Taxa (Corillion 1957, Krause 1997) sowie die Ergebnisse von Grant und Proctor (1972), welche in der Regel Kreuzungsbarrieren zwischen ihnen beobachten konnten.

Mit Hilfe des Markers *matK* bildeten 12 Individuen des Taxons *C. vulgaris*, welche in vier europäischen Ländern gesammelt wurden und identische Sequenzen aufwiesen, ein Cluster mit einem Individuum des Taxons *C. gymnophylla* aus Tunesien. Morphologisch unterschied sich dieses Individuum durch die komplett unberindeten Quirläste von den Proben des Taxons *C. vulgaris*. Ihr Habitus entsprach der kompakten, moosähnlichen Wuchsform der von Corillion (1977) in Tunesien beschriebenen *C. conimbrigensis* G. da C., 1935, welche z. B. von Wood und Imahori (1965) oder aber auch von Krause (1997) nicht als eigenständige Art, sondern als Form bzw. Variation von *C. gymnophylla* betrachtet wurde. Bis auf eine Insertion von sechs Nukleotiden an Position 489 des Alignments, waren die Sequenzen beider Taxa vollständig identisch, wobei

es sich bei der Insertion vermutlich um eine Duplikation der vorangegangenen sechs Nukleotide handelte (TAA AAA) und der Leserahmen damit erhalten blieb:

```

                                479      489      499      509
                                .....|.....|.....|.....|.....|.....|
C. vulgaris                  TATTTTGCTTAATATAAAAA-----GAAACAGAAACGTCTTCC
C. gymnophylla             TATTTTGCTTAATATAAAAATAAAAAGAAACAGAAACGTCTTCC

```

Insertionen oder Deletionen sind in der ursprünglichen Sequenz eines Organismus nicht vorhanden, sondern resultieren erst aus der Untereinanderstellung der homologen Positionen verschiedener Sequenzen in einem Alignment. Inwieweit Insertionen oder Deletionen in phylogenetischen Analysen genutzt werden sollen, wird in der Literatur seit längerem diskutiert (Bsp.: Lloyd und Calder 1991, Simmons und Ochoterena 2000, Shi und Zhu 2007, Nagy et al. 2012). Einigkeit herrscht aber im Allgemeinen, dass eine zusammenhängende Insertion als ein einziges evolutionäres Ereignis bewertet werden sollte (Simmons und Ochoterena 2000, Nagy et al. 2012). In diesem Fall würde das bedeuten, dass sich beide Taxa nicht in sechs, sondern nur in einer Position unterscheiden, was einem Unterschied von ca. 0,1 % entspräche und damit eher den Werten der bisher beobachteten intraspezifischen Variabilität. Das entspricht den Beobachtungen von Corillion (1957), der bei in Kultur wachsenden Individuen beider Taxa Exemplare sowohl mit berindeten als auch mit unberindeten Quirlästen erzeugen konnte und sie zusammen mit dem Taxon *C. rabenhorstii* (A. Br. in Rab. 1850, teilberindete Quirläste) in der Art *C. vulgaris* zusammenfasste. Im Gegensatz dazu schlugen Kreuzungsexperimente von Grant und Proctor (1972) zwischen *C. vulgaris* mit berindeten Quirlästen und *C. gymnophylla* (\approx *C. squamosa* Desf. 1800) in den meisten Fällen fehl und die Berindung der Quirläste blieb unter Kulturbedingungen mit wenigen Ausnahmen konstant. Die genetischen Ergebnisse dieser Studie basieren im Fall von *C. gymnophylla* nur auf einem einzigen Exemplar, unterstützen damit aber die Ansicht von Corillion (1957) und Wood und Imahori (1965), die *C. gymnophylla* nicht als eigenständige Art betrachteten. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Frage nach dem Artstatus dieses Taxons beantworten zu können.

C. contraria - Cluster

In allen analysierten Datensets setzte sich dieses Cluster aus mehr als einer morphologischen Einheit zusammen. Basierend auf den Sequenzen der fünf Marker waren die Taxa *C. contraria* & *C. filiformis* in allen 5573 Positionen identisch. Dieses Bild wurde mit Hilfe des größeren Probenspektrums des Markers *matK* noch erweitert. Darin bildete zusätzlich *C. denudata* mit den beiden oben genannten Taxa ein genetisches Cluster. Wobei innerhalb dieses Clusters 21 Proben von *C. contraria* aus Schweden, England, Deutschland und Frankreich, fünf als *C. denudata* bestimmte Individuen vom Bodensee auf deutscher und österreichischer Seite und fünf *C. filiformis* aus Schweden und Deutschland vollständig identische *matK*-Sequenzen zeigten. Morphologisch entsprachen die meisten Individuen von *C. contraria* dem nach Krause (1997) beschriebenen typischen Habitus mit einer diplostichen und tylacanthen Berindung der Internodialzellen, vollständig berindeten Quirlästen und kurzen Stacheln. Zusätzlich dazu wiesen vier der Individuen eine sehr starke Bestachelung auf, welche bei Krause (1997) als *C. contraria* var. *hispidula* beschrieben wurden. Die *C. filiformis*-Proben entsprachen dem typischen Habitus aus den Bestimmungsschlüsseln (Krause 1997, Corillion 1957) mit verlängerten Internodialzellen und extrem kurzen Quirlästen, bei denen nur das erste Glied eine Berindung und Gametangien aufwies. Die Proben von *C. denudata* zeigten eine unvollständige Berindung und wurden sowohl im Flachwasser als auch in Tiefen von >7 m gesammelt. Innerhalb dieses Clusters konnte eine geringe genetische Diversität von 0,2 % beobachtet werden, was Substitutionen an ein oder zwei Positionen entsprach. Dabei bildeten drei teilberindete Formen von *C. contraria* aus Deutschland, eine dem typischen Habitus von *C. contraria* entsprechenden Probe aus England (NS14) und ein als *C. denudata* eingeordnetes Individuum aus Irland (KW04) eigenständige Verzweigungen, welche basierend auf den geringen genetischen Distanzen als intraspezifisch betrachtet werden können.

Der Artstatus dieser drei Taxa wurde in der Literatur bereits wiederholt diskutiert: Krause (1997) definierte alle drei als eigenständige Entitäten. Verwies aber sowohl bei *C. filiformis*, dessen Morphologie er als wenig veränderlich beschrieb, als auch bei *C. denudata* auf die enge Verwandtschaft zu *C. contraria*. Groves und Bullock-Webster (1924) beschrieben *C. filiformis* als eine "seltsame, kleine" Form von *C. contraria*, die hauptsächlich in großen Wassertiefen zu finden ist und entweder als Unterart, Varietät oder Form von dieser betrachtet werden sollte. Dahingegen führten sie *C. denudata* als eigenständige Art. Wood und Imahori (1965) ordneten alle drei Taxa unterschiedlichen

Varietäten der Makroart “*C. vulgaris*” zu, was mit den Ergebnissen dieser Studie nicht unterstützt werden kann. Die mit Hilfe des Markers *matK* dargestellte Gruppierung entspricht am ehesten den Beobachtungen von Corillion (1957), der aufgrund von Wachstumsexperimenten zu dem Schluss kam, dass zwischen *C. contraria*, *C. filiformis* & *C. denudata* eine enge Beziehung besteht und fasste sie in nur einer Art zusammen. Er postulierte, dass Individuen der Art *C. contraria* eine große Variabilität in dem Grad der Berindung, der Stachelform und -länge und der Quirlastlänge aufweisen, was sich in den Individuen des genetischen Clusters um *C. contraria* widerspiegelt. Für *C. filiformis* als Tiefenwasserform von *C. contraria* spricht das Vorkommen in tieferen Wasserschichten z. B. des Krüselinsees mit einem gleichzeitigen Vorkommen von *C. contraria* in ca. 2 m Wassertiefe (pers. Beobachtungen). Wird *C. filiformis* im Flachwasser gefunden, dann häufig zwischen anderen Arten, was mit einer Beschattung und dann wieder mit schlechteren Lichtbedingungen einhergeht. Dagegen spricht allerdings das Vorkommen im Kölpinsee, in dem *C. filiformis* in dichten Matten in ca. 2 m Wassertiefe zu finden ist (pers. Beobachtungen, Chara-Deutschland in Brandenburg, 2015) oder auch das im Borkener See, in dem *C. filiformis* zwischen 2-4 m, *C. contraria* dagegen bis 10 m beobachtet werden kann (persönliche Kommunikation mit Egbert Kohrte). Wachstumsexperimente mit unterschiedlichen Lichtbedingungen konnten zwar Variationen der Quirlast- und Internodienlängen festhalten (Stravinskis 2014), jedoch wurden mit abnehmender Lichtmenge die Internodialzellen kürzer und die Quirläste länger und weit aufgefächerter. Die genetischen Ergebnisse dieser Studie unterstützen die Ansicht von Corillion (1957), jedoch lassen sowohl die Beobachtungen im Feld als auch die Wachstumsversuche Raum für Zweifel. Daher sollten mit Individuen dieses Cluster weitere genetische und physiologische Analysen durchgeführt werden.

Subsektion Hartmania

C. hispida - Cluster

Mit Hilfe der fünf genetischen Marker konnten die diplostichen Individuen der Subsektion Hartmania mit Substitutionen an 41 (0,85 %), bzw. 46 (0,87 %) Positionen in zwei Cluster aufgetrennt werden. Das erste fasste Individuen zusammen, die ausschließlich in Brackwasserhabitaten wuchsen: *C. baltica*, *C. liljebladii* und *C. horrida*. Im zweiten Cluster gruppierten sich Taxa, die im Süßwasser gesammelt wurden, aber auch in begrenztem Maße im Brackwasser vorkommen können: *C. intermedia*, *C. rudis* und *C. hispida*. Die Sequenzen deuteten ebenfalls auf eine enge Beziehung zwischen den

Taxa, was mit früheren Ergebnissen von Mannschreck (2003) oder Schneider et al. (2015b) übereinstimmte. Die Trennung der Brackwasser- von den Süßwasser-Taxa geht einher mit den AFLP-Analysen von Boegle et al. (2007, 2010a), in denen Brackwasser-*C. baltica* und Süßwasser-*C. intermedia* analysiert und unterschiedlichen Gruppen zugeordnet werden konnten. Die intermediäre Population der Inlandbrackwasserseen (Boegle et al. 2010b) wurde in Schweden nicht gefunden, wodurch eine Aussage über ihre Stellung in diesem System nicht getroffen werden konnte. Die Taxa *C. baltica* und *C. liljebladii* unterscheiden sich morphologisch hauptsächlich in der Länge ihrer Internodialzellen und Quirläste (Wood und Imahori 1965, siehe Abschnitte zur morphologische Plastizität). Sie werden dementsprechend von den meisten Autoren als Standortanpassungen an einen Tiefengradienten angesehen (Migula 1898, Krause 1997: *C. baltica* f. *elongata*, Wood und Imahori 1965: *C. hispida* var. *baltica* f. *liljebladii*), was hier durch identische Sequenzen aller fünf Marker unterstützt werden konnte. Das sehr ähnliche Taxon *C. horrida* unterscheidet sich morphologisch von den beiden eben beschriebenen Taxa durch zwei stark verdichtete Stipularkränze (Krause 1979). Mit Hilfe der genetischen Untersuchungen konnte *C. horrida* durch eine Substitution und zwei Insertionen innerhalb der nrITS-1 Sequenz von *C. baltica* & *C. liljebladii* getrennt werden und widerspricht damit den Ergebnissen von Boegle et al. (2010a), die die drei Taxa mit Hilfe von AFLP-Analysen nicht trennen konnten. Allerdings sind die Unterschiede mit 0,05 % sehr gering. Die Auffassung von Wood und Imahori (1965) die diese Taxa als Formen der Varietät „*baltica*“ betrachteten, kann angesichts dieser geringen Unterschiede als Alternative innerhalb des Ermessensspielraums weiterhin akzeptiert werden. Die Auffassung von Corillion (1957) dagegen, welcher *C. horrida* als Subspezies von *C. hispida* einordnete, kann mit den hier vorliegenden genetischen Daten nicht unterstützt werden.

Innerhalb des zweiten Clusters wiesen die Taxa *C. rudis* (aulacanth) und *C. hispida* (isostich, bis leicht aulacanth) identische Sequenzen für die 5573 Basenpaare auf und konnten von den Individuen des Taxons *C. intermedia* (Süßwasser, tylacanth) durch Substitutionen an zwei Positionen in der *matK*- und an einer Position in der nrITS-1-Sequenz getrennt werden. Das geht einher mit den AFLP-Analysen von Mannschreck (2003) oder auch Urbaniak und Combik (2013), bei denen *C. hispida* von einem *C. baltica* & *C. intermedia*-Cluster getrennt werden konnte. Zusätzlich bildeten bei Urbaniak und Combik (2013) die Taxa *C. hispida*, *C. rudis* & *C. polyacantha* ein Kontinuum, was zumindest für die ersten beiden Taxa für die hier erzielten genetischen Daten

ebenfalls zutraf. Die morphologischen Bestimmungsschlüssel zeichneten für diese Taxa sehr unterschiedliche Bilder: Corillion (1957) fasste *C. hispida* und *C. rudis* (zusammen mit *C. horrida*) als Unterarten zu *C. hispida* zusammen und trennte diese aufgrund der aulacanthen Berindung von *C. intermedia*, welche er mit *C. polyacantha* zu *C. aculeolata* zusammenfasste. Krause (1997) definierte alle drei als eigenständige Entitäten, wobei *C. intermedia* (einschließlich *C. aculeolata* von Kützing in Reichenbach 1832) ebenfalls von *C. polyacantha* unterschieden wurde. Wood und Imahori (1965) führten *C. intermedia* und *C. rudis* als Formen der Varietät „major“ und *C. hispida* als Form der Varietät „hispida“ zusammen. Allen Autoren war gemein, dass die Taxa sehr nah miteinander verwandt sind, aber keines der hier beschriebenen morphologischen Szenarien konnte durch die genetischen Ergebnisse unterstützt werden. Zur Klärung der taxonomischen und phylogenetischen Fragestellungen innerhalb dieser Gruppe sind weiterführende Untersuchungen notwendig.

Die eben beschriebene Trennung der beiden Cluster beruhte auf den Unterschieden in den Sequenzen der Kernmarker und konnte mit den Sequenzen des Chloroplastenmarkers nicht erreicht werden. Mit Hilfe der *matK*-Sequenzen bildeten insgesamt 74 Proben, die acht unterschiedlichen morphologischen Taxa (*C. baltica*, *C. hispida*, *C. horrida*, *C. intermedia*, *C. liljebladii*, *C. papillosa*, *C. polyacantha*, *C. rudis*) zugeordnet werden konnten und in zehn verschiedenen Ländern gesammelt wurden, ein gemeinsames Cluster mit geringer genetischer Variabilität zwischen 0,1 und 0,4 %, was Substitutionen an ein bis drei Positionen entsprach. Diese Variation konnte nicht mit morphologischen Artgrenzen oder ihrer geographischen Verbreitung in Verbindung gebracht werden. So reichten die morphologischen Variationen von kurzen bis langen Stacheln, Stipularen und Blättchen; über einzelne oder gebündelte Stacheln bis hin zu einer Berindung, die sowohl isostich als auch aula- oder tylacanth ausgebildet sein konnte. Merkmale, die alle Individuen dieses Clusters gemeinsam hatten, waren die diplostiche Berindung, die monözische Fortpflanzungsweise und einen eher kräftigen Wuchs (Durchmesser der Internodialzelle >0,9 mm). Damit unterstützen die Ergebnisse dieses Markers das Markroarten Konzept von Wood und Imahori (1965), die allen Taxa dieses Clusters den Artstatus absprachen und sie zu der Makroart „*C. hispida*“ zusammenfassten.

Inwieweit die genetische Variabilität des *C. hispida*-Clusters möglicherweise durch ökologische Parameter erklärt werden könnte, kann für den hier verwendeten Datensatz nur vermutet werden, da eine Bestimmung zumindest des Salzgehaltes bzw. Leitfähigkeit oder gar der Ionenzusammensetzung nur teilweise durchgeführt wurde. Auffällig

war allerdings, dass das Cluster, welches sich aus 12 morphologisch eindeutigen Proben des Taxons *C. intermedia* zusammensetzte und durch Substitutionen an zwei Positionen von der Hauptgruppe (47 Proben mit identischen Sequenzen) unterschieden werden konnte, zu 75 % im Süßwasser gesammelt wurde. Da der Salzgehalt der restlichen drei Proben nicht bestimmt wurde, kann die Durchgängigkeit dieses ökologischen Merkmals nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen werden. Eine weitere Probe von *C. intermedia*, die an einer Binnensalzstelle gesammelt wurde und in der Probenliste als *C. papillosa* geführt wird, konnte von diesen durch Substitutionen an drei Positionen unterschieden werden und bildete mit zwei weiteren *C. intermedia* aus England und Frankreich und zehn als *C. hispida* bestimmte Individuen ein weiteres Cluster. Drei Proben, die zwar morphologisch als *C. intermedia* eingeordnet wurden, aber deren Berindung z. T. mehr isostich als tylacanth ausfiel, gruppieren in dem Hauptcluster der Hartmania-Gruppe. Zusammenfassend kann für die Taxa der Hartmania-Gruppe festgehalten werden, dass eine enge Verwandtschaft zwischen ihnen besteht, aber die Unterscheidung von zwei Gruppen: *C. baltica*, *C. liljebladii* & *C. horrida* und *C. intermedia*, *C. rudis* & *C. hispida* sowohl durch die Ergebnisse der nuklearen Marker dieser Studie als durch AFLP-Analysen (Mannschreck 2003, Urbaniak und Combik 2013) unterstützt wird. Inwieweit auch ein Cluster um *C. intermedia* unterschieden oder *C. polyacantha* in diese Gruppierungen eingeordnet werden kann, sollte in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden, bei denen die hydrochemischen Parameter der beprobten Standorte ebenfalls mit aufgenommen werden sollten.

4.1.1.4 Subsektion *Braunia*

C. baueri

Das Taxon *C. baueri* zeichnet sich morphologisch durch einen einreihigen Stipularkranz, komplett unberindete Quirläste und eine (diplo-) triplostiche Berindung der Internodialzellen aus (Wood und Imahori 1965). Wood und Imahori (1965) waren sich bei der phylogenetischen Zuordnung der Subsektion *Braunia* nicht sicher und positionierten diese daher mit Fragezeichen zwischen die Sektionen *Agardhia* und *Charopsis*. In der Literatur besitzt dieses Taxon durchweg Artstatus (Corillion 1957, Krause 1997, Wood und Imahori 1965), was durch die Ergebnisse dieser Studie bestätigt werden konnte. Die Probe aus Deutschland zeigte Substitutionen an durchschnittlich 79 Positionen (9,4 %) zu den übrigen Taxa der Gattung *Chara* und bildete in der phylogenetischen Analyse

ein eigenständiges Cluster, welches sich allerdings nur durch geringe Bootstrap-Werte (≤ 63) von *Lamprothamnium* abgrenzen ließ. *Chara baueri* galt lange Zeit als in Mitteleuropa ausgestorben und wurde erst in jüngster Vergangenheit an wenigen Standorten in Deutschland und Polen wieder entdeckt (Raabe 2009, Pukacz et al. 2012). Die Daten dieser Studie unterstützen die Meinung von Wood und Imahori (1965) nach denen sich *C. baueri* phylogenetisch von den anderen Taxa der Gattung *Chara* abgrenzt. Inwieweit *C. baueri* mit der komplett unberindeten *C. braunii* verwandt ist (Krause 1997), kann mit Hilfe der *matK*-Sequenzen nicht geklärt werden, da keine Vergleichsproben für letztere zur Verfügung standen. Allerdings konnten *rbcL*-Sequenzen von *C. baueri*-Individuen zusammen mit GenBank-Sequenzen von *C. braunii* phylogenetisch ausgewertet werden. Dabei konnten für die 1008 Basenpaare Substitutionen an einer Position nachgewiesen werden, was die Annahme von Krause (1997) bestätigt, beiden den Artstatus zuzusprechen. Gleichzeitig muss aber darauf hingewiesen werden, dass die *C. braunii*-Proben der Genbank durchweg in Japan oder Neuseeland gesammelt worden sind. Inwieweit die geografische Entfernung einen Einfluss auf die genetische Variation innerhalb der *rbcL*-Sequenz hat, konnte mit den Daten dieser Studie nicht überprüft werden und erfordert weitere Untersuchungen.

4.1.1.5 Gattung *Lamprothamnium*

Lamprothamnium papulosum

Die Proben des Taxons *L. papulosum* bildeten zusammen mit der GenBank-Sequenz von *L. macropogon* ein gemeinsames und mit maximalen Wahrscheinlichkeiten unterstütztes Cluster. *Lamprothamnium macropogon* wird von Wood und Imahori (1965) nicht als eigenständige Art angesehen, sondern als australische Form der Varietät „*papulosum*“ geführt. Die Ergebnisse dieser Studie deuteten mit Substitutionen an 7 Positionen (0,84 %) auf eine Trennung beider Taxa hin. Damit werden die Ansichten von van Raam (1995) und Garcia (1999) unterstützt, die *L. macropogon* aufgrund der beschränkten morphologischen Plastizität als eigenständige Art betrachteten.

Die Gattung *Lamprothamnium* gruppierte innerhalb der Cluster der Gattung *Chara*, wobei die Verzweigung in den Stammbäumen nur mit geringen Wahrscheinlichkeiten unterstützt wurde. Allerdings deuteten die prozentualen Unterschiede innerhalb der *matK*-Sequenzen auf eine engere Beziehung von *Lamprothamnium* zu den übrigen Taxa der Gattung *Chara* als mit *C. baueri* hin. Damit stützte dieses Ergebnis frühere geneti-

sche Untersuchungen von Meiers et al. (1999: 18Sr RNA), Mannschreck (2003: AFLP) und Pérez et al. (2014: *atpB*, *psbC*, *rbcL*) sowie Überlegungen von Wood und Imahori (1965), dass die Stellung dieser Gattung noch nicht eindeutig geklärt ist. Wood und Imahori (1965) stellten aufgrund von morphologischen Gemeinsamkeiten die These auf, dass die Gattung *Lamprothamnium* sich aus den unberindeten Arten der Subsektion Charopsis entwickelt haben könnte und daher als weitere Subsektion der Gattung *Chara* und nicht als eigenständige Gattung betrachtet werden sollte. Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen diese Annahme erfordern jedoch weitere Analysen.

4.1.2 Genetische Analyse - Gattung *Nitella*

Die Gattung *Nitella* ist phylogenetisch eine der ältesten Gruppen innerhalb der Characeen (Karol 2004) und besteht weltweit aus 204 Mikroarten, die von Wood und Imahori (1965) zu 53 Makroarten zusammengefasst wurden. In den letzten Jahren konnten jedoch verschiedenste Arbeiten zur Morphologie der Pflanzen und deren Oosporen sowie genetische Analysen durchweg eine weit größere Variabilität nachweisen als von Wood und Imahori (1965) prognostiziert wurde (z. B. Karol 2004, Sakayama 2008). Die in dieser Studie untersuchten Arten wurden eigenständigen genetischen Clustern zugeordnet, die, bis auf eine Ausnahme, mit den Analysen von Karol (2004) übereinstimmten, der bereits sechs der hier untersuchten sieben Taxa der Gattung *Nitella* analysierte. Da jedoch keine Sequenzen dieser Arbeit in der GenBank positioniert wurden, konnte ein direkter Vergleich mit dessen Proben nicht durchgeführt werden.

4.1.2.1 Subgenus *Nitella*

Nitella flexilis und *Nitella opaca*

Genetisch bildeten die Proben der Taxa *N. flexilis* und *N. opaca* ein durch maximale Wahrscheinlichkeiten unterstütztes monophyletisches Cluster, wobei sie sich durchschnittlich mit Substitutionen an 80 Positionen (8 %) von den übrigen Taxa des Subgenus *Tieffallenia* unterschieden, was in den Ergebnissen der Stammbaumanalysen von Karol (2004) und Sakayama et al. (2004b) ebenfalls beobachtet werden konnte. Da Wood und Imahori (1965) die Form der Häusigkeit nicht als diagnostisches Merkmal zur Artunterscheidung ansahen, betrachteten sie beide Taxa als unterschiedliche Formen der Makroart „*N. flexilis*“, eine Ansicht, die basierend auf Untersuchungen der Chromo-

somenzahlen (Sawa 1965: *N. flexilis* n=12, *N. opaca* n=6) oder auch durch *rbcL* Sequenzen (Karol 2004) widerlegt werden konnte. Auch in dieser Studie unterschieden sich beide Taxa durch Substitutionen an durchschnittlich 14 Positionen (1,4 %), was damit gleichfalls die Bestimmungsschlüssel von Corillion (1957) und Krause (1997) unterstützte, die beide Taxa als eigenständige Arten identifizierten.

In dieser Studie war die große intraspezifische Variabilität innerhalb der diözischen Art *N. opaca* besonders auffällig. Die Proben dieses Taxons wurden in vier verschiedenen Ländern gesammelt und wiesen maximale p-Distanzen von 0,4 % auf, wobei in jedem Land ein eigenständiger Haplotyp gefunden werden konnte. Im Gegensatz dazu zeigte die hier analysierte Probe von *N. flexilis* aus Deutschland mit einer Substitution an einer Position sehr geringe genetische Unterschiede zu zwei Genbank-Sequenzen aus Japan. Karol (2004) untersuchte in seiner Arbeit 11 verschiedene Proben dieses Taxons aus Deutschland, Japan²⁵ und den USA und konnte trotz der großen geografischen Breite keine genetischen Unterschiede feststellen. Damit entsprachen beide Taxa den Untersuchungen in anderen Algengruppen, bei denen eine diözische Vermehrung zu erhöhter genetischer Diversität führte (Lu und Williams 1994, Dorken und Barrett 2004, Perrin et al. 2007). Inwieweit diese Ergebnisse bei Erhöhung des Probevolumens bestehen bleiben, kann nur in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.

4.1.2.2 Subgenus Tieffallenia

Wie auch in den Arbeiten von Karol (2004) oder Sakyama et al. (2004) bildeten die Sektionen des Subgenus Tieffallenia keine monophyletischen Gruppen, sondern wurden unterschiedlichen Clustern zugeordnet. Die Sequenzen von drei schwedischen *N. confervacea* bildeten dabei ein moderat unterstütztes monophyletisches Cluster mit neun in Polen, Deutschland und Schweden gesammelten *N. mucronata* sowie sieben Individuen des Taxons *N. gracilis* aus Deutschland und Schweden. Wood und Imahori betrachteten *N. confervacea* als Form von *N. gracilis*, wobei die Ergebnisse der *rbcL*-Sequenzen mit Substitutionen an 25 und 26 Positionen (2,5 %) die Ansicht von Corillion (1957) und Krause (1996) unterstützten, diese als eigenständige Arten zu betrachten. Auch Karol (2004) konnte eigenständige Cluster für je zwei Populationen von *N. mucronata* und *N. confervacea* beobachten, jedoch gruppierten letztere in einem Cluster mit *N. tenuissima* und *N. hyalina*. Diese beiden Taxa bildeten auch in dieser

²⁵ Zwei der japanischen Proben entsprechen den GenBank-Sequenzen in dieser Studie.

Studie ein durch hohe Bootstrap-Werte (≥ 96) und maximale Posteriori-Wahrscheinlichkeiten unterstütztes Cluster, wodurch eine fehlerhafte Stellung der untersuchten *N. confervacea* aufgrund unterschiedlicher Analysemethoden ausgeschlossen werden kann. Eine korrekte morphologische Bestimmung der Proben in beiden Arbeiten vorausgesetzt, könnte das Taxon *N. confervacea* in zwei unterschiedlichen genetischen Formen vorkommen, was nur in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden kann.

4.1.3 Genetische Variabilität

Die in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Cluster der Gattungen *Chara* und *Nitella* basierten auf den genetischen Unterschieden oder anders ausgedrückt, der abgestuften Ähnlichkeit der untersuchten genetischen Marker. Diese wird als ein Ausdruck der Verwandtschaft der analysierten Taxa interpretiert und stellt damit die Basis der hier angewendeten genetischen Methoden dar. Dabei stellt sich auch bei molekularbiologischen Analysen immer wieder die Frage, wie groß der genetische Unterschied sein sollten, damit Arten voneinander getrennt werden sollten. Innerhalb der Gruppe der Prokaryoten kamen Stackebrandt und Goebel (1994) zu dem Ergebnis, dass Stämme mit einer Ähnlichkeit $> 96\%$ ²⁶ (16S rRNA) zu einer Art gehörten, wobei sich schnell herausstellte, dass diverse Ausnahmen zu dieser Regel existierten (Palinska und Surosz 2014). Aktuell werden phänotypische, genotypische und ökologische Eigenschaften genutzt, um innerhalb der Prokaryoten Ökotypen voneinander abzugrenzen (Cohan 2002, Godreuil et al. 2005). Auch die taxonomische Differenzierung mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden innerhalb der Eukaryoten wurde in den letzten Jahren in zahlreichen Arbeiten diskutiert, wobei sich die Identifikation eines geeigneten Markers in der Zoologie als vergleichsweise einfach herausstellte. Der mitochondriale Marker *CO1* ist leicht zu sequenzieren und besitzt eine optimale Substitutionsrate, bei der Arten voneinander zu unterscheiden sind, aber noch genügend Ähnlichkeiten zu anderen Gruppen bestehen, um diese zu vergleichen (Floyd et al. 2002, Hebert et al. 2003). Die Suche nach einem vergleichbaren Marker für die Pflanzenwelt stellte sich als wesentlich schwieriger heraus, wobei aktuell zumeist Kombinationen verschiedener Marker empfohlen werden (Fazekas et al. 2008, Hollingsworth et al. 2011). Da die Variabilität die-

²⁶ Entsprechen einer DNA-DNA-Hybridisierung $> 70\%$, welche zur Artunterscheidung genutzt wurde (Stackebrandt und Goebel 1994).

ser Marker oder Markerkombinationen in den untersuchten Taxa sehr unterschiedlich ausfallen kann, kommt auch hier eine „3 %-Regel“ zur Trennung von Arten nicht in Frage. Vielmehr wird die Qualität des Markers überprüft, indem die untersuchten Taxa nach traditionellen Methoden bestimmt und daraufhin die erhaltenen Cluster miteinander verglichen werden (z. B. Hollingsworth et al. 2009).

Dieser Ansatz wurde auch in dieser Studie angewendet. Die für die Gattung *Chara* getesteten Marker zeigten durchaus Unterschiede im Grad ihrer Variation (siehe Tabelle 4), wobei die erhaltenen Verhältnisse mit Werten aus der Literatur vergleichbar waren und z. B. die Sequenzen kodierter Gene eine geringere genetische Variabilität als die von nicht-kodierten Regionen aufwiesen (Gielly und Taberlet 1994, Shaw et al. 2005, Hollingsworth et al. 2011). Für den cp-Marker *matK* konnten Sanders et al. (2003) innerhalb der Familie der Characeae eine genetische Variabilität von 31 % aufzeigen. Damit war diese ungefähr dreimal höher als die des proteinkodierenden Gens *rbcL* mit einer Variabilität von 10 %; was den Verhältnissen der vorliegenden Arbeit entspricht. Die genetische Variabilität für das Gen *rbcL* erwies sich für die analysierten Taxa der Gattung *Chara* mit einer durchschnittlichen p-Distanz von 1,1 % als vergleichsweise gering, wobei nur 65 % der morphologischen Taxa in den genetischen Clustern wiedergefunden werden konnten. Damit entsprachen die *rbcL*-Sequenzen durchaus den Ergebnissen der Literatur, bei denen diese Region sehr einfach amplifiziert, sequenziert und über verschiedene Pflanzengruppen aligniert werden kann, aber nur eingeschränkt Arten genetisch voneinander zu unterscheiden vermag (Hollingsworth et al. 2011 und darin enthaltene Literatur). Die „Plant Working Group“ des „Consortium for the Barcode of life“ (CBOL) empfahl daher 2009 den sehr konservativen cp-Marker *rbcL* mit dem hochvariablen *matK* zu kombinieren und für taxonomische Analysen zu verwenden (Hollingsworth et al. 2011). Auch in dieser Studie konnte mit Hilfe des Markers *matK* zwar eine größere genetische Variabilität (p-Dist. \bar{x} =3,1 %) gezeigt, jedoch lediglich ein zusätzlicher Haplotyp identifiziert werden. Eine Vergrößerung des Probenahmeradius zeigte eine weitere Erhöhung der genetischen p-Distanzen auf durchschnittlich 3,5 %, jedoch konnte auch damit kein zusätzliches Cluster identifiziert werden und die Rarefaction-Analysen deuteten daraufhin, dass mit einer erneuten Erweiterung der Probenahme nur noch geringfügig zusätzliche Haplotypen zu vermuten sind. Auch in der Literatur konnte der Marker *matK* in den getesteten Pflanzengruppen durchschnittlich nur etwa 70 % der untersuchten morphologischen Taxa voneinander unterscheiden (Hollingsworth et al. 2011). Daher ist die Nutzung weiterer, vor allem nicht-kodierter Berei-

che weit verbreitet. Die in dieser Studie verwendeten Kernmarker 18S rRNA und nrITS-1 konnten dabei zusätzliche Informationen liefern. Und auch wenn die genetische Variabilität der 18S rRNA die geringste aller getesteten Regionen war, konnten doch vergleichbare Ergebnisse zwischen den Kernregionen beobachtet werden²⁷. Der Marker nrITS-1 wurde in der Vergangenheit wiederholt erfolgreich für taxonomische Untersuchungen im Pflanzenreich angewendet (Alvarez und Wendel 2003, Stoeckle 2003) und zeigte auch für die Gattung *Chara* die größte Variabilität. Jedoch wurde die Anwendbarkeit dieser Region für phylogenetische Analysen auch immer wieder kontrovers diskutiert (Alvarez und Wendel 2003). In dieser Studie ließ sich nrITS-1, wie auch die übrigen Marker, sehr leicht in einer PCR amplifizieren. Die Sequenzierreaktion erwies sich jedoch aufgrund repetitiver Bereiche als methodisch schwierig, was für die nrITS-Regionen auch schon für andere Pflanzengruppen beschrieben wurde (Kress et al. 2009, Hollingsworth et al. 2011). Neben diesen methodischen Schwierigkeiten stellte, auch wenn es zunächst widersprüchlich klingt, die große genetische Variabilität eine Herausforderung dar. Innerhalb der Gattung *Nitella* umfasst die nrITS-1 Sequenz ungefähr 300 bp (Sakayama et al. 2004a). Bei *Chara* hat sich diese Zahl verdreifacht, was die Verwendung einer Außengruppe innerhalb der phylogenetischen Analysen erschwerte bis unmöglich machte und damit das Erkennen von homoplastischen Substitutionen (siehe Box – Homoplasie). Damit konnte für die Daten dieser Studie z. B. nicht sicher belegt werden, ob das beobachtete Indel von ~160 bp ein autapomorphes oder doch ein homoplastisches Merkmal darstellte, was die Interpretation der erhaltenen Stammbäume erschwerte. Im Gegensatz dazu zeigten die Analysen der 18S rRNA einen Homoplasiewert von null²⁸, wodurch die Rekonstruktion der phylogenetischen Beziehungen als sehr wahrscheinlich interpretiert werden kann. Um die Evolution der Taxa der Subsektionen *Chara* und *Hartmania* im Einzelnen zu klären, sind weiterführende Untersuchungen anderer Kernregionen erforderlich und können allein auf den Unterschieden der analysierten nrITS-1-Sequenzen nicht sicher geklärt werden.

²⁷ Vergleiche Diskussion zur Trennung von *C. baltica* und *C. horrida* von *C. hispida*, *C. rudis* und *C. intermedia*.

²⁸ Dieser Wert wurde mit Sicherheit auch aufgrund des kleinen Datensatzes erzielt, aber auch in der Literatur zählen die Homoplasie-Indizes der 18S rRNA stets zu den geringsten.

BOX – HOMOPLASIE-INDIZES

Vergleich der Indizes der untersuchten Marker und Datensätze, die bei der Maximum Parsimonie Analyse zur Beschreibung der im Datensatz vorhandenen Homoplasien genutzt werden können.

		CI	RI	RC	HI
<i>Chara</i> -Schweden	<i>rbcL</i>	0,88	0,90	0,79	0,12
	<i>atpB</i>	0,80	0,89	0,71	0,20
	<i>matK</i>	0,88	0,91	0,80	0,12
	18S rRNA	1,00	1,00	1,00	0,00
	nrITS-1	0,68	0,70	0,47	0,32
<i>Chara</i> -Europa	<i>matK</i>	0,74	0,87	0,64	0,26

Homoplasie = der gleiche Merkmalszustand hat sich unabhängig voneinander in zwei Linien entwickelt und ist daher nicht geeignet, Verwandtschaftsverhältnisse zu rekonstruieren. Überbegriff für: Analogie, Konvergenz, Parallelismen und Rückmutationen (*reversals*).

ABER: Die Höhe der Indizes hängt maßgeblich vom Probenumfang ab!

CI consistency index = m/s

Merkmale ohne Homoplasie haben CI = 1, untere Grenze $\neq 0$.

RI retention index = $(g - s)/(g - m)$

Datensatz umso genauer von der Topologie beschrieben, je näher der Wert bei 1 liegt.

RC rescaled consistency-index = CI * RI

Bildet das Verhältnis von scheinbarer zu tatsächlicher Synapomorphie.

HI homoplasy index = $1 - CI$

Führt zu einer Reduzierung nicht-informativer Merkmale (Autapomorphien) und verbessert die Vergleichbarkeit unterschiedlicher Analysen mit einer verschiedenen Anzahl von Merkmalen.

m = die kleinste der theoretisch möglichen Schrittzahl, die das Merkmal auf einem Baum zeigen könnte

s = Anzahl an tatsächlichen Schritten, die ein Merkmal auf einem gegebenen Baum zeigt

g = die größtmögliche Schrittzahl eines Merkmals auf jedem denkbaren Baum

(Kluge und Farris 1969, Farris 1989, Knoop und Müller 2009)

Die für die Gattung *Chara* getesteten Marker erwiesen sich insgesamt als genetisch sehr wenig variabel, wobei mittels des Markers *matK* 11 Cluster eindeutig voneinander unterschieden werden konnten. Dabei wurden p-Distanzen zwischen den Clustern $> 0,72\%$ sowie innerhalb der Cluster zwischen 0 und $0,6\%$ beobachtet²⁹ (Abbildung

²⁹ Nicht enthalten sind die Werte der Cluster um *C. connivens* mit intraspezifischen p-Dist. von $2,63\%$ und die Proben von *C. galioides* aus Spanien (p-Dist.: $0,72\text{--}1,02\%$). Innerhalb der Diskussion dieser Cluster wurde bereits die Möglichkeit einer Fehlbestimmung (*C. connivens*) oder unterschiedlicher genetischer Formen (*C. galioides*) diskutiert.

24), wobei fünf der erhaltenen Cluster mehr als eine morphologische Art repräsentieren. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass mittels des cp-Markers *matK* etwa 60 % der morphologisch und ökologisch bestimmten Taxa innerhalb der Gattung *Chara* genetisch identifiziert werden konnten und auch in weiterführenden Untersuchungen als Ausgangspunkt für taxonomische Differenzierung genutzt werden sollte. Zusätzlich könnte die Sequenzierung der vollständigen 18S rRNA weitere Einsichten in die Evolution dieser Gattung ermöglichen, da auch diese Region methodisch einfach zu bearbeiten war und basierend auf der Arbeit von Meiers et al. (1999) weitere Informationen beinhalten könnte.

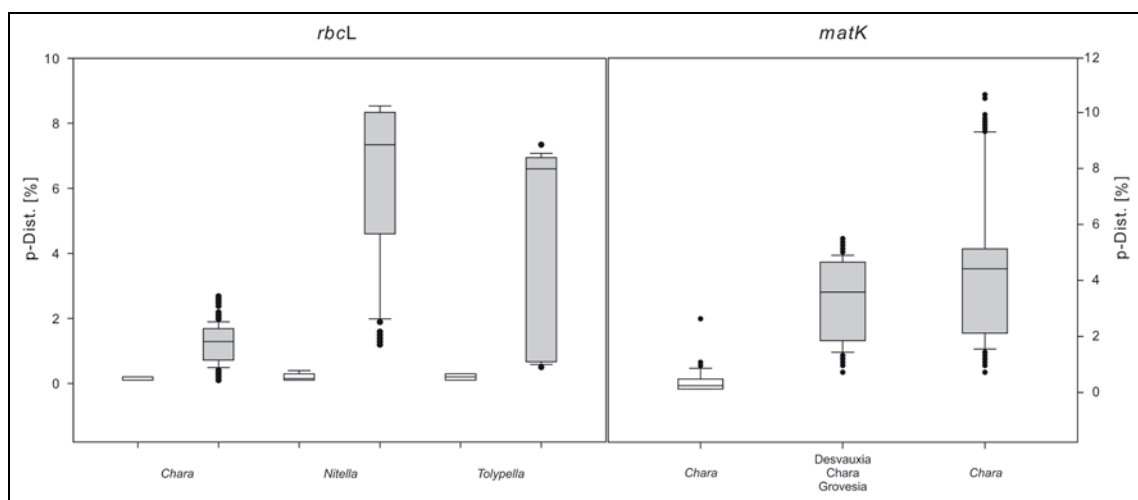


Abbildung 24 Vergleich der interspezifischen (Grau) und intraspezifischen (Weiß) p-Distanzen für die Gattungen *Chara*, *Nitella* und *Tolypella* basierend auf 1008 bp des Markers *rbcL* sowie der Gattung *Chara* basierend auf 843 bp des Markers *matK*.

Vergleicht man nun die genetische Variabilität des Markers *rbcL* für die Gattungen *Chara*, *Nitella* und *Tolypella* werden deutliche Unterschiede sichtbar (Abbildung 24). Allein mit Hilfe des Markers *rbcL* konnten für die Gattung *Nitella* durchschnittlich 5fach höhere p-Distanzen im Vergleich zu *Chara* (Abbildung 25), sowie eine 100%ige Darstellung der morphologischen Taxa beobachtet werden. Dabei wurde eine intraspezifische Variabilität zwischen 0 - 0,4 % und eine interspezifische > 1,19 % erzielt, was eine genetische Unterscheidung der Arten vergleichsweise einfach gestaltete und die Anwendung des traditionellen Mikroarten-Konzeptes für die Gattung *Nitella* bestätigte (Abbildung 24). Innerhalb der Gattung *Nitella* werden auch mit einem vergleichsweise wenig variablen Marker wie *rbcL* geografische Unterschiede sichtbar, was innerhalb der diözischen Art *N. opaca* besonders deutlich ausgeprägt war. Analysen basierend auf Sequenzen des Markers *matK* versprechen aufgrund der ebenfalls zu erwartenden 3fach

höheren Substitutionsrate weiterführende Erkenntnisse für phylogeografische Fragestellungen innerhalb der Gattung *Nitella*.

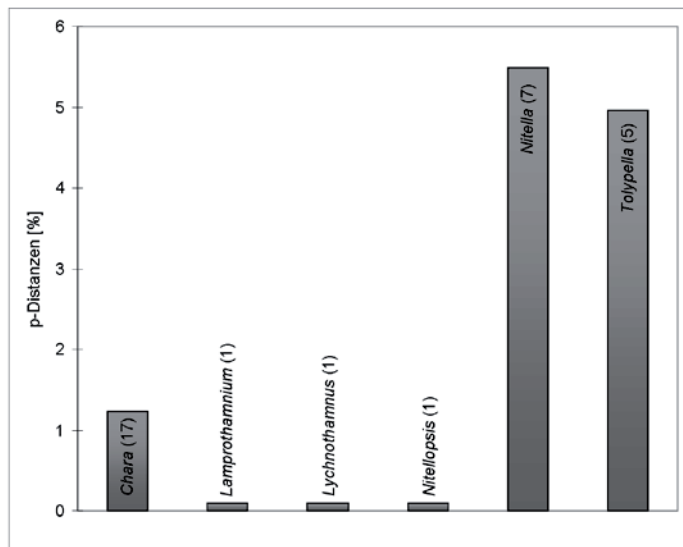


Abbildung 25 Verteilung der durchschnittlichen p-Distanzen innerhalb der Characeae für den Marker *rbcL*. In Klammern ist die Anzahl der analysierten Taxa angegeben.

4.1.4 Bewertung der morphologischen Merkmale

Im Gegensatz zu der vergleichbar geringen Variabilität der genetischen Marker innerhalb der Gattung *Chara*, zeigten die Individuen innerhalb der genetische Cluster in der Regel eine große Spannbreite ihrer morphologischen Merkmale. So wurden beispielsweise innerhalb des *C. hispida*-Clusters Proben mit isostichem, tyla- und aulacanthem Berindungstypus, sowie unterschiedlich langen Stipularen, Blättchen und Stacheln (einzeln oder gebündelt) zusammengefasst.

Der Vergleich der genetischen Cluster mit den morphologischen Parametern zeigte, dass kaum ein Merkmal, welches in der Regel in der Bestimmungsliteratur verwendet wird, in gleichem Maße zur Unterscheidung für alle Cluster genutzt werden konnte. Als eines der wenigen konstant nutzbaren Merkmale, erwies sich in dieser Studie die Häufigkeit, d. h. die Unterscheidung zwischen mon- und diözischen Gruppen. Dieses Merkmal wurde in der Vergangenheit in der Literatur immer wieder diskutiert, vor allem nachdem Wood und Imahori (1965) in ihrer Synopsis Taxa unterschiedlicher Häufigkeit zu einer Art zusammenfassten (z. B. McCracken et al. 1966, Sarma und Khan 1967). In dieser Studie konnte innerhalb der genetischen Cluster zwischen den ver-

schiedenen Fortpflanzungsformen unterschieden werden: *C. globularis* (monözisch) und *C. connivens* (diözisch) oder *C. aspera* (diözisch) und *C. tenuispina* (monözisch) sowie *N. flexilis* (monözisch) und *N. opaca* (diözisch). Damit unterstützten diese Ergebnisse die Experimente von Proctor (1971), der Kreuzungsschranken zwischen Individuen der Taxa *C. globularis* und *C. connivens* nachweisen konnte und dieses Merkmal zur Unterscheidung intraspezifischer Beziehungen ausdrücklich empfahl (Proctor 1980). Gegen die Nutzung dieses Merkmals sprechen jedoch die Analysen von Kato et al. (2010), welche keine Unterschiede zwischen den *rbcL*-Sequenzen von parthenogenetischen *C. canescens* und monözischen *C. altaica* nachweisen konnten. Letzteres ein Taxon, welches ursprünglich in Russland und China (Hollerbach und Krasavina 1983), kürzlich auch in Japan, beschrieben wurde und darüber hinaus eines der fünf monözischen Taxa der haplostichen Sektion *Desvauxia* darstellt (Kato et al. 2010). Weitere genetische Analysen, vor allem innerhalb der Gruppe der haplostichen Characeen mit ihren vielfältigen Fortpflanzungsformen, könnten genauere Aussagen zur Verwendbarkeit dieses Merkmals bieten. Ein weiteres Merkmal, das sich innerhalb der genetischen Cluster als sehr konstant erwies, war die Ausbildung einer haplo-, diplo- oder triplostichen Berindung. Ontogenetisch betrachtet, ist die Unterscheidung dieser drei Berindungstypen auf die Länge der sekundären Cortexzellen zurückzuführen. Bei der haplostichen Berindungsform sind die sekundären Rindenzellen zwar angelegt, aber nicht ausgewachsen. Innerhalb der diplostichen sind die sekundären Rindenzellen ungefähr halb so lang wie die primären, so dass die oberen und unteren Rindenreihen aneinanderstoßen. Bei der triplostichen Berindung sind die sekundären Rindenzellen genauso lang wie die primären, d. h. die oberen und unteren Reihen wachsen aneinander vorbei (Wille 1897). Wie weit die sekundären Rindenzellen auswachsen, scheint, basierend auf den Ergebnissen dieser Studie, mit wenigen Ausnahmen/Übergangsformen sehr konstant zu sein. Zu den Ausnahmen zählen z. B. die bereits weiter oben beschriebenen *C. canescens* aus Spitzbergen, die an den älteren Internodien eine triplostiche Berindung zeigten (Langangen 1979). Auch Wood und Imahori (1965) beschrieben irregulär oder diplostich berindete Formen von *C. canescens*. Eine weitere Ausnahme bildet *C. dissoluta* (~*C. imperfecta*), welche von Corillion (1957) als Form von *C. contraria* betrachtet wurde, bei der die sekundären Rindenzellen nicht ausgebildet sind, so dass der Eindruck einer haplostichen Berindung entsteht. Die primären Rindenzellen wachsen bei *C. dissoluta* jedoch immer in einem gewissen Abstand voneinander und berühren sich nicht - damit ergibt sich ein klarer Unterschied zu einer typischen haplostichen Berin-

dung. Durch welche äußeren Bedingungen diese Formen der Berindung hervorgerufen werden, ist bisher nicht geklärt. Allerdings brachten sowohl Corillion (1957) als auch Wood und Imahori (1965) nährstoffarme Wachstumsbedingung in Zusammenhang mit ungewöhnlichen bis unvollständigen Berindungsformen.

Sowohl der Berindungstypus als auch die Fortpflanzungsform sind, basierend auf den genetischen Analysen dieser Studie, für die Unterscheidung innerhalb der Gruppen der Gattung *Chara* für taxonomische Zwecke nutzbar. Auf der anderen Seite zeigten die Ergebnisse auch, dass die unterschiedlichen Formen beider Merkmale nicht nur einmal, sondern mehrfach unabhängig voneinander während der Evolution der Characeae entwickelt wurden, was mit früheren Ergebnissen von Proctor (1980) übereinstimmte. Dieser beobachtete ebenfalls mon- und diözische Taxa in verschiedenen Subsektionen der Gattung *Chara*. Ähnliches gilt für die Entwicklung der triplostichen Berindung, die sich mit der Position des *C. aspera*-Clusters innerhalb der diplostichen Characeen, ebenfalls mindestens zweimal getrennt voneinander entwickelt haben muss und unterstützte damit frühere Ergebnisse von Meiers et al. (1999, 18S rRNA) und Mannschreck (2003, AFLP), bei denen die triplostichen Taxa auch in unterschiedlichen Clustern zusammengefasst wurden. Eine Phylogenie ausschließlich auf morphologischen Merkmalen ist auf Basis dieser Ergebnisse folglich nicht ratsam.

Die Gesamtheit der übrigen morphologischen Merkmale konnte nur in begrenztem Maße zur Artunterscheidung herangezogen und damit auch als diagnostisches Merkmal verwendet werden. So konnten beispielsweise Individuen des *C. contraria*-Clusters (tylacanth) eindeutig von den aulacanth Individuen des Taxons *C. vulgaris* unterschieden werden. Wohingegen eine Trennung basierend auf einem isostichen, aula- oder ty-lacanth Berindungstypus innerhalb der Individuen des *C. hispida*-Clusters nicht möglich war. Inwieweit Umweltfaktoren die Ausprägung der primären oder sekundären Rindenzellen beeinflussen, wurde bisher in der Literatur nicht erörtert. Inwieweit die Ausprägung der Rindenzellen in Verbindung mit bestimmten ökologischen Bedingungen als diagnostisches Merkmal genutzt werden kann (siehe Trennung der ty-lacanth *C. intermedia* aus dem Süßwasser), konnte in dieser Studie nur vermutet, aber nicht geklärt werden und erfordert weitere Untersuchungen.

Die Unterscheidung von Gruppen basierend auf der Ausbildung eines einreihigen oder zweireihigen Stipularkranzes, kann durch die Ergebnisse dieser Studie gestützt werden. Taxa, in denen nur der obere Stipularkranz ausgebildet ist, konnten mit hohen Wahr-

scheinlichkeiten eigenständigen Clustern zugeordnet werden: *C. baueri*, *C. longifolia*, *Lychnothamnus barbatus* und *Lamprothamnium papulosum*. Zusätzlich gestützt wird diese Beobachtung durch die Tatsache, dass sich die obere und untere Reihe der Stipularen hinsichtlich ihrer ontogenetischen Entwicklung unterscheiden. Während die obere Reihe direkt aus einer abgeschnürten Apikalzelle auswächst, teilt sich diese in der unteren Reihe noch einmal in eine Knoten- und eine Internodialzelle und wächst erst danach zu den unteren Stipularen aus (Kuczewski 1906). Für Taxa, bei denen beide Reihen angelegt sind, konnte sowohl die Länge als auch die Form der Stipularen nur in begrenztem Maße zur Unterscheidung einzelner Cluster genutzt werden. So stellte für die Trennung der Taxa *C. globularis* und *C. virgata* die Länge der oberen Stipularen in Zusammenhang mit der Stachellänge durchaus ein diagnostisches Merkmal dar. Auch für *C. horrida* (sehr eng stehende Stipularen) konnten, wenn auch nur geringfügige, genetische Unterschiede zu *C. baltica* & *C. liljebladii* beobachtet werden. Für die Mehrzahl der genetischen Cluster war die Länge oder Form der Stipularen jedoch kein diagnostisches Merkmal (z. B. *C. virgata* & *C. strigosa*). Ähnliches gilt für Form, Länge oder Anzahl der Stacheln auf den Internodien, welche sich innerhalb der genetischen Cluster ebenfalls als sehr variabel erwiesen haben: *C. aspera* & *C. galioides*, *C. hispida*-Cluster. In welchem Ausmaß diese beiden Merkmale durch äußere Bedingungen beeinflusst werden, ist in der Literatur bisher kaum diskutiert. Allerdings scheinen Unterschiede im Salzgehalt die Ausprägung beider Merkmale zu beeinflussen (z. B. Wood und Imahori 1965: erhöhtes Stipularwachstum bei *C. globularis*; O'Reilly et al. 2007: Unterschiede in Stachelform zwischen *C. aspera* und *C. aspera* var. *curta*; pers. Mittl. A. Holzhausen, 2015: *C. canescens*).

Die Form der Quirläste wurde von Wood und Imahori (1965) als Unterscheidungsmerkmal zwischen *C. globularis* und *C. connivens* verwendet. Inwieweit dieses Merkmal für die eben benannte Gruppe angewendet werden kann, konnte in dieser Studie nicht geklärt werden. Es besitzt allerdings innerhalb des *C. hispida*-Clusters keinen diagnostischen Wert, da Schneider et al. (2015a) zeigen konnten, dass sich die Stellung der Quirläste zum Internodium mit unterschiedlichen Lichtbedingungen ändert. Vergleichbar schwierig ist die Verwendung von Merkmalen wie Gesamtlänge oder Sprossdurchmesser. Während ersteres häufig durch die Habitatbedingungen begrenzt wird, konnte letzteres innerhalb der *C. hispida*-Gruppe als >0,9 mm beschrieben und damit Pflanzen der *Hartmania* Subsektion als äußerst robuste Characeen bestätigt werden. Im Allgemeinen können beide Merkmale aber durch äußere Bedingungen wie Licht, Wellen-

schlag (Wood und Imahori 1965: viel Licht oder ruhiges Wasser= lange, diffuse Pflanzen, wenig Licht oder wellig = kompakter Wuchs) oder Salzgehalt (Flor-Arnau et al. 2006: Stachellänge, Rindendurchmesser) erheblich beeinflusst werden und eignen sich daher nur in sehr begrenztem Maße für taxonomische Zwecke.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie festgestellt werden, dass die morphologischen Merkmale der Bestimmungsschlüssel durchaus zur Unterscheidung von Arten genutzt werden können. Jedoch konnten lediglich zwei Merkmale (Häusigkeit, Berindungstypus) generell für alle Cluster als diagnostisches Merkmal bestätigt werden. Die Mehrzahl der morphologischen Charakteristika konnte entweder nur innerhalb spezifischer Gruppen angewendet werden (z. B. tylacanth/aulacanth) oder wurde durch äußere Bedingung beeinflusst und waren damit Ausdruck der morphologischen Plastizität eines Taxons.

4.1.5 Morphologische Plastizität

Morphologische oder phänotypische Plastizität wurde von Pigliucci (2001) als das Vermögen eines Genotyps definiert, auf bestimmte Umweltbedingungen hin unterschiedliche Phänotypen auszubilden, was speziell bei sessilen Organismen wie Pflanzen ein weitverbreitetes Phänomen darstellt. Ob die Reaktionen einer Pflanze oder Alge jedoch genetisch determiniert sind, ist oftmals schwer zu bestimmen und wird in der Literatur daher kontrovers diskutiert (z. B. Lu und Wu 1986, Dorken und Barrett 2004, Mitchell-Olds et al. 2007, Alonso-Blanco et al. 2009). Wie in den vorangegangenen Absätzen erläutert, wiesen die genetischen Cluster der Gattung *Chara* generell eine große Spannbreite ihrer morphologischen Merkmale auf. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Wachstumsexperimente diskutiert, bei denen ein Genotyp allein durch die Änderung der Wachstumsbedingungen in unterschiedliche Morphotypen umgewandelt werden sollte.

4.1.5.1 *C. baltica* und *C. liljebladii*

Zur Unterscheidung der Formen *C. baltica* und *C. liljebladii* werden in der Literatur drei morphologische Merkmale verwendet: die Länge der Internodialzellen und Braketen sowie der Berindungstypus (Tabelle 9). Die übrigen Parameter der Bestimmungsliteratur erlauben keine klare Trennung der Taxa, da sie sich durchweg überschneiden, wobei das Vorhandensein von Individuen, die keine eindeutigen morphologischen Merkmale aufweisen, das Problem der Taxazuordnung zusätzlich verschärft. Aus diesem Grund wird in der Literatur meist der Parameter Wassertiefe zu Hilfe genommen, um beide Taxa zuzuordnen. (Tabelle 9). Damit ergibt sich allerdings ein weiteres Problem, da mit der Veränderung der Wassertiefe auch Anpassungsreaktionen der Pflanzen ausgelöst werden, die unter anderem Merkmale betreffen, die zur Unterscheidung der Taxa genutzt werden – tiefes Wasser in Verbindung mit erhöhter Trübung induziert eine Anpassung an geringe Lichtbedingungen ohne die ein Überleben der Pflanze nur schlecht oder auch gar nicht möglich wäre. Der Einfluss von Licht auf die Morphologie von *C. baltica* und *C. liljebladii* wurde daher untersucht, um den Status *C. liljebladii*'s genauer beurteilen können, sowie einen Eindruck der morphologischen Plastizität bestimmungsrelevanter Merkmale zu bekommen.

Innerhalb der hier präsentierten Ergebnisse waren Parameter wie Wassertiefe und damit der Wasserdruck, Temperatur, Nährstoffe, Salzgehalt und Strömung in allen Kulturgefäßen vergleichbar, so dass davon ausgegangen werden konnte, dass die Lichtintensität den entscheidenden Faktor in den Experimenten darstellte. Dabei konnten für *C. baltica* signifikante Veränderungen morphologischer Merkmale beobachtet werden. Mit abnehmender Lichtintensität war ein signifikant erhöhtes Längenwachstum der Internodialzellen und Quirläste zu beobachten, wodurch die Pflanzen selbst größer wurden. Diese Form der Anpassung an geringe Lichtintensitäten wurde häufig sowohl für Makrophyten (z. B. Barko et al. 1982) und höhere Pflanzen (z. B. Reich et al. 1998, Poorter 1999) aber auch für Characeen beschrieben (Blindow et al. 2003, Schneider et al. 2006, Blindow und Schütte 2007, Schaible et al. 2012). Im Gegensatz dazu zeigte *C. liljebladii* mit abnehmender Lichtintensität durchschnittlich ein leicht verringertes Längenwachstum, wobei jedoch keiner der analysierten morphologischen Parameter eine Korrelation mit bestimmten Lichtintensitäten aufwies. Diese Form der Anpassungsstrategie ist vergleichsweise selten, wurde jedoch innerhalb der Gattung *Chara* für

C. intermedia (Schneider et al. 2006³⁰) und für eine parthenogenetische Population von *C. canescens* aus dem Bodstedter Bodden (Schaible et al. 2012) beobachtet. Es sollte allerdings berücksichtigt werden, dass nur im Fall einer Lichtlimitation auch eine morphologische Anpassungen erwartet werden kann, das heißt, die Lichtintensität muss unter dem Lichtsättigungspunkt liegen (Marquardt et al. 2010). Nach den Ergebnissen von Küster et al. (2004) ist dieser für *C. baltica*, wie auch für die meisten anderen Characeen zwischen 200 und 300 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erreicht, womit die Bedingungen der Experimente dieser Studie als angemessen bewertet werden können. Da für *C. liljebladii* bisher keine Analysen zu Photosyntheseleistungen durchgeführt wurden, kann dies lediglich vermutet, jedoch nicht mit Sicherheit bestätigt werden und sollte in weiterführenden Untersuchungen überprüft werden.

Die Ergebnisse der Wachstumsexperimente zeigten für *C. baltica* eine plötzliche Veränderung der Morphologie bei Lichtintensitäten unter 90 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, wobei mit der Länge der Internodialzellen und Quirläste sich vor allem Merkmale änderten, die zur Unterscheidung beider Taxa genutzt werden (Tabelle 9). Auch innerhalb der statistischen Analysen der Gesamtheit der aufgenommenen Parameter konnten zwei gut trennbare Extreme für *C. baltica* beobachtet werden, die jedoch auch immer durch intermediäre Formen verbunden waren und für sich allein betrachtet den morphologischen Beschreibungen von *C. baltica* und *C. liljebladii* entsprechen würden. Bezieht man allerdings die Ergebnisse von *C. liljebladii* mit ein, werden deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen sichtbar. Signifikante Verschiebungen in der Morphologie aufgrund bestimmter Lichtintensitäten konnten für *C. liljebladii* nicht beobachtet werden. Vielmehr erwiesen sich beide Gruppen zwar als morphologisch sehr ähnlich, zeigten aber keine Überschneidungsformen und waren signifikant voneinander zu trennen. Damit werden Beobachtungen gestützt, nach denen beide Formen nebeneinander in einem Habitat zu finden und zu unterscheiden sind (Boegle et al. 2010a).

Mit den hier vorgestellten Experimenten zur morphologischen Lichtanpassung konnte die große morphologische Plastizität der Sektion Hartmania bestätigt und zusätzlich zwei klar voneinander abgrenzbare Populationen nachgewiesen werden. Auch wenn diese Formen nach dem phylogenetischen Artkonzept nicht voneinander zu unterscheiden sind, spiegeln ihre morphologischen Ausprägungen dennoch ökologische Eigen-

³⁰ Es soll jedoch darauf hingewiesen werden, dass in einem vergleichbaren Versuch von Schneider et al. (2015a) *C. intermedia* bei höheren Lichtintensitäten ein geringeres Wachstum zeigte, was die Autoren auf Unterschiede im Grad der Verkalkung der Individuen zurückführten.

schaften der Habitate wider; Lichtverfügbarkeit oder Trübung. Derartige Zusammenhänge wurden auch für andere Arten innerhalb der Characeae bereits beschrieben; Calciumreiche oder- arme Habitatbedingungen für *C. strigosa* & *C. virgata* (Rey-Boissezon und Auderset Joye 2015), weshalb genetisch identische Taxa nicht *per se* zu einer Art zusammengefasst, sondern weiterhin unterschieden werden sollten.

Die in Hypothese 2 formulierte Aussage

– Innerhalb der Gattung *Chara* bestehen Übereinstimmungen zwischen genetischer Variabilität und morphologischer Plastizität. –

muss, basierend auf den hier vorgestellten Untersuchungen, abgelehnt werden; dabei zeigten genetisch identische Taxa signifikant voneinander trennbare Phänotypen.

4.2 *Fucus*

Ausgangspunkt der Untersuchungen der Gattung *Fucus* war, den taxonomischen Status von den auf Helgoland vorkommenden Individuen mit auffälliger Morphologie zu klären und zu bestimmen, ob es sich dabei um: A) eine bislang nicht auf Helgoland vorkommende Art, B) um einen Hybriden oder C) eine extreme morphologische Ausprägung einer der bereits auf Helgoland vorkommenden Taxa handelt.

Dazu erfolgte eine Erfassung metrischer und beschreibender morphologischer Parameter, gefolgt von einer genetischen Analyse mit Hilfe eines hochvariablen Kernmarkers. Grundlage der Analyse war dabei eine Zuordnung der gesammelten Exemplare entsprechend der beschreibenden morphologischen Parameter, wie es dem phänetischen Artkonzept entspricht. Die dabei verwendeten diagnostischen Merkmalskomplexe der bislang auf Helgoland beschriebenen Arten waren:

F. serratus: gezählter Rand, flache Rezeptakel.

F. vesiculosus: Besitz echter Vesikel, endständige aufgeblähte Rezeptakel.

F. spiralis: endständige aufgeblähte Rezeptakel mit sterilem Rand.

Individuen mit von diesen Merkmalskomplexen abweichenden Mustern wurden gezielt gesammelt und anhand der Ähnlichkeit bezüglich ihrer metrischen morphologischen Parameter sowie ihrer genetischen Ähnlichkeit sollte eine Zuordnung zu einer der drei oben genannten Komplexe vorgenommen werden. Da bereits Kommann und Sahling (1994) die Annahme äußerten, es könnte sich bei diesen auffälligen Morphotypen um eine bislang nicht auf Helgoland vorkommende Art handeln, wurden auch Vergleichs-

proben der Arten *F. ceranoides*, *F. cottonii*, *F. radicans* und *F. distichus* in die Analysen mit einbezogen.

Die Analyse der metrischen Daten ergab, dass eine Trennung der drei in Frage kommenden Ausgangsarten alleine durch diese Parameter nicht möglich war. Lediglich *F. cottonii* konnte aufgrund der stets vergleichsweise geringen Länge von ausgewachsenen (fertilen) Exemplaren anderer Arten klar unterschieden werden und schied damit als Kandidat für eine mögliche neue Art auf Helgoland aus. Als möglicher Hybridisierungspartner kommt dieses Taxon nur in Betracht, wenn man entweder annimmt, dass auf Helgoland ein bislang unbekanntes Vorkommen dieses Taxons existiert oder, alternativ, der Hybride außerhalb Helgolands entstand und bereits als Hybride auf die Insel gelangte. Die erste Annahme ist angesichts der geringen Größe der Insel und der intensiven Bearbeitung seiner Algenflora unwahrscheinlich (z. B. Munda und Kremer 1997, Bartsch und Kuhlenkamp 2000, Reichert et al. 2008). In jedem Fall sollte eine populationsgenetische Analyse hier Klarheit schaffen.

Im Fall der Kombination der metrischen mit den nichtmetrischen Parametern ergab sich eine Trennung zwischen den Taxa, die jedoch, wie die Analyse der metrischen Daten belegte, vor allem auf den beschreibenden Merkmalen beruhte. Dementsprechend war die Trennschärfe dieser Analyse des Gesamtdatensatzes unbefriedigend und erlaubte nur eine begrenzte Zuordnung der Individuen mit abweichender Morphologie. Eine Trennung zwischen einzelnen Taxa war dabei durchaus möglich (z. B. trennten sich *F. serratus* und *F. spiralis* recht gut, Abbildung 19) - aber eine uneindeutige Zuordnung eines unbekannten Individuums zu einer Art wurde durch das Überlappen der Merkmalsausprägungsbereiche der einzelnen Cluster unmöglich. Die größte Variabilität wies hier, wie ebenfalls in Abbildung 19 ersichtlich, *F. vesiculosus* auf.

Innerhalb der beschreibenden Parametern, die den Ausgangspunkt der Zuordnung zu den einzelnen Taxa darstellten, standen als differentialdiagnostische Merkmale die Parameter „nichtendständige Rezeptakel“ und „wenig ausgeprägte Mittelrippe“ sowie „dichtes Verzweigungsmuster“ für die Abtrennung der Art *F. ceranoides* zur Verfügung (Hiscock 1979). Probleme bei der Zuordnung ergaben sich hier, neben den Individuen abweichender Morphologie, vor allem wieder im Bereich der Arten *F. vesiculosus* und *F. spiralis* (inkl. der Form var. *platycarpus*), die eine Vielzahl von Übergängen aufwiesen. Bei *F. spiralis* var. *platycarpus* war es vor allem das Fehlen eines sterilen Rezeptakelrandes; wobei dieser eines der Hauptmerkmale des Taxons darstellte (Zardi et al. 2011). Damit ist eine Abtrennung von *F. vesiculosus* erschwert, da hier mit der

var. *linearis* auch eine Wuchsform ohne echte Vesikel auftritt. Um dieses Problem zu lösen, wurde zusätzlich die Häufigkeit analysiert, wobei *F. spiralis* als var. *platycarpus* die einzige in dem Gebiet vorkommende monözische Art darstellte. Unter der Annahme, dass es sich bei der Häufigkeit um ein diagnostisches Merkmal handelt, wurden alle diözischen Exemplare unklarer Morphologie *F. vesiculosus* zugeordnet.

Die populationsgenetische Untersuchung brachte zunächst den überraschenden Befund, dass vor allem im Bereich des morphologisch ohnehin schlecht aufgelösten *F. spiralis* & *F. vesiculosus*-Clusters eine große Variabilität der genetischen Haplotypen auftrat; von den 33 identifizierten Haplotypen konnten allein 25 diesem Cluster zugeordnet werden und da alle Individuen abweichender Morphologie innerhalb dieser Gruppe gefunden werden konnten, wurde das Vorkommen einer bisher nicht auf Helgoland beschriebenen Art, in Zusammenhang mit *F. ceranoides*, als Erklärung für die auffälligen Morphotypen abgelehnt.

Die Möglichkeit von vorhandenen Hybridisierungen ist in jedem Fall zutreffend, da einzelne Individuen unterschiedliche Allele aufwiesen, die sowohl einem genetischen Haplotypen von *F. spiralis*, als auch einem von *F. vesiculosus* zugeordnet werden konnten. Damit ist das Auftreten von Hybriden beider Taxa auf Helgoland bestätigt und unterstützt zahlreiche Untersuchungen, bei denen Hybridisierungen unterschiedlichster Arten der Gattung *Fucus* wiederholt dokumentiert wurden (z. B.: *F. vesiculosus* & *F. spiralis* (Wallace et al. 2004, Billard et al. 2005a, 2005b, 2010, Engel et al. 2005, Coyer et al. 2011); *F. ceranoides* & *F. vesiculosus* (Neiva et al. 2010); *F. serratus* & *F. evanescens* (Coyer et al. 2007)). Da es sich hierbei um diözische Individuen handelte und gleichzeitig echte Vesikel zu beobachten waren, wurden diese zunächst *F. vesiculosus* zugeordnet. Es ist allerdings zu beachten, dass Hybride der Taxa *F. vesiculosus* und *F. spiralis* sowohl monözische als auch diözische Phänotypen ausbilden können (Billard et al. 2005b) und damit eine Artzuordnung einzig basierend auf der Häufigkeit schwierig ist.

Auch das Auftreten extremer morphologischer Ausprägungen aufgrund hoher phänotypischer Plastizität ist, nach dem jetzigen Stand der Untersuchungen, ebenfalls zu unterstützen; mehrere Individuen abweichender Morphologie befanden sich genotypisch konsistent im Bereich morphologisch „eindeutiger“ *F. vesiculosus*-Individuen ohne auffällige Allele aufzuweisen.

Als Ergebnis dieses Teils der Studie stellt sich die Frage nach den sexuellen Isolationsmechanismen im Bereich *F. spiralis* & *F. vesiculosus*. Mehr noch, angesichts der extremen Bandbreite der morphologischen Ausprägung, ob die hier vorgenommene Einteilung entsprechend der Häufigkeit zulässig ist. In anderen Gruppen der Algen wird Häufigkeit nicht als primäres Merkmal anerkannt (*Porphyra tenera*, *Chara canescens*), auch bei höheren Pflanzen sind Fälle (z. B. *Opuntia robusta*) bekannt, in denen sowohl mon- als auch diözische Individuen innerhalb einer Art vorkommen (Del Castillo und Argueta 2009). Um hier zu einer Klärung zu kommen, muß der Umfang an analysierten noch einmal deutlich erweitert und zusätzliche Marker in die Analyse einbezogen werden. In jedem Fall handelt es sich bei diesem Komplex um ökologisch gut getrennte Taxa, so dass die Vermutung nahe liegt, dass der Isolationsmechanismus vor allem in der räumlichen Trennung besteht, d. h. in der unterschiedlichen Lage im Litoralgradienten. Dass es bei einem derartigen Isolationsmechanismus vor allem beim Vorliegen geringer Gezeitenamplituden zu Hybridisierungen kommen kann, überrascht nicht und wurde vor allem bei der Trennung von *F. spiralis* und *F. spiralis* var. *platycarpus* bereits beschrieben (Zardi et al. 2011). Hybridisierung als Folge räumlichen Zusammentreffens von Arten mit ähnlichen ökologischen Ansprüchen ist selbst aus dem Tierreich bekannt; dass Verhalten der Großmöwenarten sei hier als Beispiel genannt (Hybridisierung von *Larus cachinnans* und *Larus argentatus* nach räumlicher Trennung während der Eiszeit (Mayr 1963, Knijff et al. 2001)).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es sich bei den auffälligen Morphotypen auf Helgoland nicht um eine neu eingewanderte Art handelt und die Hypothese 3

– Der auffällige Morphotyp der Gattung *Fucus* auf Helgoland ist ein Ökotyp von *F. vesiculosus*. –

beibehalten werden kann. Alle Individuen abweichender Morphologie konnten in den *F. spiralis* & *F. vesiculosus*-Komplex eingeordnet werden. Nach den ggw. gültigen Kriterien, die die Häufigkeit als ein differentialdiagnostisches Merkmal behandeln und die Anwendung des phänetischen Artkonzeptes im Bereich der Phykologie fordern (ICBN), müssen alle diese Individuen *F. vesiculosus* zugeordnet werden.

Wendet man das phylogenetische Artkonzept an, handelt es sich zumindest bei einigen dieser Individuen um Hybride zwischen *F. spiralis* und *F. vesiculosus*.

Im Rahmen dieser Studie wurde eine ausführliche Übersicht über die Morphologie der auf Helgoland vorkommenden *Fucus*-Arten geschaffen die direkt mit molekulargenetischen Daten verknüpft wurde. Dabei konnten neben typischen Ausprägungen eine Reihe von morphologisch untypischen Individuen beobachtet und dokumentiert werden, die bislang auf Helgoland nicht beschrieben waren:

F. spiralis mit sehr schmalem Thallus und kleinen, fast randlosen Rezeptakula - damit entspricht diese Form dem Typus der Art und kann von der auf Helgoland hauptsächlich als *F. spiralis* var. *platycarpus* angetroffen Form morphologisch unterschieden werden. Dabei ist zu beachten, dass eine genetische Differenzierung beider Formen in dieser Studie nicht dargestellt werden konnte.

F. vesiculosus ohne Vesikel und mit extremer Variabilität der Rezeptakelform (breit & groß, spitz & lang, z.T. mit angedeutetem sterilem Rand) - hier ist vor allem die Verknüpfung mit molekulargenetischen Daten interessant, die eindeutig auf Hybridisierung hinweist, wobei bereits Burrows und Lodge (1951) Hybride zwischen *F. vesiculosus* und *F. spiralis* beobachten konnten, die echte Vesikel und Rezeptakel mit ausgeprägtem sterilen Rand aufwiesen.

F. serratus mit ungezähntem Rand - damit ähnelten sie Hybriden von *F. serratus* und *F. vesiculosus*, bei denen neben einem nur leicht gezähnten Rand auch mehrfingrige Rezeptakula auftraten (Burrows und Lodge 1951). Für die auf Helgoland gefundenen Individuen war jedoch eine Zuordnung fertiler Exemplare anhand der Rezeptakelform (flach, ungeteilt) problemlos möglich; auch genetisch waren diese Individuen eindeutig dieser Art zuzuordnen.

Die Verwendung des Kernmarkers PDI erwies sich für die genetische Differenzierung von *F. ceranoides* als hilfreich. Zur Analyse des *F. vesiculosus* / *F. spiralis*-Komplexes sind jedoch weitere genetische Untersuchungen notwendig, wobei auf Chloroplastenmarker aufgrund der vergleichbar hohen Hybridisierungsrate und der damit einhergehenden Introgression (z. B. Neiva et al. 2010) verzichtet werden sollte. Aufgrund der schnellen evolutionären Entwicklung und einer damit verbundenen Radiation dieser Gattung sollten dabei populationsspezifische Mikrosatelliten zur Anwendung kommen, bei denen auch ökologische Unterschiede nachzuvollziehen sind und bereits erfolgreich zur genetischen Charakterisierung unterschiedlicher *Fucus*-Arten verwendet wurden (Bergström et al. 2005, Zardi et al. 2011). In den Analysen von Zardi et al. (2011) wurde zusätzlich eine Kombination 14 verschiedener SNP-Marker („single nucleotide po-

lymorphism“ v.a. Gene, die in Zusammenhang mit Streßreaktionen stehen) zur Trennung von allopatrischen Populationen von *F. vesiculosus*, *F. spiralis* und *F. spiralis* var. *platycarpus* eingesetzt. Eine mögliche Anwendbarkeit dieser Marker für die Insel Helgoland, aber auch zur genetischen Differenzierung von *F. cottonii* und *F. radicans* könnte weitere Einsichten in die Evolution der Gattung *Fucus* ermöglichen.

5. Zusammenfassende Diskussion

Die Differenzierung von Pflanzenarten an Hand der traditionellen morphologischen und ökologischen Kriterien, stellt häufig selbst für Experten eine Herausforderung dar und ist in vielen Fällen nur in begrenztem Maße realisierbar. Die Hinzuziehung genetischer Methoden kann dabei Hilfestellung bei der Identifizierung und Klassifizierung von Biodiversität leisten; mit diesem Methodenrepertoire ist es möglich, die morphologischen Kriterien, die zur Abgrenzung der Taxa verwendet werden, zu wichten und zu werten (Hollingsworth et al. 2011). So konnten Heinrichs et al. (2011) mit Sequenzen chloroplastidärer und ribosomaler Marker kryptische Arten innerhalb der Gattung *Porella* identifizieren. Für die Gattung *Acacia* sowie die Familie Podostemaceae konnten mit dem Marker *matK* jeweils 100 % der morphologisch bestimmten Arten auch genetisch charakterisiert werden (Newmaster und Ragupathy 2009, Kelly et al. 2010). Gleiches gilt für die Lebermoose *Asterella*, bei denen allein mit Sequenzen des Gens *rbcL* 90 % der morphologischen Arten identifiziert werden konnten (Hollingsworth et al. 2009); generell wurden bei den Bryophyta mit Hilfe genetischer Methoden zahlreiche kryptische Arten entdeckt (Bickford et al. 2007, Heinrichs et al. 2009). Innerhalb der Gruppe der Makroalgen erwies sich der mitochondriale Marker *cox1* zur Analyse der inter- aber auch der intraspezifischen Variabilität für Rotalgen (Rodophyta) als sehr effektiv (Robba et al. 2006). In diese Reihe der positiven Beispiele reihen sich die Analysen der Gattungen *Nitella* und *Tolypella* ein, bei denen mit Hilfe unterschiedlicher genetischer Marker die morphologischen Mikroarten bestätigt und zusätzlich für letztere auch Zwilingsarten identifiziert werden konnten (Sakayama 2008, Perez et al. 2014).

Im Gegensatz dazu konnte für die Gattung *Chara*, mit den in dieser Studie genutzten Markern, nur eine geringe genetische Variabilität detektiert und lediglich ca. 60 % der morphologischen Mikroarten genetisch charakterisiert werden. Diese niedrigen Werte stimmen mit bereits publizierten Ergebnissen zur genetischen Struktur der Gattung *Chara* überein (Meiers et al. 1999, Mannschreck 2003, Schaible et al. 2009, Schneider et al. 2015b). Auch die daraus resultierende vergleichsweise geringe Deckung der Ergebnisse phylogenetischer Untersuchungen mit den traditionellen morphologischen Kriterien zur Artabgrenzung ist für Pflanzen keine Seltenheit. Hollingsworth et al. (2009) konnten trotz der Verwendung unterschiedlichster Marker nur eine mäßige bis schlechte Übereinstimmung mit den traditionellen Methoden für die Gattungen *Araucaria* (32 %)

oder *Inga* (69 %) nachweisen. Gleiches gilt für die Gattung *Alnus*, bei der basierend auf nrITS-Sequenzen nur ca. 70 % der morphologischen Arten genetisch getrennt werden konnten (Ren et al. 2010). Für die Gattungen *Picea* und *Quercus* sowie auch für eine Gruppe wilder Tomaten (*Solanum*) konnten so gut wie keine Übereinstimmungen mit den traditionellen Systemen beobachtet werden (Spooner 2009, Ran et al. 2010, Piredda et al. 2011). Das zuletzt beschriebene Bild konnte auch für die in dieser Studie analysierten Taxa der Gattung *Fucus* beobachtet werden - dabei wurde für das *F. vesiculosus*-Cluster zwar eine große genetische Variation der Haplotypen, jedoch kein Zusammenhang zwischen diesen und den morphologischen Systemen gefunden.

Für die Gesamtheit der eben beschriebenen Beispiele wurde die Qualität der genetischen Ergebnisse, anhand des Kriteriums der Übereinstimmung mit dem Ergebnis der traditionellen morphologischen Analyse, bewertet. Damit bleibt das Problem innerhalb der Markkroalgen bestehen, dass phänotypische Konzepte auf vegetativen Merkmalen beruhen, die häufig keinerlei Bezug zur Reproduktion aufweisen und damit die traditionellen Systeme selbst einer Prüfung unterzogen werden sollten. Auch für die hier untersuchten Gattungen *Chara* und *Fucus* sind zahlreiche quantitative Merkmale, die durch Umwelteinflüsse verändert werden können, beschrieben. Das auffälligste Beispiel für *F. vesiculosus* ist dabei wohl das Vorhandensein echter Blasen, welches negativ mit dem Expositionsgrad und dem Wellengang korreliert (Burrows und Lodge 1951). Weiterhin sind Änderungen des Salzgehaltes mit nahezu allen vegetativen Merkmalen positiv korreliert (Bäck et al. 1992, Ruuskanen und Bäck 1999, Burrows und Lodge 1951). Auch innerhalb der Gattung *Chara* sind eine Vielzahl vegetativer Merkmale (z. B. Gesamtlänge, Berindung der Internodien und Quirläste, Anzahl und Länge von Stacheln und Stipularen, Bildung von Gametangien) beschrieben, die durch Umweltparameter wie z. B. Licht, Temperatur, Nährstoffgehalt, Salinität oder Wellenbewegung beeinflusst werden (z. B. Corillion 1957, Wood und Imahori 1965, Blindow und Schütte 2007, Bociag et al. 2009, Schaible et al. 2012, Schneider et al. 2015a). Das neben diesen abiotischen auch biotische Umweltfaktoren einen Einfluss auf den Phänotyp von Makroalgen haben können, haben Untersuchungen an *Hydra* (Rahat und Dimentman 1982) oder der Grünalge *Ulva* (Wichard 2015) gezeigt, bei denen die Zusammensetzung der epiphytischen Bakterienflora über die Ausbildung unterschiedlicher Phänotypen entscheidet. Derartige Untersuchungen fehlen bisher für andere Gruppen der Makroalgen.

Inwieweit diese vegetativen Merkmale einzig durch die Umwelt oder doch zumindest teilweise durch den Genotyp beeinflusst werden, kann mit den traditionell genutzten Markern nicht geklärt werden. Diese Marker zielen nahezu durchgängig auf Regionen, die keinen unmittelbaren Bezug zur Ausbildung morphologischer Merkmale besitzen. Vielmehr besteht das Hauptkriterium für ihre Nutzung, in der möglichst optimalen Substitutionsrate, wobei davon ausgegangen wird, dass sie sich parallel zum restlichen Genom entwickeln. Betrachtet man jedoch die unterschiedlichen Evolutionsgeschwindigkeiten der untersuchten Kompartimente³¹, die Unterschiede zwischen kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Abschnitten oder auch die Variabilität zwischen unterschiedlichen Proteinen³², ist eine Parallelität zwischen Morphologie und genetischem Marker nur schwer gegeben und die Wahl des optimalen Markers äußerst schwierig.

Dank der schnell voranschreitenden Technik stehen seit einigen Jahren immer mehr Sequenzen von Gesamtgenomen zur Verfügung; mittlerweile ist damit die Grundlage zur Identifizierung funktionaler Gene geschaffen, so dass zumindest prinzipiell auch die genetische Basis von Phänotypen untersucht werden kann (Alonso-Blanco et al. 2005, 2009). Neben wenigen qualitativen Merkmalen beruht die Mehrzahl der phänotypischen Variabilität auf quantitativen, d. h. sich kontinuierlich verändernden Merkmalen, welche selten auf Allelvariationen einzelner Gene („*monogenic*“), meist jedoch auf Polymorphismen verschiedener loci oder Gene („*multigenic*“) zurückgehen. In der Literatur sind diese Bereiche des Genoms als „*quantitative trait loci*“ (QTL) und „*quantitative trait genes*“ (QTGs) gekennzeichnet (Alonso-Blanco et al. 2005). Ausgehend von Untersuchungen an Modelorganismen wie *Arabidopsis thaliana* oder *Oryza sativa* konnten in den vergangenen 15 Jahren vor allem innerhalb der Nutzpflanzen eine Vielzahl an QTLs identifiziert werden, die z. B. für die Ausbildung morphologischer Merkmale, den Zeitpunkt der Blüte und der Keimung oder auch der Nährstoffaufnahme verantwortlich sind (Mitchell-Olds et al. 2007, Alonso-Blanco et al. 2009). Weiterführende Untersuchungen zu QTLs könnten Einsichten zur intra- aber auch interspezifischen Variabilität der Taxa der Gattung *Chara* und damit deren Grenzen ermöglichen, sowie den Weg der Speziation genauer beurteilen. Mit den Sequenzen des ersten Kerngenoms der Gattung

³¹ Die mitochondriale DNA bei Wirbeltieren ist vergleichsweise variabel: evolviert 10-20mal schneller als die Kern-DNA. Bei Pflanzen zählt sie, im Gegensatz, zu den am stärksten konservierten Bereichen. Dagegen ist bei Pflanzen die Mutationsrate der Chloroplasten-DNA 3mal und die der Kern-DNA ~6x größer als die, der mitochondrialen DNA.

³² So ist die Evolutionsgeschwindigkeit sogenannter *housekeeping genes* (z.B. Histone, strukturelle Proteine des Cytoskeletts – Myosin, Actin) geringer als in organspezifischen Proteinen (Zhang und Li 2004).

Chara, welche zurzeit analysiert werden, könnte sich in nächster Zukunft ein interessantes Arbeitsfeld eröffnen. Aber auch ohne die Sequenzen eines kompletten Genoms können Gene mit Hilfe von EST-Datenbanken identifiziert werden, die z. B. während der Ontogenese für die Ausbildung morphologischer Merkmale oder während Stressreaktionen für deren Anpassung verantwortlich sind. Eine erste Anwendung erfolgte z. B. bereits für die Differenzierung von *F. spiralis* und *F. spiralis* var. *platycarpus*, bei denen u. a. das Gen des Hitzeschockproteins HSP90 zur Anwendung kam (Zardi et al. 2011).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass für eine phylogenetische Analyse von Makroalgen gruppenspezifisch entwickelte Marker die größte Aussicht auf eine Darstellung von natürlichen Clustern besitzen und universelle Barcodes, die darüber hinaus möglichst kurz und gruppenübergreifend sein sollten, nur in begrenztem Maße zur Rekonstruktion phylogenetischer Systeme geeignet sind. Dabei muss die Verwendung weiterer Marker jedoch nicht unbedingt zu einer größeren genetischen Variabilität oder Trennung von Taxa führen (Li et al. 2015).

Die in dieser Studie analysierten Gruppen ergaben mit den hier verwendeten genetischen Regionen sehr unterschiedliche Szenarien. Innerhalb der Gattung *Fucus* war die Nutzung chloroplastidärer Sequenzen zur Differenzierung von Arten nicht geeignet (Coyer et al. 2006a). Auch der hier verwendete nukleare Marker wies nur geringfügige Gemeinsamkeiten zu morphologischen Charakteren auf und konnte lediglich zur Differenzierung von Großgruppen genutzt werden. Wohingegen eine Klärung der Beziehungen innerhalb der Cluster nicht möglich war. Dennoch wurde eine große genetische Variabilität nachgewiesen, die die vorherrschende Ansicht unterstützte, dass die Gattung *Fucus* eine schnelle genetische Entwicklung erfährt. Diese hohe genetische Variabilität wird vor allem mit der adaptiven Radiation, bedingt durch das Wachstum in der Gezeitenzone und die damit einhergehenden Extremzustände (Cánovas et al. 2011), in Verbindung gebracht. Aber auch die hohe Hybridisierungsrate und die damit verbundene Introgression v. a. des gesamten Chloroplastengenoms (aber auch Teilen des Kerngenoms, siehe Neiva et al. 2010, 2012), bieten immer wieder Ausgangspunkte zur Diversifikation der *Fucus*-Taxa (Coyer et al. 2006b, 2011, Zardi et al. 2011).

Die im Gegensatz dazu sehr geringe genetische Variabilität innerhalb der Gattung *Chara* kann zum einen durchaus ein Indiz dafür sein, dass die Artgrenzen des Mikroarten-Konzeptes zu eng definiert sind und Wood und Imahori (1965) mit der Einführung von

Makroarten eine natürlichere Taxonomie für diese Gattung entwickelt haben; auch wenn die Ergebnisse deutlich machen, dass die genetischen Cluster doch variabler sind, als von Wood und Imahori (1965) prognostiziert. Auf der anderen Seite kann diese geringe genetische Variabilität vor allem in Verbindung mit der großen morphologischen Plastizität der Gattung noch weitere, sehr vielfältige Ursachen haben, die im Folgenden erläutert werden sollen.

Im Allgemeinen können geringe genetische Unterschiede bei Gruppen beobachtet werden, die beispielsweise durch einen genetischen Flaschenhals geprägt sind und damit gerade am Beginn eines Speziationsprozesses stehen (Hollingworth et al. 2011). Vor allem in Beziehung mit einer erneuten Radiation nach eiszeitlichen Perioden kann diese Form der Artbildung für zahlreiche Gruppen in N-Europa beobachtet werden (Hewitt 1996). Zwar kann die Entwicklung der Gattung *Chara* auf das Neogen datiert werden (vor 4-12 Mio Jahre, Karol 2004), jedoch wurde das Alter der einzelnen Sektionen bisher nicht bestimmt und könnte viel jüngeren Datums sein. Einzelne Sektionen wie *Hartmania* oder *Chara* könnten sich demzufolge erst in jüngerer Zeit entwickelt haben und damit geringere genetische Unterschiede aufweisen.

Eine weitere mögliche Ursache für die geringe genetische Variabilität könnte in den Eigenschaften als Pionierpflanze zu suchen sein. Zum einen besiedeln sie dabei immer wieder Habitate, dessen ökologische Bedingungen unbekannt sind und zum anderen besitzen sie, basierend auf der Oosporenverteilung durch Wasservögel (Proctor 1962), eine sehr große räumliche Verbreitung. Beide Prozesse erhöhen die Wahrscheinlichkeit, dass sich Linien mit einer großen Plastizität entwickeln (Hendry 2015). Dabei passen Organismen ihren Phänotyp optimal an die jeweils herrschenden ökologischen Bedingungen an, was im Folgenden zu einer Erhöhung der Fitness und damit zur Kolonisierung des Habitats führen kann - ein Prozess, der unter dem Begriff „Baldwin-Effekt“ zusammengefasst wird (Crispo 2007). Neben einer adaptiven Radiation, die im Weiteren zur Erhöhung der genetischen Variabilität führen würde (z. B. tropische Fische, Darwin-Finken), kann aber auch der gegenteilige Effekt auslöst werden. Dabei schirmt die Plastizität den Genotypen vor Selektionsmechanismen ab und verlangsamt damit die genetische Anpassung (Huey und Kingsolver 1993, Linhart und Grant 1996, Byars et al. 2007, Ghalambor et al. 2007). Diese Form der Entwicklung konnte, wenn auch in weit geringerem Maße, bereits für zahlreiche Organismengruppen beobachtet werden (Conover et al. 2009). Jedoch impliziert diese Art der Interpretation, dass Organismen stets den optimalen Phänotypen ausgebildet haben, wobei das Vorhandensein unterschiedli-

cher morphologischer Formen mit identischem Genotyp, die das gleiche Habitat besiedeln, dieser Hypothese widersprechen würde (vergl. *C. baltica* & *C. liljebladii*). Scheiner und Holt (2012) entwickelten, basierend auf Modelluntersuchungen zur Ausbildung genetisch variabler oder plastischer Eigenschaften von Populationen, die Theorie, dass diese unter bestimmten Voraussetzungen eine Hyperplastizität („nonadaptive“) ausbilden können, die in diesem Fall ein Indikator für „bet-hedging“³³ sein könnte. Das Vorhandensein einer großen räumlichen Verbreitung (Vektor Wasservögel) in Verbindung mit einer ebenfalls großen zeitlichen Variation (Dormanz) kann zu einer Vielzahl an nicht-optimal angepassten Phänotypen führen. Da die Fitness über die gesamte Nachkommenschaft bestimmt wird, wächst bei einer plastischen Linie die Wahrscheinlichkeit, dass zumindest einige Individuen produziert werden, die optimal an die zukünftig gegebenen Bedingungen angepasst sind.

Zur Prüfung, inwieweit eine der eben genannten Hypothesen auf die Gattung *Chara* angewendet werden kann, ist sowohl ein Ausbau der taxonomischen, aber auch der regionalen Datenbanken notwendig.

Neben den eben beschriebenen Hypothesen können jedoch auch andere, durchaus vererbare Mechanismen für die Ausbildung von morphologischen oder physiologischen Modifikationen verantwortlich sein, die sich nicht in unterschiedlichen Gensequenzen widerspiegeln und damit durch die weiter oben beschriebenen Methoden auch nicht quantifiziert werden können; dazu gehören Phänomene wie Polyploidisierung oder auch Epigenetik.

Dass Polyploidie sowohl in der Tier-, vor allem aber auch in der Pflanzenwelt immer wieder zur Differenzierung beigetragen hat, ist in der Literatur hinreichend dokumentiert (z. B. Briggs und Walters 1997, siehe Box-Polyploidie) und konnte auch innerhalb der Characeae für die Taxa *N. opaca* (n=6) und *N. flexilis* (n=12) beobachtet werden. Dabei wird davon ausgegangen, dass die doppelte Chromosomenzahl n=12 auf die Hybridisierung zwischen zwei Arten mit n=6 zurückgeht (Sawa 1965, Ramjee und Bhatnagar 1978). Weiterhin kann festgestellt werden, dass von den sechs größten Genomen, die innerhalb der Grünalgen beschrieben wurden, fünf der Gattung *Chara* zugeordnet werden konnten (Bennett und Leitch 2012; z. B.: *C. contraria* 20.000 Mb), wobei eben-

³³ „bet-hedging“ ist eine evolutionäre Strategie, die z.B. innerhalb der Gruppe der Bakterien bereits experimentell untersucht wurde (Beaumont et al. 2009). Dabei produziert eine Generation genetisch identische Nachkommen, die sich jedoch unterschiedlich an gegebene Habitatbedingungen anpassen können – „not to put all your eggs in one basket“.

falls davon ausgegangen wird, dass viele der Arten polyploid sind (Kapraun 2007). Ohne verlässliche Angaben zu Chromosomenzahlen, können solche Vermutungen jedoch weder bestätigt noch verneint werden (siehe Box – Polyploidie).

Sämtliche genetische und nicht-genetische Faktoren, die die Genexpression in den Zellen selektiv verändern und damit unterschiedliche Phänotypen produzieren, werden unter dem Begriff Epigenetik zusammengefasst (Hall 1992). Dazu zählen Regulationsmechanismen, die durch DNA-Methylierung oder Modifikation chromosomaler Proteine (z. B. Histone) hervorgerufen werden (Biemont 2010, Hallgrímsson und Hall 2011, Moazed 2011, Molaro et al. 2011), sowie die Regulation von Genen durch kleine RNA-Moleküle (Kosik 2009, Hallgrímsson und Hall 2011). Aktuelle Studien konnten dabei zeigen, dass epigenetische Regulationen auch intraspezifische Variationen hervorrufen können (z. B. das Größenwachstum oder den Zeitpunkt der Blüte, (Vaughn et al. 2007, Bossdorf et al. 2008, Ambrose und Purugganan 2013)) und dabei experimentell erzeugte Methylierungsmuster über mehrere Generationen vererbt werden (Iwasaki und Paszkowski 2014, Johannes et al. 2009). Auch für die Gattung *Chara* wurden bereits vereinzelt Untersuchungen zur DNA-Methylierung vorgenommen; so konnten Kunachowicz (2001) Variationen zwischen Individuen einer Art darstellen und Schaible (2006) unterschiedliche Methylierungsmuster zwischen parthenogenetischen und diözischen Populationen von *C. canescens* beobachten. Weiterführende Untersuchungen sind notwendig, um zu bestimmen, inwieweit derartige Regulationsmechanismen die Ausbildung unterschiedlicher Phänotypen innerhalb der Gattung *Chara* beeinflussen, oder auch, ob experimentelle Änderungen der Methylierungsmuster veränderte Phänotypen hervorrufen können.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass genetische Methoden und damit der Proximatifaktor genetische Ähnlichkeit durchaus zur Differenzierung von Makroalgen genutzt werden können. Dabei waren die durch die Kladistik erzeugten Stammbäume mit den Artclustern kongruent und boten zudem, wie für die Gattung *Nitella* dargestellt, weiterführende Informationen über intraspezifische Variationen. Darüber hinaus konnte in dieser Studie aber auch gezeigt werden, dass Ergebnisse aus genetischen Analysen widersprüchlich zu dem anderer Konzepte – Morphologie, Ökologie, Biologie – ausfallen können, wobei diese dann nicht *per se* als falsch angesehen werden sollten. Die Wahl der „richtigen“ genetischen Marker ist dabei entscheidend, da eine Parallelität

zwischen Änderungen des Phänotyps und Mutationen innerhalb der traditionell genutzten genetischen Marker nicht unbedingt gegeben sein muss. Eine Erweiterung des genetischen Methodenrepertoires kann dabei im Folgenden zur Aufdeckung von Variationen führen. Aber auch im Falle der „richtigen“ genetischen Marker können Faktoren wie Rückmutationen oder das Vorhandensein von homologen Bereichen die genetische Variabilität unterschiedlicher Arten herabsetzen. Phänomäne wie epigenetische Variationen oder Polyploidie können ebenfalls zu Unterschieden führen, die nicht auf die „bloße“ Nukleotidfolge zurückzuführen sind. Zum anderen können aber auch ultimative Faktoren, die z. B. durch die Funktion der Organismen im Ökosystem, bestimmt werden, Ursachen für hohe genetische Ähnlichkeiten zwischen den Clustern liefern. Genauso wie historische Faktoren, die durch die phylogenetischen oder auch demografischen Strukturen beeinflusst werden, die genetische Variabilität zwischen den Arten oder Populationen beeinflussen können.

Grundsätzlich unterstützen die Ergebnisse dieser Studie die Verwendung pluralistischer Systeme, wobei das Zusammenspiel von proximalen Faktoren - Informationen zur Struktur (z. B. Morphologie, genetische Sequenzen), ultimativen Faktoren - Informationen zur Funktion (z. B. Ökologie, Verhalten) und historischen Faktoren (z. B. Phylogenetik, Demografie) das Gesamtbild einer Art definieren.

BOX – POLYPLOIDIE

Polyploidie

= das Vorhandensein von mehr als zwei vollständigen Chromosomensätzen. Durch Fehler innerhalb der Meiose werden homologen Chromosomen nicht voneinander getrennt. Kann natürlich: durch Stoffwechselstörungen, Umwelteinflüsse (Kälte), oder künstlich: durch Gifte (Colchizin, 8-Hydroxychinolin) induziert werden. Vor allem bei Pflanzen, aber auch bei Tieren, kann Polyploidie zur sympatrischen Artbildung führen.

Allopolyploidie

= Chromosomensätze stammen von verschiedenen Arten (Hybridisierung).

- bei Nutzpflanzen weit verbreitet, z.B.:

Weizen: es existieren diploide (Einkorn), allotetraploide (Dinkel, Emmer, Hartweizen) und sogar allohexaploide Formen (Saatweizen), an deren Entstehung 3 Arten beteiligt waren, ~40 unterschiedliche allopolyploide Formen sind bekannt.

Tabak: ~60 allopolyploide Formen bekannt, Chromosomenzahlen reichen von 36 bis 144.

Autopolyploidie

= Vervielfachung artgener Chromosomensätze.

gesamter Organismus

- bei Nutzpflanzen häufig: triploide Zuckerrübe, Apfelbaum „Gravensteiner“

- aber auch für die Evolution von Pflanzen bedeutend:

→ autotetraploide Formen von *Arabidopsis thaliana* konnten sich schneller als diploiden Verwandte an Extremhabitate anpassen. Ursache: Unterschiede in der Expression von Genen & Methylierungsmustern beeinflussten Prozesse die z.B. mit Photosynthese, Zellwandbau oder Stressmanagement in Verbindung standen (Zheng et al. 2010).

→ Genomverdopplung führte wahrscheinlich zur Symbiose zwischen Leguminosen und Rhizobien. Ursache: ein Teil des Genoms konnte Funktionen aufrecht erhalten, der zweite Teil dagegen durch Mutation neue Funktionen erwerben - Bildung von Wurzelknöllchen (Young et al. 2011).

Endopolyploidie

- nur bestimmte Gewebe oder Zellen des Organismus betroffen

Endocycle

Vermehrung des DNA-Gehalts, aber keine Teilung des Zellkerns z.B. Leberzellen bei Säugetieren

Endomitose

Teilung des Zellkerns, aber nicht der Zelle, z.B. Blatthaare von *Arabidopsis thaliana*

- auch in Kombination zu beobachten (Hautzellen bei Maus & Mensch)

Characeae

In einer Vielzahl der Bestimmungsliteratur sind Angaben zu Chromosomenzahlen unterschiedlicher Taxa aufgeführt, jedoch existieren kaum Informationen zu deren Erhalt:

Wer hat die Zahlen erhoben? Mit welcher Methode? Aus welchen Kompartimenten?

Das führte zu einer Vielzahl an schwer interpretierbaren Werten: für einige Arten existieren zahlreiche Zahlen: *C. contraria* $n=24, 26, 28$ bis >40 ; *C. hispida* $n=28, 36$ (Krause 1997, Lindenbein 1927), dagegen sind für andere keine Angaben zu finden: z.B. *C. rudis*. Bevor Chromosomenzahlen für taxonomische oder systematische Analysen genutzt werden können, müssen vor allem methodische Fragen geklärt werden:

Methodik

Zellwand: Hydrolyse durch Calciumcarbonat-Einlagerungen erschwert (Wang und Dai 2008). Der Einsatz von Pectinasen und Cellulasen kann hilfreich sein.

Metaphase: statistisch höher in meristematischen Geweben, Gehalt kondensierter Chromosomen in Filamenten der Antheridien am höchsten, daher diese oftmals verwendet (Sawa 1965) Aber: Unterschiede im Polyploidiegrad innerhalb der untersuchten Kompartimente bisher kaum berücksichtigt.

Ort der Meiose

Für Characeen gilt bisher die Annahme, dass die eigentliche Alge haploid und die Oospore diploid ist (Shen 1967b). Die einzige bisher belegte Ausnahme bildet dabei die parthenogenetische *C. canescens* (Ernst 1918). Der eigentliche Ort der Meiose konnte bisher noch nicht endgültig geklärt werden: nach Oehlkers (1916) ist es der erste Schritt der **Oosporenkeimung**. Dagegen soll die Meiose nach Gonçalves da Cunha (1936) erst während der Bildung des Sprosses aus dem **Protonema** stattfinden. Sicher ist, dass sie nicht während der Bildung der Spermatozoiden stattfindet, wonach die Filamente der Antheridien folglich haploid sein sollten (Shen 1967a, 1967b).

Aneuploidie & Amitosis

Filamente der Antheridien: unterschiedliche Chromosomenzahlen konnten in den Filamenten von *C. corallina* $n=14, 21, 28, 36, 42$ beobachtet werden - eine Form der Aneuploidie (Endocycle) (Chaudhary und Dash 1991).

Viel-Kernigkeit der Internodialzellen: Amitose (Endomitose), Anzahl der Kerne in den Zellen korreliert mit dessen Größe, z. B.: 56 mm lang, ~ 2000 Kerne, DNA-Gehalt aller Kerne vergleichbar (Shen 1967a).

6. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Anwendbarkeit der grundlegenden Artkonzepte für Makroalgen-Arten zu untersuchen und die Aussagekraft der gegenwärtig zur Artabgrenzung genutzten morphologischer Merkmale mit Hilfe genetischen Analysen zu überprüfen. Dabei sollten die gewonnenen phylogenetischen Informationen als objektives Maß für Verwandtschaftsverhältnisse dienen und mit den Ergebnissen morphologischer Analysen verglichen werden.

Für diese Studie wurden exemplarisch Algen aus der Familie der Characeae (Streptophyta) und der Gattung *Fucus* (Phaeophyceae) verwendet, da in diesen Gruppen aktuell Probleme bei der Artabgrenzung aufgetreten waren. Für die Verwendung beider Gruppen als z. B. Bioindikatoren innerhalb der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (EU-WRRL) sollten innerhalb dieser Arbeit die Abgrenzung einzelner Taxa erörtert werden. Für die genetische Analyse der Gattung *Chara* wurden in unterschiedlichen Datensets drei Chloroplasten- und zwei Kernmarker (~6000 bp) von 32 Individuen aus Schweden, genetisch charakterisiert. Die 15 durch morphologische Charakteristika unterschiedenen Taxa wurden in der phylogenetischen Analyse in 11 genetische Cluster gruppiert. Da mit Hilfe des Chloroplasten-Markers *matK* insgesamt eine der höchsten genetischen Trennungen innerhalb der Gruppe beobachtet werden konnte, wurden in einem weiteren Schritt 219 Individuen der Gattungen *Chara* und *Lamprothamnium* in 15 Ländern Europas und vereinzelt auch in der Ukraine, Russland und N-Afrika gesammelt und ~900 bp des Markers *matK* sequenziert. Dabei konnten die 24 bestimmten morphologischen Taxa ebenfalls in 11 genetische Cluster gruppiert werden. In beiden Analysen wurde jedoch eine geringe genetische Variabilität zwischen den untersuchten morphologischen Taxa, bei einer gleichzeitigen großen morphologischen Plastizität innerhalb der ermittelten genetischen Cluster, deutlich. Auf der einen Seite konnten genetische Haplotypen eindeutig morphologischen Merkmalen/Taxa zugeordnet werden (z. B. *C. tomentosa*, *C. globularis*, *C. canescens*). Auf der anderen Seite konnten aber auch genetische Cluster beobachtet werden, die eine sehr große Spannbreite an morphologischen Ausprägungen zeigten und unterschiedliche Taxa in Gruppen vereinten (z. B. *C. contraria* & *C. filiformis* & *C. denudata* oder *C. virgata* & *C. strigosa*). Mit Hilfe der hier verwendeten genetischen Marker konnte das Makroarten-Konzept von Wood und Imahori (1965) nicht bestätigt werden. So konnte z. B. der Makroart „*C. globularis*“ eine Vielzahl unterschiedlicher genetischer Typen zugeordnet und dabei unterschiedli-

che Taxa voneinander unterschieden werden. Jedoch wurde auch das Mikroarten-Konzept nicht vollständig durch die hier verwendeten genetischen Marker dargestellt. Vor allem innerhalb der Subsektionen *Hartmania* und *Chara*, bei denen die genetischen Analysen auf eine enge Verwandtschaft deuteten, zeigten die unterschiedlichen Morphotypen große genetische Ähnlichkeiten. Unter Verwendung des phylogenetischen Artkonzeptes sind die Gruppen *C. hispida*, *C. rudis* & *C. polyacantha* sowie *C. baltica*, *C. horrida* & *C. liljebladii* als morphologische Ausprägungen einer Art zu interpretieren, wobei die morphologischen Variationen der Cluster von kurzen bis langen Stacheln, Stipularen und Blättchen; über einzelne oder gebündelte Stacheln bis hin zu einer Berindung, die sowohl isostich als auch aula- oder tylacanth ausgebildet sein konnte, reichte.

Basierend auf den gewonnenen genetischen Clustern wurden die derzeit verwendeten morphologischen Merkmale bewertet und gewichtet. Dabei erwiesen sich die Häufigkeit und die Unterteilung anhand einer haplo-, diplo- oder triplostichen Berindung zwischen den genetischen Clustern als konstant. Wohingegen die Unterscheidung zwischen thyla- und aulacanth Taxa (*C. contraria* vs. *C. vulgaris*) oder die Länge von Stipularen und Stacheln (*C. globularis* vs. *C. virgata*) nur innerhalb bestimmter Gruppen mit den genetischen Clustern kongruent war und in anderen Gruppen scheinbar nur Ausdruck einer großen morphologischen Plastizität.

Zur Untersuchung dieser Plastizität bei genetisch identischen Taxa wurden Wachstumsversuche mit *C. baltica* und *C. liljebladii* durchgeführt. Da für diese Taxa bereits die Hypothese vorlag, dass Lichtmangel den Langwuchs von *C. liljebladii* auslöst, eignete sich diese Gruppe besonders für eine derartige Analyse. Dafür wurden für beide Taxa Inkubationsversuche bei 240, 90 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ über vier Wochen durchgeführt und 37 metrische und nicht-metrische Parameter sowohl vor als auch nach dem Experiment aufgenommen und statistisch analysiert. Zusätzlich wurde wöchentlich die Zuwachsrate für jedes Individuum dokumentiert. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass beide Populationen eine große Spannbreite ihrer morphologischen Reaktionen zeigten und dass innerhalb der *C. baltica*-Population unter Lichtmangel eine Verschiebung der morphologischen Merkmale in Richtung einer *C. liljebladii*-Morphologie beobachtet werden konnte. Dennoch waren nach Abschluss des Experiments zwei deutlich voneinander abgrenzbare Gruppen zu erkennen, die mehr Unterschiede zwischen den Populationen als innerhalb der verglichenen Gruppen aufwiesen. Nach dem phylogenetischen Artkonzept sind beide Taxa nicht voneinander zu unter-

scheiden. Jedoch machen die Ergebnisse dieses Teils der Untersuchung deutlich, dass die Identifizierung einer var. *liljebladii* Rückschlüsse auf ökologische Eigenschaften des Habitats, wie Lichtverfügbarkeit oder Trübung möglich macht und eine Unterscheidung beider Formen einen Informationsgewinn bedeutet.

In einem zweiten Teil dieser Arbeit wurde die Abgrenzung von Arten auf der Insel Helgoland genauer untersucht, wobei die Frage geklärt werden sollte, ob es sich bei den seit einiger Zeit auf der Insel anzutreffenden auffälligen Morphotypen um eine bislang nicht auf Helgoland vorkommende Art, einen Hybriden oder eine extreme morphologische Ausprägung einer der bereits auf Helgoland vorkommenden Taxa handelt. Dazu erfolgte eine Erfassung verschiedener morphologischer Parameter, gefolgt von einer genetischen Analyse mit Hilfe eines hochvariablen Kernmarkers. Neben den auf Helgoland vorkommenden Taxa: *F. vesiculosus*, *F. spiralis* (hauptsächlich in der Form var. *platycarpus*) und *F. serratus* wurden, um die Vergleichbarkeit zu Erhöhen, die Taxa *F. cottonii*, *F. radicans*, *F. ceranoides* und *F. distichus* von umgebenden Küstengebieten in die Analysen mit einbezogen. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich alle Individuen mit auffälliger Morphologie sowohl mit den morphologischen als auch mit den genetischen Methoden in das Cluster um *F. vesiculosus* & *F. spiralis* ordneten. Nach den ggw. Kriterien, nach denen die Häusigkeit als diagnostisches Merkmal behandelt wird (ICBN), müssen alle diese Individuen als *F. vesiculosus* (diözisch) gekennzeichnet werden. Bei Anwendung des phylogenetischen Artkonzeptes handelt es sich zumindest bei einigen der untersuchten Individuen um Hybride zwischen *F. vesiculosus* und *F. spiralis* oder auch um umweltbedingte morphologische Anpassungen. Mit dem hier verwendeten genetischen Marker war trotz einer großen genetischen Variabilität keine Unterscheidung der Taxa des *F. vesiculosus* & *F. spiralis*-Clusters möglich.

7. Literaturverzeichnis

- AG Chara (Hrsg.) (in Druck). Armleuchteralgen: Die Characeen Deutschlands. Berlin Heidelberg: Springer.
- Ahmadi, A., Riahi, H., Sheidai, M., Raam, J. (2012). Numerical taxonomy of some charophytes in Iran. *Nordic Journal of Botany* **30**: 206–214.
- Alonso-Blanco, C., Aarts, M.G.M., Bentsink, L., Keurentjes, J.J.B., Reymond, M., Vreugdenhil, D., et al. (2009). What has natural variation taught us about plant development, physiology, and adaptation? *The Plant cell* **21**: 1877–1896.
- Alonso-Blanco, C., Mendez-Vigo, B., Koornneef, M. (2005). From phenotypic to molecular polymorphisms involved in naturally occurring variation of plant development. *The International journal of developmental biology* **49**: 717–732.
- Alvarez, I., Wendel, J.F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution* **29**: 417–434.
- Ambrose, B.A., Purugganan, M. (Hrsg.) (2013). Annual Plant Reviews Volume 45: The Evolution of Plant Form. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Ammon, U. von (2011). Phylogenie ausgewählter *Chara*-Arten. Bachelor. Universität Rostock, Rostock.
- Bäck, S., Collins, J., Russell, G. (1992). Effects of salinity on growth of Baltic and Atlantic *Fucus vesiculosus*. *British Phycological Journal* **27**: 39–47.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Rohl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intra-specific phylogenies. *Molecular biology and evolution* **16**: 37–48.
- Barko, J.W., Hardin, D.G., Matthews, M.S. (1982). Growth and morphology of submersed freshwater macrophytes in relation to light and temperature. *Canadian Journal of Botany* **60**: 877–887.
- Barthet, M.M., Hilu, K.W. (2008). Evaluating evolutionary constraint on the rapidly evolving gene *matK* using protein composition. *Journal of Molecular Evolution* **66**: 85–97.
- Bartsch, I., Kuhlenkamp, R. (2000). The marine macroalgae of Helgoland (North Sea): an annotated list of records between 1845 and 1999. *Helgoland Marine Research* **54**: 160–189.
- Bartsch, I., Tittley, I. (2004). The rocky intertidal biotopes of Helgoland: present and past. *Helgoland Marine Research* **58**: 289–302.

- Beaumont, H.J.E., Gallie, J., Kost, C., Ferguson, G.C., Rainey, P.B. (2009). Experimental evolution of bet hedging. *Nature* **462**: 90–93.
- Bennett, M.D., Leitch, I.J. (2012). Angiosperm DNA C-values Database (Release 8.0, Dec. 2012).
- Bergström, L., Tatarenkov, A., Johannesson, K., Jönsson, R.B., Kautsky, L. (2005). Genetic and morphological identification of *Fucus radicans* sp. nov. (Fucales, Phaeophyceae) in the brackish Baltic Sea. *Journal of Phycology* **41**: 1025–1038.
- Bickford, D., Lohman, D., Sodhi, N., Ng, P., Meier, R., Winker, K., et al. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* **22**: 148–155.
- Biemont, C. (2010). From genotype to phenotype. What do epigenetics and epigenomics tell us? *Heredity* **105**: 1–3.
- Billard, E., Daguin, C., Pearson, G., Serrão, E., Engel, C., Valero, M. (2005a). Genetic isolation between three closely related taxa: *Fucus vesiculosus*, *F. spiralis*, and *F. ceranoides* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* **41**: 900–905.
- Billard, E., Serrão, E.A., Pearson, G.A., Engel, C.R., Destombe, C., Valero, M. (2005b). Analysis of sexual phenotype and prezygotic fertility in natural populations of *Fucus spiralis*, *F. vesiculosus* (Fucaceae, Phaeophyceae) and their putative hybrids. *European Journal of Phycology* **40**: 397–407.
- Billard, E., Serrão, E.A., Pearson, G.A., Destombe, C., Valero, M. (2010). *Fucus vesiculosus* and *spiralis* species complex: a nested model of local adaptation at the shore level. *Marine Ecology Progress Series* **405**: 163–174.
- Blindow, I. (2000). Distribution of charophytes along the Swedish coast in relation to salinity and eutrophication. *International Review of Hydrobiology* **85**: 707–717.
- Blindow, I., Dietrich, J., Möllmann, N., Schubert, H. (2003). Growth, photosynthesis and fertility of *Chara aspera* under different light and salinity conditions. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* **76**: 213–234.
- Blindow, I., Möllmann, N., Boegle, M.G., Schütte, M. (2009). Reproductive isolation in *Chara aspera* populations. *Aquatic Botany* **91**: 224–230.
- Blindow, I., Schütte, M. (2007). Elongation and mat formation of *Chara aspera* under different light and salinity conditions. *Hydrobiologia* **584**: 69–76.
- Bociag, K., Galka, A., Lazarewicz, T., Szmeja, J. (2009). Mechanical strength of stems in aquatic macrophytes. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **78**: 181–187.

- Boegle, M.G., Schneider, S., Mannschreck, B., Melzer, A. (2007). Differentiation of *Chara intermedia* and *C. baltica* compared to *C. hispida* based on morphology and amplified fragment length polymorphism. *Hydrobiologia* **586**: 155–166.
- Boegle, M.G., Schneider, S.C., Melzer, A., Schubert, H. (2010a). Distinguishing *Chara baltica*, *C. horrida* and *C. liljebladii* – conflicting results from analysis of morphology and genetics. *Charophytes* **2**: 53–58.
- Boegle, M.G., Schneider, S.C., Schubert, H., Melzer, A. (2010b). *Chara baltica* Bruzelius 1824 and *Chara intermedia* A. Braun 1859 - Distinct species or habitat specific modifications? *Aquatic Botany* **93**: 195–201.
- Bossdorf, O., Richards, C.L., Pigliucci, M. (2008). Epigenetics for ecologists. *Ecology letters* **11**: 106–115.
- Braun, A. (1839). Ueber den gegenwärtigen Stand einer monographischen Bearbeitung der Gattung *Chara*. *Flora* **22**: 308–311.
- Braun, A. (1882). Fragmente einer Monographie der Characeen. Nach den hinterlassenen Manuscripten A. Braun's herausgegeben von Hrn. Dr. Otto Nordstedt. Berlin: Königliche Akademie der Wissenschaften.
- Briggs, D., Walters, S.M. (1997). Plant variation and evolution 3rd edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- Burrows, E.M., Lodge, S. (1951). Autecology and the species problem in *Fucus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **30**: 161–176.
- Byars, S.G., Papst, W., Hoffmann, A.A. (2007). Local adaptation and cogradient selection in the alpine plant, *Poa hiemata*, along a narrow altitudinal gradient. *Evolution; international journal of organic evolution* **61**: 2925–2941.
- Cairrão, E., Pereira, M., Morgado, F., Nogueira, A., Guilhermino, L., Soares, A. (2009). Phenotypic variation of *Fucus ceranoides*, *F. spiralis* and *F. vesiculosus* in a temperate coast (NW Portugal). *Botanical Studies* **50**: 205–215.
- Cánovas, F.G., Mota, C.F., Serrão, E.A., Pearson, G.A. (2011). Driving south: a multi-gene phylogeny of the brown algal family Fucaceae reveals relationships and recent drivers of a marine radiation. *BMC Evolutionary Biology* **11**: 371.
- Clarke, K.R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* **18**: 117–143.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N. (2006). PRIMER v6: *User Manual/Tutorial*. Plymouth.
- Clarke, K.R., Green, R.H. (1988). Statistical design and analyses for “biological effects” study. *Marine Ecology Progress Series* **46**: 213–226.

- Clarke, K.R., Warwick, R.M. (2001). Change in marine communities: An approach to statistical analysis and interpretation.: *2nd edition*. Plymouth.
- Cohan, F.M. (2002). What are bacterial species? *Annual review of microbiology* **56**: 457–487.
- Coleman, B.D., Mares, M.A., Willig, M.R., Hsieh, Y.-H. (1982). Randomness, Area, and Species Richness: Ecology. *Ecology* **63**: 1121–1133.
- Conover, D.O., Duffy, T.A., Hice, L.A. (2009). The covariance between genetic and environmental influences across ecological gradients: reassessing the evolutionary significance of countergradient and cgradient variation. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1168**: 100–129.
- Corillion, R. (1957). Les Charophycées de France et d'Europe Occidentale. Travaux du Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences d'Angers, fasc. 11 & 12. Reprint 1972. Koenigstein-Taunus: Otto Koeltz Verlag.
- Coyer, J., Hoarau, G., Costa, J., Hogerdijk, B., Serrão, E., Billard, E., et al. (2011). Evolution and diversification within the intertidal brown macroalgae *Fucus spiralis*/*F. vesiculosus* species complex in the North Atlantic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **58**: 283–296.
- Coyer, J.A., Hoarau, G., Oudot-Le Secq, M.-P., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2006a). A mtDNA-based phylogeny of the brown algal genus *Fucus* (Heterokontophyta; Phaeophyta). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **39**: 209–222.
- Coyer, J.A., Hoarau, G., Pearson, G.A., Serrão, E.A., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2006b). Convergent adaptation to a marginal habitat by homoploid hybrids and polyploid ecads in the seaweed genus *Fucus*. *Biology Letters* **2**: 405–408.
- Coyer, J.A., Hoarau, G., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2007). Hybridization and introgression in a mixed population of the intertidal seaweeds *Fucus evanescens* and *F. serratus*. *Journal of Evolutionary Biology* **20**: 2322–2333.
- Coyer, J.A., Peters, A.F., Hoarau, G., Stam, W.T., Olsen, J.L. (2002). Hybridization of the marine seaweeds, *Fucus serratus* and *Fucus evanescens* (Heterokontophyta: Phaeophyceae) in a 100-year-old zone of secondary contact. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **269**: 1829–1834.
- Crispo, E. (2007). The Baldwin effect and genetic assimilation: revisiting two mechanisms of evolutionary change mediated by phenotypic plasticity. *Evolution; international journal of organic evolution* **61**: 2469–2479.

- Croy, C. (1982). *Chara aspera* (Charophyta): breeding pattern in the northern hemisphere. *Phycologia* **21**: 243–246.
- Del Castillo, R.F., Argueta, S.T. (2009). Reproductive implications of combined and separate sexes in a trioecious population of *Opuntia robusta* (Cactaceae). *American Journal of Botany* **96**: 1148–1158.
- Dorken, M.E., Barrett, S.C.H. (2004). Chloroplast haplotype variation among monoecious and dioecious populations of *Sagittaria latifolia* (Alismataceae) in eastern North America. *Molecular Ecology* **13**: 2699–2707.
- Eberlein, L. (2015). Taxonomische Untersuchungen an Characeen mittels DNA-Barcoding. Bachelor. Universität Rostock, Rostock.
- Eddie, B., Krembs, C., Neuer, S. (2008). Characterization and growth response to temperature and salinity of psychrophilic, halotolerant *Chlamydomonas* sp. ARC isolated from Chukchi Sea ice. *Marine ecology progress series* **354**: 107.
- Engel, C.R., Daguin, C., Serrão, E.A. (2005). Genetic entities and mating system in hermaphroditic *Fucus spiralis* and its close dioecious relative *F. vesiculosus* (Fucaeeae, Phaeophyceae). *Molecular Ecology* **14**: 2033–2046.
- Fazekas, A.J., Burgess, K.S., Kesanakurti, P.R., Graham, S.W., Newmaster, S.G., Husband, B.C., et al. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PloS one* **3**: e2802.
- Finet, C., Timme, R.E., Delwiche, C.F., Marlétaz, F. (2010). Multigene phylogeny of the green lineage reveals the origin and diversification of land plants. *Current biology : CB* **20**: 2217–2222.
- Flor-Arnau, N., Reverter, F., Soulié'-Marsche, I., Cambra, J. (2006). Morphological differentiation of *Chara aspera* Detharding ex Willdenow and *Chara galioides* De Candolle under different environmental variables. *Cryptogamie-Algologie* **27**: 435–449.
- Floyd, R., Abebe, E., Papert, A., Blaxter, M. (2002). Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology* **11**: 839–850.
- Forster, P., Torroni, A., Renfrew, C., Röhl, A. (2001). Phylogenetic Star Contraction applied to Asian and Papuan mtDNA evolution. *Molecular biology and evolution* **18**: 1864–1881.
- García, A. (1999). Charophyte Flora of South-eastern South Australia and South-western Victoria, Australia: Systematics, Distribution and Ecology. *Australian Journal of Botany* **47**: 407.

- Ghalambor, C.K., McKay, J.K., Carroll, S.P., Reznick, D.N. (2007). Adaptive versus non - adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional ecology* **21**: 394.
- Gielly, L., Taberlet, P. (1994). The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcL* sequences. *Molecular biology and evolution* **11**: 769–777.
- Godreuil, S., Cohan, F.M., Shah, H., Tibayrenc, M. (2005). Which species concept for pathogenic bacteria? An e-debate. *Infection, Genetics and Evolution* **5**: 375–387.
- Grant, M., Proctor, V. (1972). *Chara vulgaris* and *C. contraria*: Patterns of reproductive isolation for two cosmopolitan species complexes. *Evolution* **26**: 267–281.
- Groves, J., Bullock-Webster, G.R. (1924). The British Charophyta, : *Chareae*. London: Ray Society.
- Hall, B.K. (1992). Evolutionary developmental biology. London: Chapman & Hall.
- Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* **41**: 95–98.
- Hallgrímsson, B., Hall, B. (2011). Epigenetics: linking genotype and phenotype in development and evolution. Berkeley: University of California Press.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* **270**: 313–321.
- Heinrichs, J., Hentschel, J., Feldberg, K., Bombosch, A., Schneider, H. (2009). Phylogenetic biogeography and taxonomy of disjunctly distributed bryophytes. *Journal of Systematics and Evolution* **47**: 497–508.
- Heinrichs, J., Kreier, H., Feldberg, K., Schmidt, A., Zhu, R., Shaw, B., et al. (2011). Formalizing morphologically cryptic biological entities: New insights from DNA taxonomy, hybridization, and biogeography in the leafy liverwort *Porella platyphyllo* (Jungermanniopsida, Porellales). *American Journal of Botany* **98**: 1252–1262.
- Hendry, A.P. (2015). Key Questions on the Role of Phenotypic Plasticity in Eco-Evolutionary Dynamics. *The Journal of heredity*.
- Hewitt, G.M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* **58**: 247–276.
- Hiscock, S. (1979). A field key to the British brown seaweeds (Phaeophyta): *Field Studies Council Occasional Publication 5 (1)*. Dorchester: Dorset. Press.
- Hoek, C. van den (1978). Algen : Einführung in die Phykologie. Stuttgart: Thieme.

- Hollerbach, M.M., Krasavina, L.K. (1983). Charavye Vodorosli—Charophyta. Oprodelitel Presnovodnykh Vodoroslej SSSR. Leningrad: Izdatielstvo “Nauka”.
- Hollingsworth, M.L., Andra Clark, A., Forrest, L.L., Richardson, J., Pennington, R.T., Long, D.G., et al. (2009). Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Molecular ecology resources* **9**: 439–457.
- Hollingsworth, P.M., Graham, S.W., Little, D.P. (2011). Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLOS one* **6**: e19254.
- Holzhausen, A., Nowak, P., Niedrig, C., Feike, M., Schubert, H. (2015). Morphometry of *Chara aspera*, *C. canescens*, *C. baltica* var. *baltica*, *C. baltica* var. *liljebladii* and *C. intermedia* oospores: Local variation versus taxonomic differences. *Aquatic Botany* **120**: 60–66.
- Huey, R.B., Kingsolver, J.G. (1993). Evolution of Resistance to High Temperature in Ectotherms. *The American Naturalist* **142**: S21–S46.
- Iwasaki, M., Paszkowski, J. (2014). Epigenetic memory in plants. *The EMBO journal* **33**: 1987–1998.
- Jacob, F., Jäger, E.J., Ohmann, E. (1994). Botanik. UTB: Gustav Fischer Verlag.
- Janke, K. (1986). Die Makrofauna und ihre Verteilung im Nordost-Felswatt von Helgoland. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* **40**: 1–55.
- Janke, K. (1990). Biological interactions and their role in community structure in the rocky intertidal of Helgoland (German Bight, North Sea). *Helgoländer Meeresuntersuchungen* **44**: 219–263.
- Johannes, F., Porcher, E., Teixeira, F.K., Saliba-Colombani, V., Simon, M., Agier, N., et al. (2009). Assessing the Impact of Transgenerational Epigenetic Variation on Complex Traits. *PLoS Genet* **5**: e1000530.
- Kapraun, D.F. (2007). Nuclear DNA content estimates in green algal lineages: chlorophyta and streptophyta. *Annals of Botany* **99**: 677–701.
- Karol, K.G. (2004). Phylogenetic studies of the Charales: The closest living relatives of land plants. Dissertation. University of Maryland.
- Karol, K.G., McCourt, R.M., Cimino, M.T., Delwiche, C.F. (2001). The Closest Living Relatives of Land Plants. *Science* **294**: 2351–2353.
- Katana, A., Kwiatowski, J., Spalik, K., Zakryś, B., Szalacha, E., Szymańska, H. (2001). Phylogenetic position of *Koliella* (Chlorophyta) as inferred from nuclear and chloroplast small subunit rDNA. *Journal of Phycology* **37**: 443–451.

- Kato, S., Misawa, K., Takahashi, F., Sakayama, H., Sano, S., Kosuge, K., et al. (2011). Aquatic plant speciation affected by diversifying selection of organelle dna regions. *Journal of Phycology* **47**: 999–1008.
- Kato, S., Sakayama, H., Morishima, H., Sano, S., Oomori, Y., Kato, N., et al. (2010). Morphology and molecular phylogeny of *Chara altaica* (Charales, Charophyceae), a monoecious species of the section *Desvauxia*. *Cytologia* **75**: 211–220.
- Kelly, L.J., Ameka, G.K., Chase, M.W. (2010). DNA barcoding of African Podostemaceae (river-weeds): a test of proposed barcode regions. *Taxon* **59**: 251–260.
- Knijff, P. de, Denkers, F., van Swelm N D, Kuiper, M. (2001). Genetic affinities within the herring gull *Larus argentatus* assemblage revealed by AFLP genotyping. *Journal of Molecular Evolution* **52**: 85–93.
- Kommann, P., Sahling, P.H. (1994). Meeresalgen von Helgoland: Zweite Ergänzung. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* **48**,: 365–406.
- Kornmann, P., Sahling, P. (1977). Meeresalgen von Helgoland: Benthische Grün-, Braun- und Rotalgen. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* **29**: 1–289.
- Kosik, K.S. (2009). MicroRNAs tell an evo-devo story. *Nature reviews. Neuroscience* **10**: 754–759.
- Krause, K. (2011). Piecing together the puzzle of parasitic plant plastome evolution. *Planta* **234**: 647–656.
- Krause, W. (1997). Charales (Charophyceae). In A. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig, & D. Mollenhauer (Hrsg.), *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Jena: G. Fischer.
- Kress, W.J., Erickson, D.L., Jones, F.A., Swenson, N.G., Perez, R., Sanjur, O., et al. (2009). Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 18621–18626.
- Kuczewski, O. (1906). Morphologische und biologische Untersuchungen an *Chara delicatula* f. *bulbillifera* A. Braun. *Arbeiten aus dem Laboratorium für allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie* **5**: 1–51.
- Kunachowicz, A. (2001). Comparative karyology, DNA methylation and restriction pattern analysis of male and female plants of the dioecious alga *Chara tomentosa* (Charophyceae). *European Journal of Phycology* **36**: 29.
- Küster, A., Schaible, R., Schubert, H. (2004). Light acclimation of photosynthesis in three charophyte species. *Aquatic Botany* **79**: 111–124.

- Langangen, A. (1979). *Chara canescens* reported from Spitsbergen. *Phycologia* **18**: 436–437.
- Langangen, A. (2000). Charophytes from the warm springs of Svalbard. *Polar Research* **19**: 143–153.
- Leliaert, F., Smith, D.R., Moreau, H., Herron, M.D., Verbruggen, H., Delwiche, C.F., et al. (2012). Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences* **31**: 1–46.
- Lewis, L.A., McCourt, R.M. (2004). Green algae and the origin of land plants. *American Journal of Botany* **91**: 1535–1556.
- Li, X., Yang, Y., Henry, R.J., Rossetto, M., Wang, Y., Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* **90**: 157–166.
- Linhart, Y.B., Grant, M.C. (1996). Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 237–277.
- Lloyd, D.G., Calder, V.L. (1991). Multi - residue gaps, a class of molecular characters with exceptional reliability for phylogenetic analyses. *Journal of Evolutionary Biology* **4**: 9.
- Löytynoja, A., Goldman, N. (2008). Phylogeny-aware gap placement prevents errors in sequence alignment and evolutionary analysis. *Science (New York, N.Y.)* **320**: 1632–1635.
- Lu, H.-Y., Wu, H.-P. (1986). Studies on the Genotype-Environment Interaction of *Arabidopsis thaliana*. *Bot. Bull. Academia Sinica* **27**: 187–207.
- Lu, T.T., Williams, S.L. (1994). Genetic diversity and genetic structure in the brown alga *Halidrys dioica* (Fucales: Cystoseiraceae) in Southern California. *Marine Biology* **121**: 363–371.
- Madsen, J.D., Chambers, P.A., James, W.F., Koch, E.W., Westlake, D.F. (2001). The interaction between water movement, sediment dynamics and submersed macrophytes. *Hydrobiologia* **444**: 71–84.
- Mägdefrau, K. (2013). *Geschichte der Botanik*. Leben und Leistung großer Forscher. Berlin Heidelberg: Springer.
- Mandal, D., Blazencic, J., Ray, S. (2002). SEM study of compound oospore wall ornamentation of some members of Charales from Yugoslavia, Croatia and Slovenia. *Archives of Biological Sciences* **54**: 28–34.

- Mandal, D., Ray, S. (2004). Taxonomic significance of micromorphology and dimensions of oospores in the genus *Chara* L., (Charales, Chlorophyta). *Archives of biological sciences* **56**: 131–137.
- Manhart, J.R. (1994). Phylogenetic Analysis of Green Plant *rbcL* Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 114–127.
- Mannschreck, B. (2003). Genetische und morphologische Differenzierung ausgewählter Arten der Gattung *Chara*. Dissertation. Technischen Universität, München.
- Marcilla, A., Bargues, M.D., Ramsey, J.M., Magallon-Gastelum, E., Salazar-Schettino, P.M., Abad-Franch, F., et al. (2001). The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease. *Molecular phylogenetics and evolution* **18**: 136–142.
- Marquardt, R., Schubert, H., Varela, D.A., Huovinen, P., Henriquez, L., Buschmann, A.H. (2010). Acclimation strategies of three commercially important red algal species. *Aquaculture* **299**: 140–148.
- Mayr, E. (1963). Animal Species and Evolution. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press.
- McCourt, R., Karol, K.G., Guerlisquine, M., Feist, M. (1996). Phylogeny of extant genera in the family Characeae (Division Charophyta) based on *rbcL* sequences and morphology. *American Journal of Botany* **83**: 125–131.
- McCourt, R.M., Karol, K.G., Casanova, M.T., Feist, M. (1999). Monophyly of genera and species of Characeae based on *rbcL* sequences, with special reference to Australian and European *Lychnothamnus barbatus* (Characeae: Charophyceae). *Australian Journal of Botany* **47**: 361–369.
- McCracken, M., Proctor, V., Hotchkiss, A. (1966). Attempted hybridization between monoecious and dioecious clones of *Chara*. *American Journal of Botany* **53**: 937–940.
- Meiers, S., Proctor, V., Chapman, R. (1999). Phylogeny and biogeography of *Chara* (Charophyta) inferred from 18S rDNA sequences. *Australian Journal of Botany* **47**: 347–360.
- Melzer, A. (1988). Der Makrophytenindex - Eine biologischen Methode zur Beurteilung der Nährstoffbelastung von Seen. Habilitationsschrift. TU München.
- Migula, W. (1898). Characearum europaeorum. Illustrierte Beschreibung der Characeen Europas mit Berücksichtigung der übrigen Welttheile. Als Auszug aus dessen Be-

- schreibung der Characeen in Rabenhorst's Kryptogamenflora. Leipzig: Eduard Kummer.
- Mitchell-Olds, T., Willis, J.H., Goldstein, D.B. (2007). Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits? *Nature reviews. Genetics* **8**: 845–856.
- Moazed, D. (2011). Mechanisms for the inheritance of chromatin states. *Cell* **146**: 510–518.
- Molaro, A., Hodges, E., Fang, F., Song, Q., McCombie, W.R., Hannon, G.J., et al. (2011). Sperm methylation profiles reveal features of epigenetic inheritance and evolution in primates. *Cell* **146**: 1029–1041.
- Munda, I.M., Kremer, B.P. (1997). Morphological variation and population structure of *Fucus* spp. (Phaeophyta) from Helgoland. *Nova Hedwigia* **64**: 67–86.
- Nagy, L.G., Kocsubé, S., Csanádi, Z., Kovács, G.M., Petkovits, T., Vágvolgyi, C., et al. (2012). Re-Mind the Gap! Insertion – Deletion data reveal neglected phylogenetic potential of the nuclear ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) of Fungi. *PLOS one* **7**: e49794.
- Neiva, J., Pearson, G.A., Valero, M., Serrão, E.A. (2012). Drifting fronds and drifting alleles: range dynamics, local dispersal and habitat isolation shape the population structure of the estuarine seaweed *Fucus ceranoides*. *Journal of Biogeography* **39**: 1167–1178.
- Neiva, J., Pearson, G.A., Valero, M., Serrão, E.A. (2010). Surfing the wave on a borrowed board: range expansion and spread of introgressed organellar genomes in the seaweed *Fucus ceranoides* L. *Molecular Ecology* **19**: 4812–4822.
- Newmaster, S.G., Ragupathy, S. (2009). Testing plant barcoding in a sister species complex of pantropical *Acacia* (Mimosoideae, Fabaceae). *Molecular ecology resources* **9 Suppl.1**: 172–180.
- Nozaki, H., Ohta, N., Takano, H., Watanabe, M.M. (1999). Reexamination of phylogenetic relationships within the colonial Volvocales (Chlorophyta): an analysis of *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Journal of Phycology* **35**: 104–112.
- O'Reilly, C.L., Cowan, R.S., Hawkins, J.A. (2007). Amplified fragment length polymorphism genetic fingerprinting challenges the taxonomic status of the near-endemic species *Chara curta* Nolte ex Kütz. (Characeae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **155**: 467–476.

- Palinska, K.A., Surosz, W. (2014). Taxonomy of cyanobacteria: A contribution to consensus approach. *Hydrobiologia* **740**: 1–11.
- Penning, W., Mjelde, M., Dudley, B., Hellsten, S., Hanganu, J., Kolada, A., et al. (2008). Classifying aquatic macrophytes as indicators of eutrophication in European lakes. *Aquatic Ecology* **42**: 237–251.
- Perez, W., Hall, J., McCourt, R., Karol, K.G. (2014). Phylogeny of North America *Tolypella* (Charophyceae, Charophyta) based on plastid DNA Sequences with a description of *Tolypella ramosissima* sp. nov. *Journal of Phycology* **50**: 776–789.
- Perrin, C., Daguin, C., van de Vliet, M., Engel, C.R., Pearson, G.A., Serrão, E.A. (2007). Implications of mating system for genetic diversity of sister algal species: *Fucus spiralis* and *Fucus vesiculosus* (Heterokontophyta, Phaeophyceae). *European Journal of Phycology* **42**: 219–230.
- Pigliucci, M. (2001). Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture: Johns Hopkins University Press.
- Piredda, R., Simeone, M.C., Attimonelli, M., Bellarosa, R., Schirone, B. (2011). Prospects of barcoding the Italian wild dendroflora: oaks reveal severe limitations to tracking species identity. *Molecular ecology resources* **11**: 72–83.
- Poorter, L. (1999). Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology* **13**: 396–410.
- Proctor, V. (1980). Historical biogeography of *Chara* (Charophyta): An appraisal of the Braun-Wood classification plus a falsifiable alternative for future consideration. *Journal of Phycology* **16**: 218–233.
- Proctor, V.W. (1962). Viability of *Chara* Oospores Taken from Migratory Water Birds. *Ecology* **43**: 528–529.
- Proctor, V.W. (1971). *Chara globularis* Thuillier (= *C. fragilis* Desvaux): Breeding patterns within a cosmopolitan complex. *Limnology and Oceanography* **16**: 422–436.
- Pukacz, A., Boszke, P., Pelechaty, M.J., Raabe, U. (2012). Comparative study of the oospore morphology of two populations of a rare species *Chara baueri* A. Braun in Cedynia (Poland) and Batzlow (Germany). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **81**: 131–136.
- Raabe, U. (2009). *Chara baueri* rediscovered in Germany - plus additional notes on Gustav Heinrich Bauer (1794-1888) and his herbarium. *International Research Group on Charophytes News* **20**: 13–16.

- Raam, J.C. van (1995). The Characeae of Tasmania. *Nova Hedwigia* **110**: 1–80.
- Rahat, M., Dimentman, C. (1982). Cultivation of bacteria-free *Hydra viridis*: missing budding factor in nonsymbiotic hydra. *Science (New York, N.Y.)* **216**: 67–68.
- Ramjee, Bhatnagar, S.K. (1978). Significance of a new chromosome number in *Nitella mirabilis* Nordst. ex Groves em. R.D.W. *Hydrobiologia* **57**: 99–101.
- Ran, J.-H., Wang, P.-P., Zhao, H.-J., Wang, X.-Q. (2010). A test of seven candidate barcode regions from the plastome in *Picea* (Pinaceae). *Journal of integrative plant biology* **52**: 1109–1126.
- Ray, S., Pekkari, S., Snoeijs, P. (2001). Oospore dimensions and wall ornamentation patterns in Swedish charophytes. *Nordic Journal of Botany* **21**: 207–224.
- Reich, P.B., Tjoelker, M.G., Walters, M.G., Vanderklein, D.W., Buschena, C. (1998). Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedlings of nine boreal tree species grown in high and low light. *Functional Ecology* **12**: 327–338.
- Reichert, K., Buchholz, F., Giménez, L. (2008). Community composition of the rocky intertidal at Helgoland (German Bight, North Sea). *Helgoland Marine Research* **62**: 357–366.
- Ren, B.-Q., Xiang, X.-G., Chen, Z.-D. (2010). Species identification of *Alnus* (Betulaceae) using nrDNA and cpDNA genetic markers. *Molecular ecology resources* **10**: 594.
- Rey-Boissezon, A., Auderset Joye, D. (2015). Habitat requirements of charophytes—Evidence of species discrimination through distribution analysis. *Aquatic Botany* **120**: 84–91.
- Robba, L., Russell, S.J., Barker, G.L., Brodie, J. (2006). Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* **93**: 1101–1108.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572–1574.
- Russell, G. (1988). The seaweed flora of a young semi-enclosed sea: The Baltic. Salinity as a possible agent of flora divergence. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* **42**: 243–250.
- Ruuskanen, A., Bäck, S. (1999). Morphological variation of northern Baltic Sea *Fucus vesiculosus* L. *Ophelia* **50**: 43–59.

- Sakayama, H. (2008). Taxonomy of *Nitella* (Charales, Charophyceae) based on comparative morphology of oospores and multiple DNA marker phylogeny using cultured material. *Phycological Research* **56**: 202–215.
- Sakayama, H., Hara, Y., Arai, S., Sato, H., Nozaki, H. (2004a). Phylogenetic analyses of *Nitella* subgenus *Tieffallenia* (Charales, Charophyceae) using nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Phycologia* **43**: 672–681.
- Sakayama, H., Hara, Y., Nozaki, H. (2004b). Taxonomic re-examination of six species of *Nitella* (Charales, Charophyceae) from Asia, and phylogenetic relationships within the genus based on *rbcL* and *atpB* gene sequences. *Phycologia* **43**: 91–104.
- Sakayama, H., Nozaki, H., Kasaki, H., Hara, Y. (2002). Taxonomic re-examination of *Nitella* (Charales, Charophyceae) from Japan, based on microscopical studies of oospore wall ornamentation and *rbcL* gene sequences. *Phycologia* **41**: 397–408.
- Sanders, E.R., Karol, K.G., McCourt, R.M. (2003). Occurrence of *matK* in a *trnK* groupII intron in charophyte green algae and phylogeny of the Characeae. *American Journal of Botany* **90**: 628–633.
- Sarma, Y., Khan, M. (1967). Dioecism and monoecism as taxonomic criteria in Charophyta. *Current Science* **36**: 243–247.
- Sawa, T. (1965). Cytotaxonomy of the Characeae: Karyotype Analysis of *Nitella opaca* and *Nitella flexilis*. *American Journal of Botany* **52**: 962–970.
- Schaible, R. (2006). Studien zur Parthenogenese bei *Chara canescens* (Charophyceae). Dissertation. Universität Rostock, Rostock.
- Schaible, R., Bergmann, I., Bögle, M., Schoor, A., Schubert, H. (2009). Genetic characterisation of sexually and parthenogenetically reproductive populations of *Chara canescens* (Charophyceae) using AFLP, *rbc L*, and SNP markers. *Phycologia* **48**: 105–117.
- Schaible, R., Gerloff-Elias, A., Colchero, F., Schubert, H. (2012). Two parthenogenetic populations of *Chara canescens* differ in their capacity to acclimate to irradiance and salinity. *Oecologia* **168**: 343–353.
- Scheiner, S.M., Holt, R.D. (2012). The genetics of phenotypic plasticity. X. Variation versus uncertainty. *Ecology and evolution* **2**: 751–767.
- Schlunbaum, G., Baudler, H., Nausch, G. (1994). Die Darß-Zingster Boddenkette – ein typisches Flachwasserästuar an der südlichen Ostseeküste. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* **2**: 5–26.

- Schmidt, L. (2011). Morphologische Untersuchungen der Helgoländer *Fucus* Arten. Bachelor. Universität Rostock, Rostock.
- Schmitz-Linneweber, C., Lampe, M.-K., Sultan, L.D., Ostersetzer-Biran, O. (2015). Organellar maturases: A window into the evolution of the spliceosome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*: -.
- Schneider, S., Ziegler, C., Melzer, A. (2006). Growth towards light as an adaptation to high light conditions in *Chara* branches. *New Phytologist* **172**: 83–91.
- Schneider, S.C., Pichler, D.E., Andersen, T., Melzer, A. (2015a). Light acclimation in submerged macrophytes: The roles of plant elongation, pigmentation and branch orientation differ among *Chara* species. *Aquatic Botany* **120**: 121–128.
- Schneider, S.C., Rodrigues, A., Moe, T.F., Ballot, A., Clerck, O. de (2015b). DNA barcoding the genus *Chara*: Molecular evidence recovers fewer taxa than the classical morphological approach. *Journal of Phycology* **51**: 367–380.
- Schubert, H., Bahnwart, M., Blümel, C., Eggert, A., Krause, J., Rieling, T., et al. (2005). Ökologische Bewertung innerer Küstengewässer mittels Phytoplankton, Makroalgen und Angiospermen. *Limnologie Aktuell* **11**: 151–164.
- Schubert, H., Blindow, I. (Hrsg.) (2004). Charophytes of the Baltic Sea. Ruggell: Gantner.
- Schubert, H., Blindow, I., Weyer, K. van de (in Druck). Kapitel 12.15 *Chara subspinos*a. In AG Chara (Hrsg.), *Armleuchteralgen: Die Characeen Deutschlands* (S. 228–239). Berlin Heidelberg: Springer.
- Selig, U., Eggert, A., Schories, D., Schubert, M., Blümel, C., Schubert, H. (2007). Ecological classification of macroalgae and angiosperm communities of inner coastal waters in the southern Baltic Sea. *Ecological Indicators* **7**: 665–678.
- Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., et al. (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* **92**: 142–166.
- Shi, W.-F., Zhu, C.-D. (2007). Coding and applying gaps in phylogenetic analyses. *Acta Zootaxonomica Sinica* **32**: 1–5.
- Simmons, M.P., Müller, K., Norton, A.P. (2007). The relative performance of indel-coding methods in simulations. *Molecular phylogenetics and evolution* **44**: 724–740.
- Simmons, M.P., Ochoterena, H. (2000). Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* **49**: 369–381.

- Sommer, V. (2013). Phänologische Aspekte des phänetischen Artkonzepts bei Characeen. Bachelor. Universität Rostock, Rostock.
- Spooner, D.M. (2009). DNA barcoding will frequently fail in complicated groups: An example in wild potatoes. *American Journal of Botany* **96**: 1177–1189.
- Stackebrandt, E., Goebel, B.M. (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **44**: 846–849.
- Steinhardt, T., Karez, R., Selig, U., Schubert, H. (2009). The German procedure for the assessment of ecological status in relation to the biological quality element “Macroalgae & Angiosperms” pursuant to the European Water Framework Directive (WFD) for inner coastal waters of the Baltic Sea. *Rostocker Meeresbiologische Beiträge* **22**: 7–42.
- Stoeckle, M. (2003). Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. *BioScience* **53**: 796–797.
- Stravinskas, M. (2014). Einfluss von Umweltfaktoren auf die Morphologie von Characeae. Masterarbeit. Universität Rostock, Rostock.
- Swofford, D.L. (1998). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sunderland, Massachusetts.: Sinauer Associates.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* **30**: 2725–2729.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**: 4673–4680.
- Urbaniak, J., Combik, M. (2013). Genetic and morphological data fail to differentiate *Chara intermedia* from *C. baltica* or *C. polyacantha* and *C. rudis* from *C. hispida*. *European Journal of Phycology* **48**: 253–259.
- Vaughn, M.W., Tanurdzic, M., Lippman, Z., Jiang, H., Carrasquillo, R., Rabinowicz, P.D., et al. (2007). Epigenetic natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS biology* **5**: e174.
- Wallace, A.L., Klein, A.S., Mathieson, A.C. (2004). Determining the affinities of salt marsh fucoids using microsatellite markers: evidence of hybridization and introgres-

- sion between two species of *Fucus* (Phaeophyta) in a Maine estuary. *Journal of Phycology* **40**: 1013–1027.
- Wichard, T. (2015). Exploring bacteria-induced growth and morphogenesis in the green macroalga order Ulvales (Chlorophyta). *Frontiers in Plant Science* **6**: 86.
- Wille, N. (1897). Characeae. In A. Engler (Hrsg.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig: W. Engelmann.
- Wodniok, S., Brinkmann, H., Glöckner, G., Heidel, A.J., Philippe, H., Melkonian, M., et al. (2011). Origin of land plants: Do conjugating green algae hold the key? *BMC Evolutionary Biology* **11**: 104.
- Wood, R.D., Imahori, K. (1965). A revision of the Characeae. First Part: Monograph of the Characeae. Weinheim: Verlag von J. Cramer.
- Wüstenberg, A., Pörs, Y., Ehwald, R. (2011). Culturing of stoneworts and submersed angiosperms with phosphate uptake exclusively from an artificial sediment. *Freshwater Biology* **56**: 1531–1539.
- Zardi, G.I., Nicastro, K.R., Canovas, F., Costa, J.F., Serrão, E.A., Pearson, G.A. (2011). Adaptive traits are maintained on steep selective gradients despite gene flow and hybridization in the intertidal zone. *PLOS one* **6**: e19402.
- Zhang, L., Li, W.-H. (2004). Mammalian housekeeping genes evolve more slowly than tissue-specific genes. *Molecular biology and evolution* **21**: 236–239.

8. Anhang

Tabelle A1 Liste der Characeae-Proben, die in diese Untersuchung eingegangen sind. Die Verwendung in den verschiedenen Datensets ist vor jeder Probe gekennzeichnet: ¹"CHARA-EUROPA", ²"CHARA-SCHWEDEN", ³"NITELLA". Zusätzlich sind die Nominae der Erstbeschreibungen, die für die hier analysierten Taxa verwendet wurden, aufgenommen. Für die aus der GenBank verwendeten Sequenzen sind diese ebenfalls aufgeführt, soweit dies in der zugehörigen Veröffentlichung gekennzeichnet war.

Art	Probnr.	Land Ort	Jahr	Bemerkungen
<i>Chara aspera</i>				
(Chara aspera Willd., Mag. Neuesten Entdeck. Gesamten Naturk. Ges. Naturf. Freunde Berlin 3: 298. 1809)				
	¹ L1-1	D Fehmarn, Orther Bucht	2015	12-14 PSU
	¹ L1-2	D Fehmarn, Orther Bucht	2015	12-14 PSU
	¹ L3	D Fehmarn, Orther Bucht	2015	12-14 PSU
	¹ R1-2	D Insel Vilm	2014	7 PSU
	¹ R1-3	D Insel Vilm	2014	7 PSU
	¹ AH03-Feb15	F Treguennéc	2013	0,3 PSU
	¹ CS31	F Charbonnières	2012	±10m
	¹ DH1b	GB Martham S	2011	
	^{1,2} GJ51	S Slada area	2009	Süßwasser
	^{1,2} GJ53	S Slada area	2009	Süßwasser
	^{1,2} BR02	S Baltic Sea	2009	Brackwasser
	^{1,2} BR05	S Baltic Sea	2009	Brackwasser
	¹ B1-2	D Breitling	2014	
	¹ W01	A Weißsee	2014	1,3 PSU
<i>Chara baltica</i>				
(Chara baltica (Hartman) Bruzelius, Observ. Charae: 11. 1824)				
	¹ BH07	D "Grieben Bucht"	2005	
	¹ BH09	D "Grieben Bucht"	2005	
	¹ VS01	D DZB, Zingst	2013	
	¹ DH3b	GB Martham S	2011	
	¹ NS02	GB Loch an Duin	2009	
	¹ 14KW-02	I Sardinien	2015	brackig
	^{1,2} GJ96	S Östersjö brygga	2009	
	^{1,2} GJ98	S Östersjö brygga	2009	
	¹ 14KW-01	I Sardinien	2014	3,4 PSU
<i>Chara baueri</i>				
(Chara baueri A. Braun, Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Gesamten Naturwiss. 10(3): 13. 1847)				
	¹ UR2	D Brandenburg	2011	
	³ UR01	D Brandenburg	2011	
	³ UR02	D Brandenburg	2011	
<i>Chara braunii</i>				
(Chara braunii C.C. Gmelin, Fl. Bad. 4: 646. 1826.)				
	³ AB606676	JP Okinawa		Kato et al. 2011
<i>Chara canescens</i>				
(Chara canescens Loisel., Not. Fl. France: 139. 1810)				
	¹ SG1-fem	AT Stinker-Graben	2014	diözisch
	¹ CC-BS01	D Borkener See	2014	0,41 PSU
	¹ CC-DZ01	D DZBK, Kirr-Bucht	2011	
	¹ AL02	N Svalbard, Trllkjeldane	1992	
	¹ GeSa14	IT Sardinien, Nordküste	2009	
	¹ SR47	E M4-3	2010	

¹ SR49	E	M4-3	2010	
¹ SR51	E	M4-2	2010	
¹ SR52	E	M4-2	2010	
¹ SR53	E	M4-2	2010	
¹ SR54	E	MFTN-2	2010	
¹ SR55	E	MFTN-2	2010	
¹ SR56	E	MFTN-2	2010	
¹ SR70	E	M4(3)	2010	
¹ SR71	E	M4(4)	2010	
¹ SR72	E	M4(4)	2010	
^{1, 2} SV20	S	Kalmarsund	2003	
^{1, 2} SV22	S	Kalmarsund	2003	
<i>Chara connivens</i>				
(Chara connivens Salzm. ex A. Braun, Flora 18: 73. 1835)				
¹ GJ31	S	Klubben, Baltic Sea	2009	
^{1, 2} GJ37 ¹	S	Klubben, Baltic Sea	2009	
^{1, 2} GJ38 ¹	S	Klubben, Baltic Sea	2009	
¹ N1-2a	D	Neuensiener See	2015	
¹ N1-5a	D	Neuensiener See	2015	
¹ N1-5b	D	Neuensiener See	2015	
¹ N1-5c	D	Neuensiener See	2015	
¹ 001NS-22	PL	Wickko Lake	2012	
¹ 001NS-42	PL	Wickko Lake	2012	
¹ AY170442	E	Northeastern Spain		Sanders et al. 2003
<i>Chara contraria</i>				
(Chara contraria A. Braun ex Kütz., Phycol. Germ.: 258. 1845)				
¹ 10AD10c	D	Kulkwitzer See	2010	stark bestachelte Form
¹ 10AD10e	D	Kulkwitzer See	2010	stark bestachelte Form
¹ 10AD22b	D	Rückhaltebecken Stöhma	2010	teilberindete Formen
¹ 12AD18e	D	Seelhausener See	2012	längere Stacheln und Blättchen
¹ 12AD2a	D	Werbelineer See	2012	teilberindet
¹ 12AD2c	D	Werbelineer See	2012	teilberindet
¹ 12AD4d	D	Seelhausener See	2012	hispidula-Form
¹ AH2	D	Goitzsche	2013	0,55 PSU
¹ CS29	F	Charbonnières	2012	±10m
¹ CS34	F	St Maurice de Gourdans	2012	±10m
¹ CS35	F	St Maurice de Gourdans	2012	±10m
¹ DH5d	GB	Upton	2011	
¹ NS12	GB	King's Dyke 3a/P12	2010	
¹ NS14	GB	King's Dyke 2a/P7	2010	
¹ NS27	GB	Parker's Piece	2010	
^{1, 2} TK82	S	Tåsjön	2009	
^{1, 2} TK86	S	Tåsjön	2009	
¹ TK88	S	Tåsjön	2009	
¹ 12AD21a	D	Seelhausener See	2012	hispidula-Form
¹ 12AD21b	D	Seelhausener See	2012	
¹ BSII-Chara01	D	Borkener See	2015	0,41 PSU

Chara denudata^a*(Chara dissoluta* A. Braun ex Leonhardi, Verh. Naturf. Vereins Brünn 2: 182. 1864)

¹ A2	D	Bodensee,	2010	>7m
¹ B3	D	Bodensee,	2010	>4m
¹ DJ20	AT	Bodensee	2012	
¹ DJ21	AT	Bodensee	2012	
¹ DJ22	AT	Bodensee	2012	
¹ KW04	IE	County Meath, Lough Bane	2010	

*Chara filiformis**(Chara filiformis* A. Braun in Hertzsch, Hedwigia 1: 81. 1855)

^{1,2} TK67 ¹	S	Levrasjön	2009	
^{1,2} TK691	S	Levrasjön	2009	
¹ TK70	S	Levrasjön	2009	
¹ SO5	D	Nehmitz	2013	
¹ SO8	D	Giesenschlag	2013	

*Chara galioides**(Chara galioides* DC., Cat. Pl. Horti Monsp.: 93. 1813)

¹ E1-12	E	La Algaida	2015	Weiblich
¹ E1-8	E	La Algaida	2015	Männlich
¹ SR11	E	M4	2010	
¹ SR12-1	E	M4	2010	
¹ SR40	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR41	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR44	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR57	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR59	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR61	E	M4(1)	2010	Weiblich
¹ SR62	E	MFTN(1)	2010	Weiblich
¹ SR64	E	MFTN(1)	2010	Weiblich
¹ SR65	E	MFTN(1)	2010	Weiblich
¹ SR67	E	MFTN-2	2010	Weiblich
¹ SR76	E	MFTN-4	2010	Weiblich
¹ SR77	E	MFTN-4	2010	Männlich
¹ SR78	E	MFTN(1)	2010	Männlich
¹ SR79	E	MFTN(1)	2010	Weiblich
¹ UW13	GR	Pelepones, Konnonpelli	2009	
¹ UW15	GR	Pelepones, Konnonpelli	2009	

*Chara globularis**(Chara globularis* Thuill., Fl. Env. Paris, ed. 2: 472. 1799)

¹ AH05-Fe15	D	Stoßdorfer See	2014	Keimung; 0,45 PSU
¹ AH1	D	Müritz-Nationalpark	2012	
¹ AH3	D	Kronwald bei Loitz, MV	2013	Keimung
¹ IW13	D	Gr. Wummsee	2012	Stipularen oben leicht verlängert
¹ IW5a	D	Drewitzer See, MV	2012	Stipularen oben leicht verlängert
¹ IW5b	D	Drewitzer See, MV	2012	
¹ Sts19	D	Stoßdorfer See	2015	Keimung
¹ SO20s	D	Pätschsee, Gr.	2013	
¹ SO21	D	Pätschsee, Gr.	2013	Stipularen oben leicht verlängert
¹ SO26	D	Hinnensee	2013	
¹ SO29	D	Kiesgrube Untermühle,	2013	
¹ SO4	D	Nehmitz	2013	
¹ AH02-Fe15	DK	Lange Land,	2014	Keimung

¹ DH6a	GB	Hassingham	2011	
¹ DH7c	GB	Calthorpe	2011	
¹ OL3	RU	St. Petersdorf,	2014	
^{1, 2} GJ29 ¹	S	Annelund	2009	
^{1, 2} GJ30 ¹	S	Annelund	2009	
¹ AH07-15C01	D	Stoßdorfer See	2014	Keimung
¹ CG1	D	Goitsche, ST	2015	Keimung
¹ LB9	LT	Lake Balsys	2014	0,15 PSU
<i>Chara gymnophylla</i>				
(Chara gymnophylla (A. Braun) A. Braun, Flora 18: 62. 1835)				
¹ AH-Tu1	TN	Tunesien, Atlasgebirge	2014	
<i>Chara hispida</i>				
(Chara hispida L., Sp. Pl. 2: 1156. 1753)				
¹ CS11	CH	Geroudet GE	2012	±10m
¹ CS14	CH	Geroudet GE	2012	±10m
¹ CS20	CH	Fencheren Worben	2012	±10m
¹ CS24	CH	Tannenholtz Kappellen	2012	±10m
¹ HD3-2	D	Sassnitz	2013	häufig isostich
¹ IW2	D	Gipsgrube bei Zossen	2012	
¹ SR13-2	E	MFP	2010	
¹ DH2b	GB	Martham S	2011	
¹ NS15	GB	Wicken Fen	2010	
¹ NS16	GB	King's Dyke	2010	
¹ NS17	GB	Parker's Piece	2010	
¹ NS20	GB	Hinderclay Fen	2010	
¹ NS28	GB	Blo'Norton Fen	2010	
^{1, 2} TK48	S	Kappsäcken	2009	
¹ TK49	S	Kappsäcken	2009	
^{1, 2} TK50	S	Kappsäcken	2009	
¹ AH1-Okt	F	Sant-Vio	2014	0,3 PSU
¹ AH4-Okt	DK	Kaedeby	2014	Süßwasser
¹ SO32	D	Gramzowseen	2013	
¹ UW16	D	Brandenburg	2012	Salzstelle
¹ His01-E	F	Saint Vio	2014	0,3 PSU
¹ NS18	GB	Countybridge Quarry	2010	<i>C. hispida "baltica" var. affinis</i>
¹ NS21	GB	Trevassack Quarry	2010	
¹ NS22	GB	Mullion Quarry	2010	
¹ CS25	F	Lône de la Plaine	2012	
¹ 15AH1	F	Saint Vio	2014	0,3 PSU
<i>Chara horrida</i>				
(Chara horrida Wahlst., Bidrag Skand. Charac.: 24. 1862)				
^{1, 2} GJ86 ¹	S	Urfjärden, Baltic Sea	2009	
^{1, 2} GJ87 ¹	S	Urfjärden, Baltic Sea	2009	
¹ HT07	S	Torstävaviken	2005	
¹ HT09	S	Torstävaviken	2005	
<i>Chara intermedia</i>				
(Chara intermedia A. Braun ex A. Braun, Rabenh. & Stizenb., Charac. Eur. 2/46. 1859, n. inv. [Belege vom Bodensee])				
¹ IW11	D	Uckermark	2012	Süßwasser
¹ CS36	CH	Uesgruet Flaach	2012	
¹ CS27	F	Charbonnières	2012	±10m
¹ DH4a	GB	Martham S	2011	
¹ IM04	S	Mellansjön	2005	Süßwasser
¹ IM05	S	Mellansjön	2005	Süßwasser

¹ IM06	S	Mellansjön	2005	Süßwasser
¹ IM07	S	Mellansjön	2005	Süßwasser
^{1,2} TK31	S	Kappsäcken	2009	Süßwasser
¹ TK33	S	Kappsäcken	2009	Süßwasser
^{1,2} TK35	S	Kappsäcken	2009	Süßwasser
¹ SO31	D	Kiesgrube Untermühle	2013	Süßwasser
¹ OB01	UA	Ukraine	2011	Süßwasser
¹ SO11	D	Wummsee	2013	mehr isostich
¹ SO3	D	Nehmitz	2013	mehr isostich
¹ SO7	D	Giesenschlag	2013	mehr isostich
¹ SO31	D	Kiesgrube Untermühle	2013	Süßwasser
¹ CS18	CH	Gütighauser Weiher	2012	±10m
<i>Chara papillosa</i>				
(Chara papillosa Kütz., Flora 17: 707. 1834)				
¹ AH04-Feb15	D	Röblingen	2014	
<i>Chara liljebladii</i>				
(Chara liljebladii Wallman, Kongl. Vetensk.-Akad. Handl. 1852: 314 [≡ Chara baltica (Hartman) Bruzelius var. liljebladii (Wallman) H. Schub., Blindow & K. Weyer 2015, comb. nov.])				
^{1,2} LS01	D	DZB, Michaelsdorf	2013	
^{1,2} LS02	D	DZB, Michaelsdorf	2013	
¹ LS03	D	DZB, Michaelsdorf	2013	
¹ LS05	D	DZB, Michaelsdorf	2013	
<i>Chara longifolia</i>				
(Chara longifolia Robinson, Bull. Xew York Bot. Gard. 4: 272. 1906)				
¹ AY170444	CA	Saskatchewan		Sanders et al. 2003
<i>Chara polyacantha</i> ^b				
(Chara polyacantha A. Braun ex A. Braun, Rabenh. & Stizenb., Charac. Eur. 2/48.)				
¹ NS24	GB	King's Dyke 3a/P12	2010	
¹ AY170445	F	Northeastern France		Sanders et al. 2003
¹ TK102	S	Gullakrokssjön	2009	
¹ TK107	S	Gullakrokssjön	2009	
¹ TK108	S	Gullakrokssjön	2009	
<i>Chara rudis</i> ^c				
(Chara rudis (A. Braun) Leonh., Verh. Naturf. Vereins Brünn 2: 66. 1864)				
¹ NS19	GB	Branxholme Easter Loch	2009	
¹ OL10	RU	Olga Teich, St. Petersdorf,	2014	
¹ OL8	RU	Olga Teich, St. Petersdorf,	2014	
¹ TK11	S	Djupadalen	2009	
^{1,2} TK13	S	Djupadalen	2009	
^{1,2} TK18	S	Djupadalen	2009	
¹ SO1	D	Nehmitz	2013	
¹ SO14	D	Wummsee	2013	
¹ SO9	D	Giesenschlag	2013	
<i>Chara strigosa</i>				
(Chara strigosa A. Braun, Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Gesamnten Naturwiss. 10(3): 16. 1847)				
¹ ES V4	EST	Estland	2010	
¹ KR12-11	D	Quellgebiet bei Oberau	2011	
<i>Chara tenuispina</i>				
(Chara tenuispina A. Braun, Flora 18: 68. 1835)				
¹ UW3	D	Brandenburg, Glindow	2013	
¹ UW5	D	Brandenburg, Glindow	2013	

Chara tomentosa

(Chara tomentosa L., Sp. Pl. 2: 1156. 1753)

^{1,2} GJ01	S	Hållet, Baltic Sea	2009
^{1,2} GJ05	S	Hållet, Baltic Sea	2009
¹ CS21	CH	Fencheren Worben	2012 ±10m
¹ SO2	D	Nehmitz	2013
¹ SO6	D	Giesenschlag	2013
¹ SO12	D	Wummsee	2013
¹ SO16	D	Pätschsee, Gr.	2013
¹ SO23	D	Wittwese	2013

Chara virgata

(Chara virgata Kütz., Flora 17: 705. 1834)

¹ PS1	D	Feldberger Seenplatte	2011
^{1,2} GJ41	S	Slada area	2009
^{1,2} GJ43	S	Slada area	2009
¹ SO10	D	Wummsee	2013
¹ AY170443	D	urspr. als <i>C. globularis</i> bestimmt, Sanders et al.	2003

Chara vulgaris

(Chara vulgaris L., Sp. Pl. 2: 1156. 1753)

¹ CS28	F	Charbonnières	2012 ±10m
¹ S3	F	Saint Vio	2014 0,3 PSU
¹ NS13	GB	Blo'Norton Fen	2010
¹ NS23	GB	Stonald Pits S14	2010
¹ NS25	GB	Hinderclay Fen	2010
^{1,2} GJ75	S	Söderby Golf Course	2009
^{1,2} GJ76	S	Söderby Golf Course	2009
¹ GJ77	S	Söderby Golf Course	2009
¹ AH2-Okt	F	San-Vio	2014 0,3 PSU
¹ F1-4G	D	Feldberger Seenplatte	2014
¹ F1-OG	D	Feldberger Seenplatte	2014
¹ NS26	GB	Parker's Piece	2010

Lamprothamnium macropogon

¹ AY170446	AUS	Tasmania	Sanders et al. 2003
-----------------------	-----	----------	---------------------

Lamprothamnium papulosum

(Lamprothamnium papulosum (Wallr.) J. Groves, J. Bot. 54: 337. 1916)

¹ E2-6	E	La Algaida	2015
³ E2-4	E	La Algaida	2015
³ E2-9	E	La Algaida	2015
³ GeSa42	I	Sardinien	2015
³ AF097170	F	Süd	McCourt et al. 1999

Lychnothamnus barbatus

(Lychnothamnus barbatus (Meyen) Leonh., Lotos 13: 57. 1863)

³ GEC2-1	PL	Lake Lagowskie	2011
³ GEC2-2	PL	Lake Lagowskie	2011
³ AF097171	AUS		McCourt et al. 1999
³ AF097172	D	Berlin	McCourt et al. 1999

Nitellopsis obtusa

(Nitellopsis obtusa (Desv.) J. Groves, J. Bot. 57: 127. 1919)

¹ AY170447	D	West-Deutschland	Sanders et al. 2003
³ GEC4-1	PL	Lake Lagowskie	2011

³ GEC4-2	PL	Lake Lagowskie	2011	
³ KR05-10	D	Sachsen-Anhalt	2010	
³ SO13	D	Brandenburg	2013	
³ AY823702	CN	Jiangsu		Karol 2004
³ U27530	D	Bremen		McCourt et al. 1996
<hr/>				
<i>Nitella confervacea</i>				
(Nitella confervacea (Bréb.) A. Braun ex Leonh., Lotos 13: 146. 1863)				
³ RB41	S	Losjön	2009	
³ RB44	S	Losjön	2009	
³ RB49	S	Losjön	2009	
<hr/>				
<i>Nitella flexilis</i>				
(Nitella flexilis (L.) C. Agardh, Syst. Alg.: 124. 1824)				
³ AH3-Okt	D	MV	2014	
³ AB076055	JP	Tochigi		Sakayama et al. 2002
³ AB076056	JP	Fucuchima		Sakayama et al. 2002
<hr/>				
<i>Nitella gracilis</i>				
(Nitella gracilis (J. E. Smith 1810) C. A. Agardh 1824)				
³ KR05-11a	D	Sachsen	2011	
³ KR05-11b	D	Sachsen	2011	
³ RB22	S	Damm Pikaböl	2009	
³ RB27	S	Damm Pikaböl	2009	
³ RB30	S	Damm Pikaböl	2009	
³ SO35	D	Brandenburg	2013	
³ MD5	D	Deutschland		
<hr/>				
<i>Nitella hyalina</i>				
(Nitella hyalina (DC.) C. Agardh, Syst. Alg.: 126. 1824)				
³ UW8	GR	Pelepones	2011	
³ AB076067	JP	Aomori		Sakayama et al. 2002
³ AY823703	USA	North Carolina		Karol 2004
<hr/>				
<i>Nitella mucronata</i>				
(Nitella mucronata (A. Braun) Miq., Fl. Belg. Sept. 2(2): 428. 1840)				
³ AH06-Feb15	D	StoßdorferSee	2014	
³ KR08-11	D	Sachsen	2011	
³ GEC13-1	PL	Lake Reczynek	2011	
³ GEC13-2	PL	Lake Reczynek	2011	
³ SO17	D	Brandenburg	2013	
³ SO19	D	Brandenburg	2013	
³ RB6	S	Norra Vixen	2009	
³ RB10	S	Norra Vixen	2009	
³ SO18	D	Brandenburg	2013	
<hr/>				
<i>Nitella opaca</i>				
(Nitella opaca (C. Agardh ex Bruzelius) C. Agardh, Syst. Alg.: 124. 1824)				
³ BL01	IE	Irland	2010	
³ BL03	IE	Irland	2010	
³ KR04-11	D	NRW	2011	
³ NG1	D	Goitsche	2013	

³ SX26	GB	Schottland	2010
³ AF097174	PL	West	McCourt et al. 1999
<hr/>			
<i>Nitella tenuissima</i>			
(Nitella tenuissima (Desv.) Kütz., Phycol. General.: 319. 1843)			
³ KR14-11	F	Elsass	2011
<hr/>			
<i>Tolypella glomerata</i>			
(Tolypella glomerata (Desv.) Leonh., Lotos 13: 1863)			
³ BSII-Tol01	D	Borkener See	2015
³ AF097176	D	Westen	McCourt et al. 1999
<hr/>			
<i>Tolypella intricata</i>			
(Tolypella intricata (Trentep. ex Roth) Leonh., Lotos 13: 57. 1863)			
³ KJ395918	USA	USA	Perez et al. 2014
<hr/>			
<i>Tolypella nidifica</i>			
³ U27531	F	Süden	McCourt et al. 1996
<hr/>			
<i>Tolypella porteri</i>			
(Tolypella nidifica var. porteri (Daily) Wood, Taxon 11: 23. 1962)			
³ KJ395922	USA	USA	Perez et al. 2014
<hr/>			
<i>Tolypella prolifera</i>			
(Tolypella prolifera (Ziz ex A. Braun) Leonh., Lotos 13: 57. 1863)			
³ UW9	PL	Ledynic	2010
³ KJ395923	USA		Perez et al. 2014

Anmerkungen zu:

^a*Chara denudata*:

Ist eigentlich ***Chara dissoluta* A. Braun ex Leonhardi, Verh. Naturf. Vereins Brünn 2: 182. 1864.**

Für diese Sippe wird häufig der Name *Chara denudata* A. Braun verwendet (u. a. Krause 1997). Dieser Name bezieht sich auf eine morphologisch abweichende Pflanze aus der südafrikanischen Provinz Ostkap (Drège & Meyer 1843; siehe auch Bemerkungen). Migula (1897) beschrieb drei Formen (f. *africana*, f. *italica*, f. *helvetica*) von *C. dissoluta* ohne eine typische Form anzuführen. Nach dem Fundort zu beurteilen bezieht sich *C. dissoluta* f. *helvetica* auf die typische Form von *C. dissoluta*.

Bemerkungen:

Chara denudata A. Braun in Drège, Flora 26 Beigabe: 50. 1843, ist ein n. inv., wenn überhaupt, kann hier nur:

Chara denudata A. Braun, Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Gesamten Naturwiss. 10(3): 5. 1847 Verwendung finden.

Diese afrikanische Form wird aber ggw. (AG Chara, in Druck) als *Chara dissoluta* A. Braun ex Leonh. f. *africana* Mig., Charac. Deutschl. 384. 1891 aufgefasst und ist also mit den hier verwendeten Organismen NICHT identisch. Da das oben erwähnte Buch ggw. noch nicht erschienen ist, wird, in Anlehnung an Krause (1997) der Name *C. denudata* verwendet.

^b*Chara polyacantha*:

Dieser Name ist ein n. inv., da ohne Beschreibung von Merkmalen publiziert – nach AG Chara (in Druck) ist

***Chara aculeolata* Kütz. in Rchb., Fl. Germ. Excurs.: 843. 1832** der gültige Name – da das Buch jedoch noch nicht erschienen ist, wird auch hier in Anlehnung an Krause (1997) der Name *C. polyacantha* verwendet.

^c*Chara rudis*:

Dieser Name ist illegitim, der ggw. gültige ist ***Chara subspinoso* Rupr., Symb. Pl. Ross.: 225. 1846.**

Allerdings ist das Buch noch nicht erschienen, so dass in Anlehnung an Krause (1997) der Name *C. rudis* verwendet wird.

Tabelle A2 Übersicht der p-Distanzen und [Substitutionen](#) des Datensets „CHARA-SCHWEDEN“ basierend auf den Markern *rbcL*, *atpB*, *matK*, 18S rRNA, nrITS-1.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	<i>C. tomentosa</i> (GJ01, GJ05)		172	169	175	139	141	150	158	157	155	150	177
2	<i>C. globularis</i> GJ29, GJ30	3,05		94	100	130	135	138	145	147	145	129	166
3	<i>C. connivens</i> (GJ31, GJ37)	3,00	1,66		76	132	132	136	142	149	147	135	175
4	<i>C. virgata</i> (GJ41, GJ42)	3,11	1,77	1,35		141	135	144	151	151	149	136	171
5	<i>C. aspera</i> (GJ53, GJ51, BR05, BR02)	2,48	2,32	2,35	2,52		72	36	36	84	82	71	113
6	<i>C. vulgaris</i> (GJ75, GJ76)	2,52	2,41	2,35	2,41	1,29		76	80	84	84	72	109
7	<i>C. horrida</i> (GJ86, GJ87)	2,67	2,46	2,42	2,56	0,64	1,36		3	54	53	66	114
8	<i>C. baltica</i> (GJ96, GJ98) & <i>C. liljebladii</i> (LS01, LS02)	2,80	2,57	2,51	2,68	0,64	1,43	0,05		60	59	70	123
9	<i>C. hispida</i> (TK48, TK50) & <i>C. rudis</i> (TK13, TK18)	2,86	2,68	2,72	2,75	1,54	1,54	0,99	1,09		4	67	124
10	<i>C. intermedia</i> (TK31, TK35)	2,83	2,65	2,68	2,72	1,51	1,54	0,97	1,08	0,07		65	123
11	<i>C. contraria</i> (TK82, TK86) & <i>C. filiformis</i> (TK67, TK69)	2,74	2,35	2,46	2,48	1,31	1,32	1,21	1,28	1,22	1,19		105
12	<i>C. canescens</i> (SE20, SE22)	3,15	2,95	3,11	3,04	2,03	1,95	2,04	2,19	2,27	2,25	1,92	

Tabelle A3 Übersicht der p-Distanzen und Substitutionen des Datensets „CHARA-EUROPA“ des Markers *matK*. (ohne Außengruppe: *Nitellopsis obtusa*).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 <i>C. tomentosa</i> (n=8)		30	31	31	31	24	30	31	32	33	31	36	33	34	32	33	33	33
2 <i>C. contraria</i> -Cluster (n=27)	3,58		1	1	1	8	12	13	14	15	13	17	14	15	9	10	10	9
3 <i>C. contraria</i> (GB n=1)	3,70	0,12		2	2	9	13	14	15	16	14	18	15	16	10	11	11	10
4 <i>C. denundata</i> (IE n=1)	3,70	0,12	0,24		2	9	13	14	15	16	14	18	15	16	10	11	11	10
5 <i>C. contraria</i> (D n=3)	3,70	0,12	0,24	0,24		9	13	14	15	16	14	18	15	16	10	11	11	10
6 <i>C. galioides</i> (E n=2)	2,86	0,95	1,07	1,07	1,07		6	7	8	9	7	15	12	13	11	12	12	12
7 <i>C. aspera</i> - <i>C. galioides</i> (n=11)	3,58	1,43	1,55	1,55	1,55	0,72		1	2	3	1	19	16	15	14	15	15	15
8 <i>C. aspera</i> (D n=2)	3,70	1,55	1,67	1,67	1,67	0,84	0,12		1	2	2	20	17	16	15	16	16	16
9 <i>C. aspera</i> (D n=2)	3,82	1,67	1,79	1,79	1,79	0,95	0,24	0,12		1	3	21	18	17	16	17	17	17
10 <i>C. aspera</i> (D n=1)	3,94	1,79	1,91	1,91	1,91	1,07	0,36	0,24	0,12		4	22	19	18	17	18	18	18
11 <i>C. galioides</i> (n=16)	3,70	1,55	1,67	1,67	1,67	0,84	0,12	0,24	0,36	0,48		20	17	16	15	16	16	16
12 <i>C. canescens</i> (diözisch)	4,30	2,03	2,15	2,15	2,15	1,79	2,27	2,39	2,51	2,63	2,39	0,36	3	4	20	21	21	21
13 <i>C. canescens</i> (n=13)	3,94	1,67	1,79	1,79	1,79	1,43	1,91	2,03	2,15	2,27	2,03	0,36		1	17	18	18	18
14 <i>C. canescens</i> (D n=1)	4,06	1,79	1,91	1,91	1,91	1,55	1,79	1,91	2,03	2,15	1,91	0,48	0,12		18	19	19	19
15 <i>C. hispida</i> -Cluster (n=47)	3,82	1,07	1,19	1,19	1,19	1,31	1,67	1,79	1,91	2,03	1,79	2,39	2,03	2,15	2,27	1	2	2
16 <i>C. rudis</i> (RU n=2)	3,94	1,19	1,31	1,31	1,31	1,43	1,79	1,91	2,03	2,15	1,91	2,51	2,15	2,27	0,12	2	3	3
17 <i>C. papillosa</i> -Cluster (n=13)	3,94	1,19	1,31	1,31	1,31	1,43	1,79	1,91	2,03	2,15	1,91	2,51	2,15	2,27	0,12	0,24		
18 <i>C. intermedia</i> -Cluster (n=12)	3,94	1,07	1,19	1,19	1,19	1,43	1,79	1,91	2,03	2,15	1,91	2,51	2,15	2,27	0,24	0,36	0,36	
19 <i>C. vulgaris</i> (n=12)	3,58	1,55	1,67	1,67	1,67	1,31	1,55	1,67	1,79	1,91	1,67	2,39	2,03	2,15	2,03	2,15	2,15	2,15
20 <i>C. gymnophylla</i> (n=1)	3,70	1,67	1,79	1,79	1,79	1,43	1,67	1,79	1,91	2,03	1,79	2,51	2,15	2,27	2,15	2,27	2,27	2,27
21 <i>C. virgata</i> -Cluster (n=5)	4,77	4,53	4,65	4,65	4,65	4,30	4,77	4,89	5,01	5,01	4,89	5,13	4,77	4,89	4,77	4,89	4,89	4,89
22 <i>C. strigosa</i> (D n=1)	4,77	4,53	4,65	4,65	4,65	4,30	4,77	4,89	5,01	5,01	4,89	5,13	4,77	4,89	4,77	4,89	4,89	4,89
23 <i>C. connivens</i> (n=9)	4,89	4,77	4,89	4,89	4,89	4,53	5,01	5,13	5,25	5,37	5,13	5,49	5,13	5,25	5,25	5,37	5,37	5,37
24 <i>C. connivens</i> (AY170442)	4,89	4,77	4,89	4,89	4,89	4,53	5,01	5,13	5,25	5,37	5,13	5,49	5,13	5,25	5,25	5,37	5,37	5,37
25 <i>C. globularis</i> (D n=3)	4,42	4,30	4,42	4,42	4,42	4,06	4,53	4,65	4,77	4,89	4,65	4,77	4,42	4,53	4,77	4,89	4,89	4,89
26 <i>C. virgata</i> (AY170443)	4,77	4,53	4,65	4,65	4,65	4,30	4,77	4,89	5,01	5,01	4,89	5,13	4,77	4,89	4,77	4,89	4,89	4,89
27 <i>C. globularis</i> (n=17)	4,06	3,94	4,06	4,06	4,06	3,70	4,18	4,30	4,42	4,53	4,30	4,42	4,06	4,18	4,42	4,53	4,53	4,53
28 <i>C. globularis</i> (D n=1)	4,30	4,18	4,30	4,30	4,30	3,94	4,42	4,53	4,65	4,77	4,53	4,53	4,30	4,42	4,65	4,77	4,77	4,77
29 <i>C. baueri</i> (n=1)	9,67	9,55	9,67	9,67	9,67	9,07	9,55	9,67	9,79	9,79	9,67	9,79	9,55	9,43	9,79	9,79	9,79	9,79
30 <i>C. tenuispina</i> (n=2)	3,10	0,95	1,07	1,07	1,07	0,72	1,19	1,31	1,43	1,55	1,31	1,79	1,43	1,55	1,43	1,55	1,55	1,55
31 <i>C. longifolia</i> (AY170444)	5,49	4,65	4,77	4,77	4,77	4,65	5,13	5,01	5,13	5,25	5,25	5,49	5,13	5,25	5,13	5,25	5,25	5,25
32 <i>L. macropogon</i> (AY170446)	9,07	9,19	9,31	9,31	9,31	8,95	9,43	9,31	9,43	9,43	9,55	9,79	9,43	9,55	9,43	9,55	9,43	9,55
33 <i>L. papulosum</i> (E n=1)	9,20	9,32	9,44	9,44	9,44	9,08	9,56	9,44	9,56	9,56	9,68	9,92	9,56	9,68	9,56	9,68	9,56	9,68

Fortsetzung Tabelle A3

	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
1 <i>C. tomentosa</i> (n=8)	30	31	40	40	41	41	37	40	34	36	81	26	46	76	77
2 <i>C. contraria</i> -Cluster (n=27)	13	14	38	38	40	40	36	38	33	35	80	8	39	77	78
3 <i>C. contraria</i> (GB n=1)	14	15	39	39	41	41	37	39	34	36	81	9	40	78	79
4 <i>C. demundata</i> (IE n=1)	14	15	39	39	41	41	37	39	34	36	81	9	40	78	79
5 <i>C. contraria</i> (D n=3)	14	15	39	39	41	41	37	39	34	36	81	9	40	78	79
6 <i>C. galioides</i> (E n=2)	11	12	36	36	38	38	34	36	31	33	76	6	39	75	76
7 <i>C. aspera</i> - <i>C. galioides</i> (n=11)	13	14	40	40	42	42	38	40	35	37	80	10	43	79	80
8 <i>C. aspera</i> (D n=2)	14	15	41	41	43	43	39	41	36	38	81	11	42	78	79
9 <i>C. aspera</i> (D n=2)	15	16	42	42	44	44	40	42	37	39	82	12	43	79	80
10 <i>C. aspera</i> (D n=1)	16	17	42	42	45	45	41	42	38	40	82	13	44	79	80
11 <i>C. galioides</i> (n=16)	14	15	41	41	43	43	39	41	36	38	81	11	44	80	81
12 <i>C. canescens</i> (n=16)	20	21	43	43	46	46	40	43	37	38	82	15	46	82	83
13 <i>C. canescens</i> (diozisch)	17	18	40	40	43	43	37	40	34	36	80	12	43	79	80
14 <i>C. canescens</i> (D n=1)	18	19	41	41	44	44	38	41	35	37	79	13	44	80	81
15 <i>C. hispida</i> -Cluster (n=47)	17	18	40	40	44	44	40	40	37	39	82	12	43	79	80
16 <i>C. rudis</i> (RU n=2)	18	19	41	41	45	45	41	41	38	40	82	13	44	80	81
17 <i>C. papillosa</i> -Cluster (n=13)	18	19	41	41	45	45	41	41	38	40	82	13	44	79	80
18 <i>C. intermedia</i> -Cluster (n=12)	18	19	41	41	45	45	41	41	38	40	82	13	44	80	81
19 <i>C. vulgaris</i> (n=12)	1	37	37	38	41	40	36	37	33	35	76	9	39	71	72
20 <i>C. gymnophylla</i> (n=1)	0,12	4,53	38	38	41	40	37	38	34	36	77	10	40	72	73
21 <i>C. virgata</i> -Cluster (n=5)	4,42	4,53	0,24	2	25	28	24	1	21	23	75	34	39	74	75
22 <i>C. strigosa</i> (D n=1)	4,42	4,53	0,24	2,98	25	28	24	3	21	23	75	34	39	74	75
23 <i>C. comnizens</i> (n=9)	4,77	4,89	2,98	2,98	25	22	20	26	18	20	78	36	42	77	78
24 <i>C. comnizens</i> (AY170442)	4,65	4,77	3,34	3,34	2,63	2,86	24	27	21	22	77	36	41	76	77
25 <i>C. globularis</i> (D n=3)	4,30	4,42	2,86	2,86	2,39	2,86	2,98	25	3	5	79	32	40	75	76
26 <i>C. virgata</i> (AY170443)	4,42	4,53	0,12	0,36	3,10	3,22	2,98	2,63	22	24	76	34	39	74	75
27 <i>C. globularis</i> (n=17)	3,94	4,06	2,51	2,51	2,15	2,51	0,36	2,63	0,24	2	76	29	37	72	73
28 <i>C. globularis</i> (D n=1)	4,18	4,30	2,74	2,74	2,39	2,63	0,60	2,86	0,24	2	76	31	39	74	75
29 <i>C. baueri</i> (n=1)	9,07	9,19	8,95	8,95	9,31	9,19	9,43	9,07	9,07	9,07	76	76	63	88	89
30 <i>C. tenuispina</i> (n=2)	1,07	1,19	4,06	4,06	4,30	4,30	3,82	4,06	3,46	3,70	9,07	4,42	37	70	71
31 <i>C. longifolia</i> (AY170444)	4,65	4,77	4,65	4,65	5,01	4,89	4,77	4,65	4,42	4,65	7,52	4,42	6,80	57	58
32 <i>L. macropogon</i> (AY170446)	8,47	8,59	8,83	8,83	9,19	9,07	8,95	8,83	8,59	8,83	10,50	8,35	6,80	7	7
33 <i>L. papulosum</i> (E n=1)	8,60	8,72	8,96	8,96	9,32	9,20	9,08	8,96	8,72	8,96	10,63	8,48	6,93	0,84	

Tabelle A4 Übersicht der p-Distanzen und Substitutionen des Datensets „NITELLA“ des Markers *rbcL*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>Chara (C. tomentosa)</i>		26	25	27	28	47	47	55	54	91	92	95	92	92	92
2 <i>C. braunii</i> (AB060676)	2,58		1	19	20	44	43	49	48	83	84	89	86	86	86
3 <i>C. baueri</i> (GR n=2)	2,48	0,10		18	19	43	42	48	47	82	83	88	85	85	85
4 <i>L. papulosum</i> (AF097170)	2,68	1,88	1,79		1	42	42	48	47	80	81	86	83	83	83
5 <i>L. papulosum</i> (E n=2)	2,78	1,98	1,88	0,10		43	43	49	48	81	82	87	84	84	84
6 <i>L. barbatus</i> (AF097171)	4,66	4,37	4,27	4,17	4,27		1	25	24	73	74	78	75	75	75
7 <i>L. barbatus</i> (n=3)	4,66	4,27	4,17	4,17	4,27	0,10		24	23	73	74	78	75	75	75
8 <i>N. obiusa</i> (n=4)	5,46	4,86	4,76	4,76	4,86	2,48	2,38		1	80	81	86	83	83	83
9 <i>N. obiusa</i> (U27530)	5,36	4,76	4,66	4,66	4,76	2,38	2,28	0,10		79	80	85	82	82	82
10 <i>N. flexilis</i> (AB076055)	9,03	8,23	8,13	7,94	8,04	7,24	7,24	7,94	7,84		1	15	13	12	13
11 <i>N. flexilis</i> (D n=1)	9,13	8,33	8,23	8,04	8,13	7,34	7,34	8,04	7,94	0,10		16	14	13	14
12 <i>N. opaca</i> (AF097174)	9,42	8,83	8,73	8,53	8,63	7,74	7,74	8,53	8,43	1,49	1,59		4	3	4
13 <i>N. opaca</i> (IE n=2)	9,13	8,53	8,43	8,23	8,33	7,44	7,44	8,23	8,13	1,29	1,39	0,40		1	2
14 <i>N. opaca</i> (D n=2)	9,13	8,53	8,43	8,23	8,33	7,44	7,44	8,23	8,13	1,19	1,29	0,30	0,10		1
15 <i>N. opaca</i> (GB n=1)	9,13	8,53	8,43	8,23	8,33	7,44	7,44	8,23	8,13	1,29	1,39	0,40	0,20	0,10	
16 <i>N. hyalina</i> (AB076067)	10,22	9,33	9,42	9,23	9,33	9,13	9,13	9,72	9,62	8,43	8,53	8,43	8,53	8,53	8,53
17 <i>N. hyalina</i> (AY823703)	10,02	9,13	9,23	9,03	9,13	9,33	9,33	9,92	9,82	8,43	8,53	8,43	8,53	8,53	8,53
18 <i>N. hyalina</i> (GR n=1)	10,02	9,13	9,23	9,03	9,13	9,33	9,33	9,92	9,82	8,33	8,43	8,33	8,43	8,43	8,53
19 <i>N. tenuissima</i> (F n=1)	8,59	8,59	8,49	8,38	8,49	7,98	7,98	8,59	8,49	7,87	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98
20 <i>N. mucronata</i> (n=6)	8,04	8,04	7,94	7,94	8,04	7,04	7,14	8,04	7,94	7,34	7,44	7,24	7,24	7,34	7,34
21 <i>N. mucronata</i> (S n=2)	8,13	8,13	8,04	8,04	8,13	7,14	7,24	8,13	8,04	7,44	7,54	7,34	7,34	7,44	7,44
22 <i>N. mucronata</i> (D n=1)	8,13	8,13	8,04	8,04	8,13	7,14	7,24	8,13	8,04	7,44	7,54	7,34	7,34	7,44	7,44
23 <i>N. confervacea</i> (S n=3)	8,53	8,33	8,23	8,23	8,33	7,44	7,44	8,23	8,13	7,64	7,74	7,74	7,54	7,64	7,64
24 <i>N. gracilis</i> (n=6)	8,63	8,43	8,33	8,23	8,23	7,84	7,84	8,23	8,13	8,33	8,43	8,43	8,23	8,33	8,33
25 <i>N. gracilis</i> (D n=1)	8,73	8,53	8,43	8,23	8,33	7,94	7,94	8,33	8,23	8,43	8,53	8,53	8,33	8,43	8,43
26 <i>T. porteri</i> (AY823704)	10,62	9,82	9,72	10,02	10,12	10,02	10,02	10,22	10,12	9,62	9,72	9,72	9,72	9,62	9,62
27 <i>T. glomerata</i> (D n=1, AF097176) <i>T. nidifica</i> (U27531)	10,62	10,12	10,02	10,22	10,32	9,92	9,92	9,92	9,82	9,92	10,02	10,02	10,02	9,92	9,92
28 <i>T. intricata</i> (KJ395918)	9,23	8,23	8,13	8,43	8,53	8,53	8,53	8,63	8,53	8,53	8,63	9,03	8,83	8,73	8,73
29 <i>T. prolifera</i> (PL n=1)	9,13	8,13	8,04	8,33	8,43	8,23	8,23	8,33	8,23	8,23	8,33	8,73	8,53	8,43	8,43

Fortsetzung Tabelle A4

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1 <i>Chara</i> (<i>C. tomentosa</i>)	103	101	101	84	81	82	82	86	87	88	107	107	93	92
2 <i>C. braunii</i> (AB606676)	94	92	92	84	81	82	82	84	85	86	99	102	83	82
3 <i>C. baueri</i> (GR n=2)	95	93	93	83	80	81	81	83	84	85	98	101	82	81
4 <i>L. papulosum</i> (AF097170)	93	91	91	82	80	81	81	83	82	83	101	103	85	84
5 <i>L. papulosum</i> (E n=2)	94	92	92	83	81	82	82	84	83	84	102	104	86	85
6 <i>L. barbatus</i> (AF097171)	92	94	94	78	71	72	72	75	79	80	101	100	86	83
7 <i>L. barbatus</i> (n=3)	92	94	94	78	72	73	73	75	79	80	101	100	86	83
8 <i>N. obtusa</i> (n=4)	98	100	100	84	81	82	82	83	83	84	103	100	87	84
9 <i>N. obtusa</i> (U27530)	97	99	99	83	80	81	81	82	82	83	102	99	86	83
10 <i>N. flexilis</i> (AB076055)	85	85	84	77	74	75	75	77	84	85	97	100	86	83
11 <i>N. flexilis</i> (D n=1)	86	86	85	78	75	76	76	78	85	86	98	101	87	84
12 <i>N. opaca</i> (AF097174)	85	85	84	78	73	74	74	78	85	86	98	101	91	88
13 <i>N. opaca</i> (E n=2)	86	86	85	78	73	74	74	76	83	84	98	101	89	86
14 <i>N. opaca</i> (D n=2)	86	86	85	78	74	75	75	77	84	85	97	100	88	85
15 <i>N. opaca</i> (GB n=1)	86	86	86	78	74	75	75	77	84	85	97	100	88	85
16 <i>N. hyalina</i> (AB076067)		2	3	33	51	52	52	53	59	60	109	114	98	95
17 <i>N. hyalina</i> (AY823703)	0,20		1	33	53	54	54	55	61	62	109	114	98	95
18 <i>N. hyalina</i> (GR n=1)	0,30	0,10		33	53	54	54	55	61	62	109	114	98	95
19 <i>N. tenuissima</i> (F n=1)	3,37	3,37	3,37		38	39	39	39	47	48	92	95	85	82
20 <i>N. mucronata</i> (n=6)	5,06	5,26	5,26	3,89		1	1	19	29	30	90	93	78	75
21 <i>N. mucronata</i> (S n=2)	5,16	5,36	5,36	3,99	0,10		2	20	30	31	91	94	79	76
22 <i>N. mucronata</i> (D n=1)	5,16	5,36	5,36	3,99	0,10	0,20		20	30	31	91	94	79	76
23 <i>N. confervacea</i> (S n=3)	5,26	5,46	5,46	3,99	1,88	1,98	1,98		25	26	92	93	80	79
24 <i>N. gracilis</i> (n=6)	5,85	6,05	6,05	4,81	2,88	2,98	2,98	2,48		1	91	94	80	77
25 <i>N. gracilis</i> (D n=1)	5,95	6,15	6,15	4,91	2,98	3,08	3,08	2,58	0,10		92	95	79	76
26 <i>T. porteri</i> (AY823704)	10,81	10,81	10,81	9,41	8,93	9,03	9,03	9,13	9,03	9,13		15	74	69
27 <i>T. glomerata</i> (D n=1, AF097176) <i>T. nidifica</i> (U27531)	11,31	11,31	11,31	9,71	9,23	9,33	9,33	9,23	9,33	9,42	1,49		71	66
28 <i>T. intricata</i> (KJ395918)	9,72	9,72	9,72	8,69	7,74	7,84	7,84	7,94	7,94	7,84	7,34	7,04		5
29 <i>T. prolifera</i> (PL n=1)	9,42	9,42	9,42	8,38	7,44	7,54	7,54	7,84	7,64	7,54	6,85	6,55	0,50	

Tabelle A6 Variation der ersten fünf Hauptkomponenten für die Populationen *C. baltica* und *C. liljebladii* nach 4wöchiger Inkubation unter 240, 90 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

PC	Eigenvalues	%Variation	Cum.%Variation
1	11,88	32,1	32,1
2	5,22	14,1	46,2
3	3,05	8,2	54,5
4	2,63	7,1	61,5
5	1,74	4,7	66,2

Tabelle A7 Korrelationskoeffizienten der morphologischen Parameter für die ersten fünf Hauptkomponenten der Populationen *C. baltica* und *C. liljebladii* nach 4wöchiger Inkubation unter 240, 90 und 30 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Läge Köpfchen [μm]	-0,093	0,161	0,154	0,381	-0,06
Läge Internodium Köpfchen [μm]	-0,09	0,168	0,068	0,241	-0,163
Durchmesser Internodium Köpfchen [μm]	-0,164	0,074	-0,015	0,275	-0,237
Gesamtlänge Blättchen W1 [μm]	-0,072	-0,215	0,068	0,364	-0,014
Anzahl Segmente berindet W1	-0,133	0,278	0,154	-0,031	0,02
Läge Endzelle W1 [μm]	0,093	-0,353	-0,02	0,034	-0,115
Brakteolen vorhanden? (0=nein; 1=ja) W1	-0,203	0,227	0,045	0,039	0,212
Läge Brakteolen innen 1 W1 [μm]	-0,16	-0,131	-0,201	0,114	0,122
Läge Brakteolen außen 1 W1 [μm]	-0,157	-0,058	-0,159	0,071	0,269
Läge Brakteolen innen 2 W1 [μm]	-0,209	-0,11	-0,243	0,057	0,136
Läge Brakteolen außen 2 W1 [μm]	-0,231	-0,007	-0,247	0,017	0,017
Stipularen vorhanden? (0=nein; 1=ja) W1	-0,12	-0,006	0,196	0,002	0,257
Läge Stipularen oben W1 [μm]	-0,156	-0,148	-0,063	-0,245	-0,246
Läge Stipularen unten W1 [μm]	-0,219	-0,038	-0,086	-0,101	-0,056
Form Stipularen oben W1(1=länglich spitz; 2=kugelig)	0,132	0,045	-0,238	0,298	0,053
Form Stipularen unten W1	0,071	-0,163	0,102	0,166	0,297
Grad der Berindung (0=gar nicht, 1=teilweise, 2=komplett) W1	-0,188	-0,073	0,205	-0,198	0,013
Durchmesser Rindenzelle groß W1 [μm]	-0,094	-0,291	0,251	-0,071	-0,092
Durchmesser Rindenzelle klein W1 [μm]	-0,155	-0,224	0,162	0,058	0,006
Läge Stacheln W1 [μm]	-0,219	-0,181	-0,071	-0,014	-0,021
Form Stacheln (1=lang, 2=mittel, 3=kurz) W1	-0,075	0,051	0,394	-0,076	0,208
Stacheln einzeln (1) oder gebündelt (2) W1	-0,162	-0,092	0,36	-0,163	0,075
Läge Internodium W1 [μm]	-0,152	0,114	0,144	0,348	-0,124
Durchmesser Internodium W1 [μm]	-0,198	-0,122	0,114	0,108	-0,136
Gesamtlänge Blättchen W2 [μm]	-0,051	-0,282	0,104	0,182	-0,055
Anzahl Segmente berindet W2	-0,127	0,27	0,181	-0,099	-0,136
Läge Endzelle W2 [μm]	0,085	-0,318	0,064	-0,009	-0,244
Läge Brakteolen innen 1 W2 [μm]	-0,186	-0,05	-0,231	-0,035	-0,121
Läge Brakteolen außen 1 W2 [μm]	-0,195	-0,053	-0,204	0,008	0,077
Läge Brakteolen innen 2 W2 [μm]	-0,221	0,188	-0,091	-0,107	-0,119
Läge Brakteolen außen 2 W2 [μm]	-0,2	0,121	-0,12	-0,111	-0,131
Läge Stipularen oben W2 [μm]	-0,183	-0,111	0,039	-0,028	-0,212
Läge Stipularen unten W2 [μm]	-0,177	0,121	-0,019	-0,084	-0,237
Durchmesser Rindenzelle groß W2 [μm]	-0,197	-0,063	-0,036	-0,078	0,296
Durchmesser Rindenzelle klein W2 [μm]	-0,196	-0,063	-0,077	-0,082	0,326
Läge Internodium W2 [μm]	-0,178	0,03	0,086	0,269	0,08
Durchmesser Internodium W2 [μm]	-0,237	-0,012	-0,021	-0,043	-0,046

Tabelle A8: Übersicht der morphologisch¹ und genetisch² analysierten Individuen der Gattung *Fucus*.

Art	Probenr.	Jahr	Land	Ort
<i>Fucus ceranoides</i>				
	¹ EK50	2010	GB	Mac Duff Harbor
	¹ EK51	2010	GB	Mac Duff Harbor
	¹ EK53	2010	GB	Portknockie
	¹ EK54	2010	GB	Portknockie
	^{1,2} EK55	2010	GB	Portknockie
	^{1,2} EK57	2010	GB	Portknockie
	¹ EK76	2010	GB	Portknockie
	¹ EK16	2010	GB	Roseheathy
	¹ EK17	2010	GB	Roseheathy
	¹ EK18	2010	GB	Roseheathy
	¹ EK19	2010	GB	Roseheathy
	¹ EK20	2010	GB	Roseheathy
	² GQ385138		E	Asturias
	² GQ385139		E	Cantabria
	² GQ385140		F	Aquitaine
	² GQ385141		F	Brittany
<i>Fucus cottonii</i>				
	¹ AM1	2010	Irl	Bell Harbour
	¹ AM2	2010	Irl	Bell Harbour
	¹ AM3	2010	Irl	Bell Harbour
	¹ AM4	2010	Irl	Bell Harbour
	¹ AM5	2010	Irl	Bell Harbour
	¹ AM6	2010	Irl	Bell Harbour
	^{1,2} AM7	2010	Irl	Bell Harbour
	^{1,2} AM8	2010	Irl	Bell Harbour
	² BM01	2010	Irl	Bell Harbour
	² BM02	2010	Irl	Bell Harbour
<i>Fucus distichus</i>				
	^{1,2} E4	2010	N	Holmsbue
	¹ E5	2010	N	Holmsbue
	^{1,2} E6	2010	N	Holmsbue
<i>Fucus radicans</i>				
	² A1		Est	Saaremaa
	² A2		Est	Saaremaa
	² ES03		S	Askö
	² ES07		S	Askö
	² ES08		S	Askö
<i>Fucus serratus</i>				
	¹ DN10	2011	DK	Grenaa, Leuchtturm
	¹ DN17	2011	DK	Grenaa, Leuchtturm
	¹ DN18	2011	DK	Grenaa, Leuchtturm
	² Fu003	2010	D	Helgoland, N-Watt
	¹ Fu007	2010	D	Helgoland, N-Watt
	² Fu009	2010	D	Helgoland, N-Watt
	¹ Fu010	2010	D	Helgoland, N-Watt
	¹ Hel137	2011	D	Helgoland, N-Watt
	¹ Hel138	2011	D	Helgoland, N-Watt

¹ Hel139	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel141	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel142	2011	D	Helgoland, N-Watt
² C12	2010	N	Tofte
¹ L16	2010	N	Flekkeroy
¹ L17	2010	N	Flekkeroy
¹ L18	2010	N	Flekkeroy
¹ K1	2010	N	Grødem
¹ K3	2010	N	Grødem
¹ I1	2010	N	Skeljavik
¹ I3	2010	N	Skeljavik
¹ I4	2010	N	Skeljavik
¹ I5	2010	N	Skeljavik
¹ J2	2010	N	Utbjoa
² CJ45	2010	GB	Cowie
¹ EK02	2010	GB	Peterhead
¹ EK04	2010	GB	Peterhead
¹ EK68	2010	GB	Portknockie
¹ EK69	2010	GB	Portknockie
¹ EK72	2010	GB	Portknockie
¹ NT32	2010	GB	South Uist
¹ NT34	2010	GB	South Uist
² F-Q5		F	Bretagne
<i>Fucus spiralis</i>			
¹ H6	2010	N	Bjorgo
¹ H7	2010	N	Bjorgo
¹ L7	2010	N	Flekkeroy
¹ L8	2010	N	Flekkeroy
¹ L9	2010	N	Flekkeroy
¹ L10	2010	N	Flekkeroy
¹ I13	2010	N	Skeljavik
¹ I14	2010	N	Skeljavik
¹ J8	2010	N	Skeljavik
^{1,2} K6	2010	N	Skeljavik
¹ K9	2010	N	Skeljavik
^{1,2} NT01	2010	GB	Lossiemouth
¹ NT02	2010	GB	Lossiemouth
¹ NT03	2010	GB	Lossiemouth
¹ NT04	2010	GB	Lossiemouth
¹ NT05	2010	GB	Lossiemouth
¹ EK37	2010	GB	Mac Duff Harbor
¹ EK39	2010	GB	Mac Duff Harbor
¹ EK13	2010	GB	Peterhead
¹ EK64	2010	GB	Portknockie
¹ EK67	2010	GB	Portknockie
² CJ60	2010	GB	Peterhead
¹ NT55	2010	GB	Porttree, Skye
¹ NT57	2010	GB	Porttree, Skye
¹ NT58	2010	GB	Porttree, Skye
² B18		F	Bretagne
² GQ385142		Ma	Oualidia

² GQ385143		P	Algarve
² GQ385144		P	Minho
² GQ385148		P	Minho
<i>Fucus spiralis</i> var. <i>platycarpus</i>			
¹ Fu012	2010	D	Helgoland, N-Watt
¹ Fu013	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu014	2010	D	Helgoland, N-Watt
¹ Fu030	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu039	2010	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel143	2011	D	Helgoland, Süd-Strand
^{1,2} Hel144	2011	D	Helgoland, Süd-Strand
¹ Hel145	2011	D	Helgoland, Süd-Strand
¹ Hel146	2011	D	Helgoland, Süd-Strand
¹ Hel147	2011	D	Helgoland, Süd-Strand
<i>Fucus vesiculosus</i>			
¹ 1A	2010	Est	Kaugatoma
¹ 2A	2010	Est	Kaugatoma
¹ 3A	2010	Est	Kaugatoma
¹ 5A	2010	Est	Kaugatoma
¹ 6A	2010	Est	Kaugatoma
¹ 1	2010	Est	Kurassare
¹ 2	2010	Est	Kurassare
¹ 3	2010	Est	Kurassare
¹ 4	2010	Est	Kurassare
¹ 5	2010	Est	Kurassare
^{1,2} Fu015	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu016	2010	D	Helgoland, N-Watt
^{1,2} Fu017	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu018	2010	D	Helgoland, N-Watt
^{1,2} Fu031	2010	D	Helgoland, NO-Hafen
¹ Fu034	2010	D	Helgoland, NO-Hafen
² Fu035	2010	D	Helgoland, NO-Hafen
¹ Hel132	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel133	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel134	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel135	2011	D	Helgoland, N-Watt
¹ Hel136	2011	D	Helgoland, N-Watt
² A1	2010	N	Ula
² A2	2010	N	Ula
² B11	2010	N	Ula
¹ H17	2010	N	Bjorgo
¹ L2	2010	N	Flekkeroy
¹ L4	2010	N	Flekkeroy
¹ L5	2010	N	Flekkeroy
² L14	2010	N	Flekkeroy
¹ I16	2010	N	Skeljavik
¹ I19	2010	N	Skeljavik
¹ J4	2010	N	Utbjoa
¹ J6	2010	N	Utbjoa
¹ EK45	2010	GB	Mac Duff Harbor
¹ EK08	2010	GB	Peterhead

¹ EK09	2010	GB	Peterhead
¹ EK10	2010	GB	Peterhead
¹ EK78	2010	GB	Portknockie
¹ EK59	2010	GB	Portknockie
² FM5		F	Bretagne
² R5		F	Bretagne
² R15		F	Bretagne
² BA002		Est	Eru
² BA003		Est	Eru
² BA004		Est	Kõiguste
² BA006		Est	Kõiguste
² BA008		Est	Küdema
² BA009		Est	Küdema
² BA011		Fin	Kotka
² BA014		Fin	Brännskär
² BA015		Fin	Brännskär
² BA016		Fin	Outoori
² BA018		Fin	Outoori
² BA019		Fin	Päiuäkarit
² BA021		Fin	Päiuäkarit
² BA022		Fin	Paraistenportti
² BA024		Fin	Paraistenportti
² BA024		Fin	Paraistenportti
² BA047		S	Barsebäck
² BA054		S	Barsebäck
² BA065		D	Rügen
² BA068		D	Rügen
² BA073		D	Warnemünde
² BA077		S	Skagsudde
² BA078		S	Skagsudde
² BA079		S	Bönhamm
² BA081		S	Bönhamm
² BA082		S	Singö
² BA084		S	Singö
² BA085		S	Askö
² BA087		S	Askö
² BA088		D	Falshöft
² BA090		D	Falshöft
² BA091		D	Salzhaff
² BA093		D	Salzhaff
² ES01		S	Askö
² ES03		S	Askö
² ES02		S	Askö
² S-ERT07		S	Askö
² BA025		S	Tjärnö
² BA032		S	Tjärnö
² BA036		S	Varberg
² BA055		Dk	Horsens
² BA057		Dk	Horsens
² BA074		N	Verdens Ende
² BA076		N	Verdens Ende

² BA095		D	Helgoland
² BA101		D	Helgoland
² GQ385145		Ma	Oualidia
² GQ385146		P	Algarve
² GQ385147		P	Lisboa
² GQ385149		P	Minho
² GQ385150		E	Galicie
² GQ385151		E	Cantabria
² GQ385152		F	Brittany
² GQ385153		F	Normandy
² GQ385154		NL	South Holland
² GQ385155		UK	Northern Ireland
² GQ385156		N	Telemark
² GQ385157		Is	Capital Region

<i>Fucus vesiculosus</i> *			
^{1,2} Fu022*	2010	D	Helgoland, N-Watt
^{1,2} Fu023*	2010	D	Helgoland, N-Watt
^{1,2} Fu024*	2010	D	Helgoland, N-Watt
^{1,2} Fu025*	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu026*	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu075*	2010	D	Helgoland, N-Watt
² Fu098*	2010	D	Helgoland
² Fu124*	2010	D	Helgoland
² Hel77*	2011	D	Helgoland
² SY01-H1*		D	Sylt
² SY01-H2*		D	Sylt
² SY01-H3*		D	Sylt
² SY01-H4*		D	Sylt
² GB-HS01*		GB	S-Küste
² GB-HS02*		GB	S-Küste

Tabelle A9 Zusammenfassung der Kruskal-Wallis-Tests der analysierten Fucus-Taxa im paarweisen Vergleich. Signifikante p-Werte ($>0,05$) sind fett dargestellt. Da für die Taxa *F. cottonii*, und *F. distichus* keine Rezeptakel vorhanden waren, wurde diese innerhalb der Tests nicht berücksichtigt. Das Verhältnis ohne signifikante Unterschiede sind in dieser Tabelle nicht dargestellt. Fce = *F. ceranoides*, Fco = *F. cottonii*, Fdi = *F. distichus*, Fsp = *F. spiralis*, Fsp/pl = *F. spiralis* var. *platycarpus*, Fse = *F. serratus*, Fve = *F. vesiculosus*.

	Rezeptakelläng e groß	Rezeptakelbreit e groß	Rezeptakelbreit e klein	Rezeptakelläng e klein	Stiellänge	Stielbreite	Dichtomie	Gesamtlänge / Stiellänge	Gesamtlänge	Thallusbreite
gesamt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fco - Fdi					1	1	1	0,243	1	1
Fco - Fsp					0,335	1	1	1	1	1
Fco - Fce					0,142	0,98	1	1	0,066	1
Fco - Fve					0,034	0,002	0,002	0,013	0	0,012
Fco - Fsp/pl					0,548	0,34	0,02	0,924	0,425	0
Fco - Fse					0	0	0	1	0	0
Fdi - Fsp/pl					1	1	1	1	1	0,087
Fdi - Fce					1	1	1	1	1	1
Fdi - Fve					1	0,335	1	1	0,491	1
Fdi - Fse					0,014	0,011	0,098	1	0,268	0,008
Fsp - Fdi					1	1	1	0,426	1	1
Fsp - Fsp/pl	0,002	0,004	1	0,516	1	1	0,698	1	1	0,008
Fsp - Fce	1	1	1	1	1	1	1	1	0,775	1
Fsp - Fve	0,001	0,012	0,005	0	1	0,127	0,096	0,006	0	0,745
Fsp - Fse	0	0	0	0	0,004	0	0	1	0	0
Fsp/pl - Fce	0,107	0,021	0,721	1	1	1	1	1	1	0,118
Fsp/pl - Fve	1	1	1	1	1	1	1	1	0,366	1
Fsp/pl - Fse	1	1	0,069	0,141	0,093	0,155	0,257	1	0,148	1
Fce - Fve	0,21	0,093	0,004	0,013	1	1	1	1	1	1
Fce - Fse	0,001	0,001	0	0,001	1	0,141	0,255	1	1	0,004
Fve - Fse	0,144	0,64	1	1	0,09	1	0,05	0,436	1	0,024

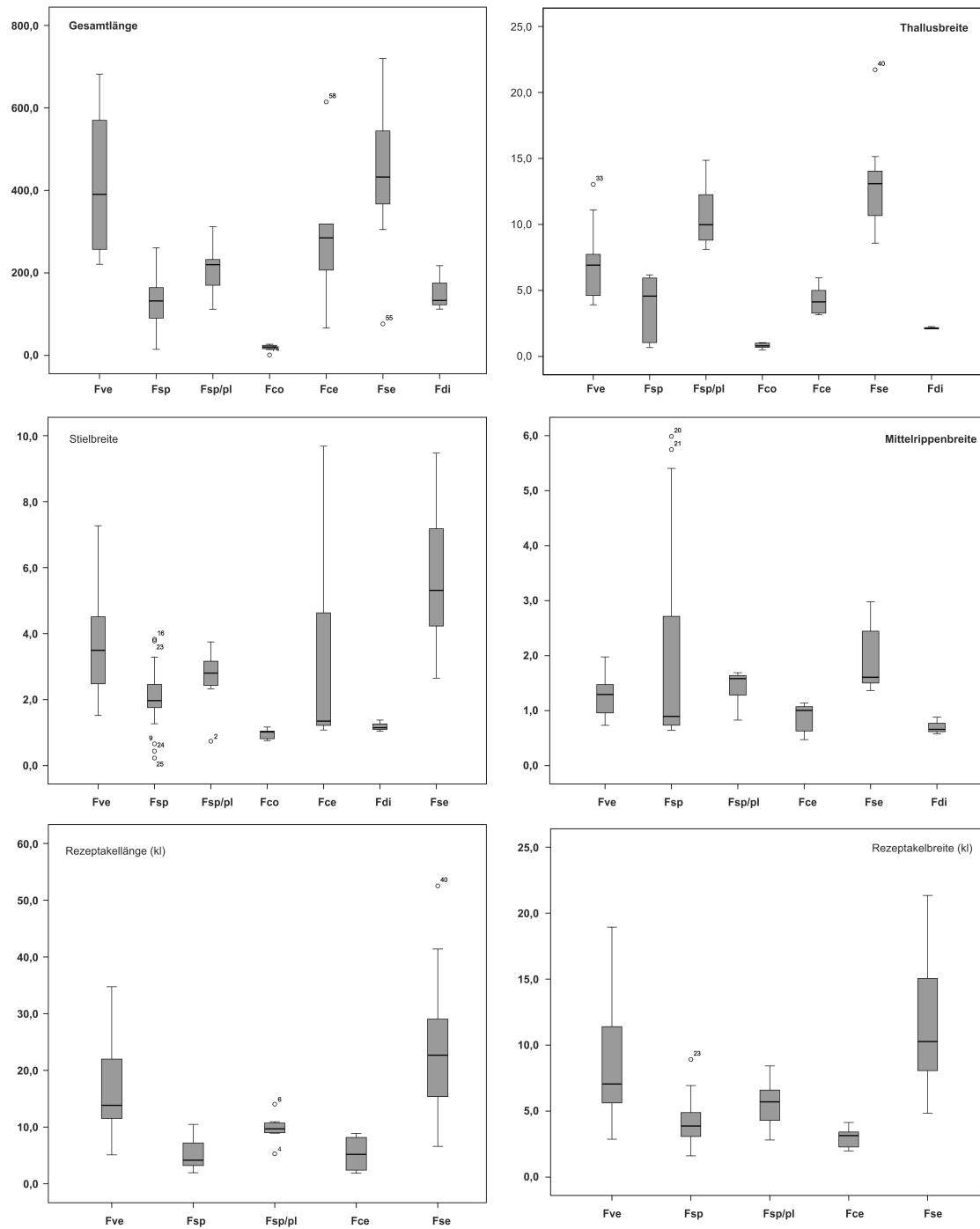


Abbildung A1-1 Box-Plots der morphologischen Analyse der Gattung *Fucus*. Absolute Werte in mm. Fve = *F. vesiculosus*, Fsp = *F. spiralis*, Fsp/pl = *F. spiralis* var. *platycarpus*, Fco = *F. cottonii*, Fce = *F. ceranoides*, Fse = *F. serratus*, Fdi = *F. distichus*.

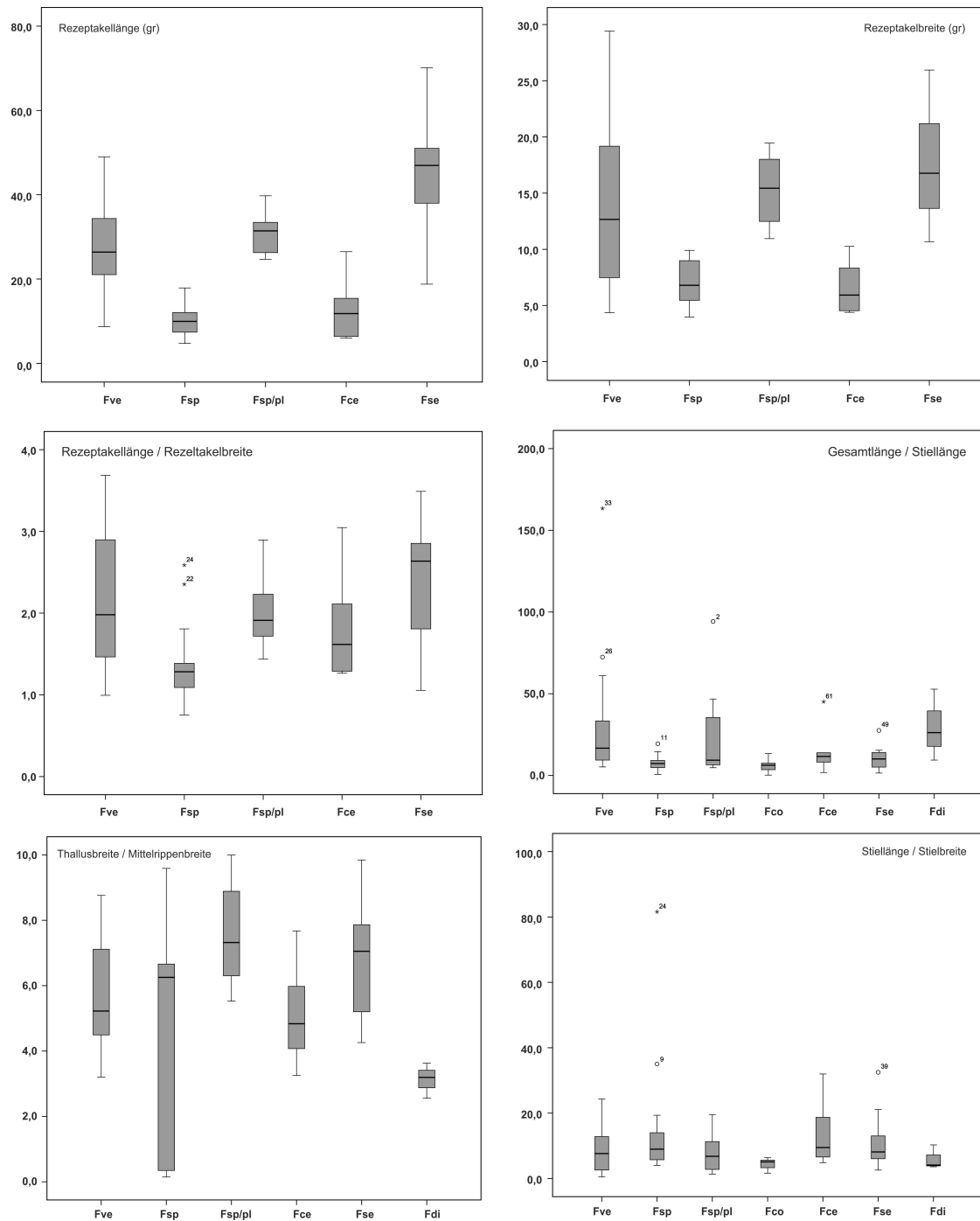
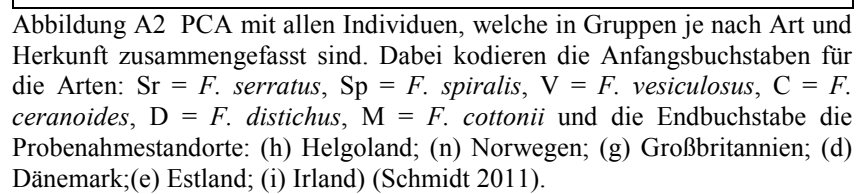


Abbildung A1-2 Box-Plots der morphologischen Analyse der Gattung *Fucus*. Absolute Werte in mm. Fve = *F. vesiculosus*, Fsp = *F. spiralis*, Fsp/pl = *F. spiralis* var. *platycarpus*, Fco = *F. cottonii*, Fce = *F. ceranoides*, Fse = *F. serratus*, Fdi = *F. distichus*.



Danksagung

Erklärung**Anteilserklärung**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zahlreiche Bachelor- und Masterarbeiten angefertigt. Die Ideen und die Konzepte der Themen stammen von mir. Die Vorplanungen, die Suche nach geeigneten Kandidaten für das Thema, die Einarbeitung in die Thematik sowie in die dafür relevanten Methoden und die Betreuung bei der Durchführung der Arbeiten wurden von mir vorgenommen. Die Arbeiten wurden von Herrn Prof. H. Schubert offiziell betreut. Folgende für diese Arbeit relevanten Bachelor- oder Masterarbeit sind:

Ammon, U. von (2011) Phylogenie ausgewählter *Chara*-Arten. Bachelor, Universität

Eberlein, L. (2015) Taxonomische Untersuchungen an Characeen mittels DNA-Barcoding. Rostock Bachelor, Universität Rostock

Sommer, V. (2013) Phänologische Aspekte des phänetischen Artkonzepts bei Characeen. Bachelor, Universität Rostock

Schmidt, L. (2011) Morphologische Untersuchungen der Helgoländer *Fucus* Arten. Bachelor, Universität Rostock