# "Entwicklung einer Strategie für die Neuetablierung von Populationen der hochgradig gefährdeten mitteleuropäischen *Diphasiastrum*-Arten basierend auf Untersuchungen ihrer Reproduktionsbiologie und der besiedelten Standorte"

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

vorgelegt von

**Rico Kaufmann** 

geboren am 06.10.1987

in Gera

Greifswald, 29.06.2017

Dekan: Prof. Dr. Werner Weitschies

1. Gutachter: Prof. Dr. Martin Schnittler

2. Gutachter: Prof. Dr. Hanno Schäfer

Tag der Promotion:29.01.2018

## Zusammenfassung

Die mitteleuropäischen Flachbärlappe (Gattung *Diphasiastrum*) sind in Deutschland alle hochgradig gefährdet und können ohne geeignete Artenhilfsmaßnahmen hier nicht dauerhaft überleben. In der vorliegenden Arbeit werden die Grundlagen für ein Artenhilfsprogramm geschaffen, indem die Reproduktionsbiologie untersucht worden ist und die ökologischen Ansprüche und Gefährdungsursachen ermittelt wurden, um entsprechende Hilfsmaßnahmen für die Arten zu entwickeln.

Um Rückschlüsse auf das Reproduktionssystem der Eltern- und Hybridarten zu erhalten, wurde die genetische Diversität ermittelt. Dabei kam das fingerprinting-Verfahren AFLP zum Einsatz, womit Arten und genetisch verschiedene Individuen voneinander abgegrenzt werden können. Verwendet wurden die beiden Primer-Kombinationen EcoRI-AAG / VspI-CT und EcoRI-ACT / VspI-CAG. Die größte genetische Diversität der Elternarten weist *D. complanatum* auf, die überwiegend durch echte Fremdbefruchtung (outcrossing) entsteht, während die genetische Diversität der beiden anderen Elternarten *D. alpinum* und *D. tristachyum* gering ist und nur knapp oberhalb einer definierten Fehlerrate liegt. Die Proben der Hybridarten unterscheiden sich so stark voneinander, dass davon ausgegangen werden muss, dass dies immer wieder neu entstehende F1-Hybriden sind, wenngleich die Unterschiede bei *D. oellgaardii* vergleichsweise gering aufgrund der geringen genetischen Diversität der Elternarten *D. alpinum* und *D. tristachyum* ist.

Die Sporenproduktion in den Sporenständen wurde unter anderem direkt durch Zählung von Sporen in den Sporangien unterm Stereomikroskop und Zählung der Sporangien in den Sporenständen ermittelt. Sporangien von *L. clavatum* enthalten demnach 27735 ( $\pm$  7492) Sporen pro Sporangium, 105,2 ( $\pm$  3,7) Sporangien pro Sporenstand und hochgerechnet etwa 2,1 bis 3,8 Millionen Sporen pro Sporenstand.

Die terminale Fallgeschwindigkeit liegt für *L. clavatum* bei 2,16 ( $\pm$  0,11) cm\*s<sup>-1</sup> und für *D. complanatum* bei 2,25 ( $\pm$  0,10) cm\*s<sup>-1</sup>. Die Sporen haben einen Durchmesser von 29,5 ( $\pm$  2,0) µm bzw. 32,3 ( $\pm$  2,5) µm. Die gemessene Geschwindigkeit liegt deutlich unter der theoretischen und lässt sich damit erklären, da Sporen keine perfekten Kugeln sind und aufgrund ihrer stark reliefierten Oberfläche Turbulenzen erzeugt werden, die den Fall verlangsamen.

Die Anzahl der in Entfernungen bis 200 m zu einer sporenbildenden Population fliegenden Sporen wurde mithilfe von vertikalen klebenden Sporenfallen bei *D. complanatum*, *D. tristachyum* und *L. clavatum* bestimmt. Nur für die Population von *L. clavatum* mit 11358 reifen Sporenständen auf kleiner Fläche wurden weitere Berechnungen durchgeführt. Folgende Funktion beschreibt die Anzahl der durch die Luft fliegenden Sporen in einer Höhe von etwa 40 cm über dem Boden in Abhängigkeit zur Entfernung x:  $f(x) = 45878*x^{-2,302}$  (R<sup>2</sup> = 0,9979). Es konnten selbst in 200 m Entfernung noch einzelne Sporen an den Sporenfallen nachgewiesen werden. Da die maximale theoretische Ausbreitungsdistanz bei nur knapp 130 m liegt, selbst wenn ein konstant horizontal wehender Wind von 100 km/h angenommen wird, müssen aufwärtsgerichtete Luftströmungen eine entscheidende Rolle bei der Fernausbreitung spielen.

Die Ansiedlungsversuche wurden im Thüringer Schiefergebirge am Grünen Band bei Brennersgrün (*D. alpinum* und *D. tristachyum*) und im Pöllwitzer Wald (*D. complanatum*) durchgeführt. Als Vergleichsart wurde wieder *L. clavatum* verwendet. Die Sprossverpflanzungen verliefen insgesamt erfolgreich mit einer Überlebensrate von 8% für *D. alpinum*, 17% für *D. complanatum*, 8% für *D. tristachyum* und 22% für *L. clavatum*. Der jährliche Rhizomzuwachs liegt bei 0,5 cm, 13,3 ( $\pm$  1,8) cm, 7,5 cm bzw. 9,1 ( $\pm$  4,0) cm für die entsprechenden Arten.

Die Vegetationsbedeckung vorher abgeplaggter Flächen liegt zwischen 39 und 53% nach zwei Jahren, jedoch mit großen Unterschieden selbst zwischen benachbarten Flächen und wird hauptsächlich durch ein schnelles Mooswachstum bestimmt.

Nach etwa fünf Monaten sind keine Sporen auf sterilem Nährstoffmedium gekeimt, obwohl diese unterschiedlich behandelt wurden, zum Beispiel mit Rauchgas, Hitze, konzentrierter Schwefelsäure oder durch Mörsern. Auch die Keimungsversuche an den Wuchsorten waren nach 2,5 Jahren erfolglos. Eine Erklärung kann ein Dormanzstadium unbekannter Dauer vor der Keimung sein.

Der Anzahl der jährlich gebildeten vertikalen Sprossbüschel wurde indirekt für je eine Population für *D. zeilleri* (2,5/Jahr) und *D. issleri* (2,0/Jahr) bestimmt, indem der Quotient aus der Anzahl der Sprossbüschel an der längsten Rhizomverbindung und dem bekannten Alter des Standorts ermittelt worden ist. Die Zugehörigkeit von Rhizomstücken zu einem Klon wurde mit der AFLP-Methode abgesichert. Die meisten Populationen in Deutschland werden demnach mehrere Jahrzehnte alt, jedoch ohne beobachtete Verjüngung über Prothallien. Eine Erklärung könnten die immer noch sehr geringen pH-Werte in den Unterböden von 3,6 ( $\pm$  0,24) sein, die giftige Al<sup>3+</sup>-Ionen pflanzenverfügbar machen.

# Inhaltsverzeichnis

usammenfassungI	Zusa
nhaltsverzeichnisIII	Inhal
bbildungsverzeichnis	Abbil
abellenverzeichnis	Tabe
bkürzungsverzeichnisIX	Abkü
Einleitung1	1
Material und Methoden7	2
2.1 Genetische Diversität7	2.
2.1.1 Vorarbeiten in den Untersuchungsgebieten	
2.1.2 Vorbereitung des Pflanzenmaterials9	
2.1.3 DNA-Extraktion10	
2.1.4 AFLP-Reaktion13	
2.1.5 Elektropherogramme und 0-1-Matrix19	
2.2 Ausbreitung über Sporen21	2.
2.2.1 Sporenproduktion in den Sporenständen21	
2.2.2 Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen	
2.2.3 Sporenfallen zur Ermittlung der Ausbreitungsdistanzen25	
2.3 Etablierungsversuche	2.
2.3.1 Untersuchungsgebiete und Versuchsaufbau	
2.3.2 Sprossverpflanzungen	
2.3.3 Keimungsversuche	

	2.3	8.4	Sukzessionsgeschwindigkeit	41
	2.4	Star	ndortanalyse	42
	2.4	.1	Gametophytenreservoir im Boden	42
	2.4	.2	Bodeneigenschaften	42
	2.4	.3	Alter von Individuen, Populationen und Standorten	43
3	Erge	ebnise	Se	46
	3.1	Gen	etische Diversität	46
	3.2	Aus	breitung über Sporen	51
	3.2	.1	Sporenproduktion in den Sporenständen	51
	3.2	2.2	Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen	54
	3.2	2.3	Sporenfallen zur Ermittlung der Ausbreitungsdistanzen	55
	3.3	Etab	lierungsversuche	62
	3.3	5.1	Sprossverpflanzungen	62
	3.3	5.2	Keimungsversuche	64
	3.3	5.3	Sukzessionsgeschwindigkeit	64
	3.4	Star	ndortanalyse	67
	3.4	.1	Gametophytenreservoir im Boden	67
	3.4	.2	Bodeneigenschaften	67
	3.4	.3	Alter von Individuen, Populationen und Standorten	68
4	Disk	kussio	n	72
	4.1	Gen	etische Diversität	72
	4.2	Aus	breitung über Sporen	74
4.3 Etablierungsversuche			78	

	4.4	Standortanalyse	82
5	Aust	blick	88
Q	uellenve	erzeichnis	91
Da	anksagı	ung	105
Ar	nhang		106

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1-1: Sporophyten der Diphasiastrum-Arten	1
Abb. 1-2: Reproduktion bei <i>Diphasiastrum</i>	3
Abb. 1-3: Standorte von <i>Diphasiastrum</i> -Arten	4
Abb. 2-1: Vorbereitung des Probenmaterials	9
Abb. 2-2: Restriktion und Ligation.	14
Abb. 2-3: Selektive Amplifikation	15
Abb. 2-4: Fallzylinder	24
Abb. 2-5: Sporenfallen	25
Abb. 2-6: Gitter zur Einmessung der Individuen.	26
Abb. 2-7: Schema zur Anordnung der Sporenfallen.	27
Abb. 2-8: Unterschiedliche Typen von Sporenständen	28
Abb. 2-9: Messschablone zum Auswerten der Ausbreitungsversuche	29
Abb. 2-10: Untersuchungsgebiet	31
Abb. 2-11: Untersuchungsgebiet A.	32
Abb. 2-12: Untersuchungsgebiet C.	33
Abb. 2-13: Untersuchungsgebiet T	33
Abb. 2-14: Kleinflächen eines Patches	34
Abb. 2-15: Fertigung der Sporentaschen.	35
Abb. 2-16: Bearbeitung der Kleinflächen	37
Abb. 2-17: Verpflanzung von Sprossstücken	38
Abb. 2-18: Messschablone zum Auswerten der Keimungsversuche	41
Abb. 2-19: Rhizomvermessung bei Diphasiastrum complanatum	43

Abb. 3-1: Unterschiede zwischen Proben der Diphasiastrum-Arten I	48
Abb. 3-2: Unterschiede zwischen Proben der Diphasiastrum-Arten II	49
Abb. 3-3: Neighbour-joining tree für alle Diphasiastrum-Arten	50
Abb. 3-4: Unterschiedliche Sporenfreisetzung bei Lycopodium clavatum	51
Abb. 3-5: Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen	54
Abb. 3-6: Sporenausbreitungskurven von Diphasiastrum tristachyum	56
Abb. 3-7: Sporenstände von Diphasiastrum tristachyum	56
Abb. 3-8: Sporenausbreitungskurven von Diphasiastrum complanatum	57
Abb. 3-9: Sporenstände von Diphasiastrum complanatum	57
Abb. 3-10: Sporenausbreitungskurven von Lycopodium clavatum.	58
Abb. 3-11: Sporenstände von Lycopodium clavatum	58
Abb. 3-12: Mittlere Sporenausbreitungskurve für Lycopodium clavatum	59
Abb. 3-13: Zusammenhang zwischen Sporenanzahl und Windrichtung	61
Abb. 3-14: Verpflanzter Spross von Diphasiastrum alpinum	63
Abb. 3-15: Verpflanzter Spross von Diphasiastrum complanatum	63
Abb. 3-16: Verpflanzter Spross von Diphasiastrum tristachyum	63
Abb. 3-17: Verpflanzter Spross von Lycopodium clavatum.	64
Abb. 3-18: Boden-pH-Wert aller Standorte	67
Abb. 3-19: Boden-pH-Wert naturnaher Standorte.	68
Abb. 3-20: Zusammenhang zwischen Größe und Alter eines Klons	70
Abb. 3-21: Rhizome von <i>Diphasiastrum</i> x <i>zeilleri</i> (Wokuhl, 2016)	70
Abb. 3-22: Rhizome von Diphasiastrum x issleri (Steinheid, 2016)	71

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1: Sporenstandslängen bei Diphasiastrum	. 2
Tabelle 2-1: Zusammensetzung des Extraktionspuffers	. 11
Tabelle 2-2: Mastermix für die Restriktion.	. 16
Tabelle 2-3: Mastermix für die Ligation.	. 16
Tabelle 2-4: Mastermix I für die Präamplifikation	. 17
Tabelle 2-5: Mastermix II für die Präamplifikation	. 18
Tabelle 2-6: Mastermix für die selektive Amplifikation (Beispiel: AAG / CT)	. 19
Tabelle 2-7: Ansätze für die Keimungsversuche	. 40
Tabelle 3-1: Fehlerrate beim AFLP.	. 46
Tabelle 3-2: Anteil von Genotypen.	. 47
Tabelle 3-3: Sporenvolumen und Länge von zwei Sporenständen	. 52
Tabelle 3-4: Anzahl freigesetzter Sporen von Lycopodium clavatum	. 52
Tabelle 3-5: Anzahl freigesetzter Sporen von Diphasiastrum-Arten	. 53
Tabelle 3-6: Sporenzählungen bei Lycopodium clavatum.	. 60
Tabelle 3-7: Anzahl vitaler Sprosse in Abhängigkeit zur Entfernung	. 62
Tabelle 3-8: Vegetationsaufnahmen im Untersuchungsgebiet A	. 65
Tabelle 3-9: Vegetationsaufnahmen im Untersuchungsgebiet C	. 66
Tabelle 3-10: Vegetationsaufnahmen im Untersuchungsgebiet T	. 66
Tabelle 3-11: Alter von Diphasiastrum-Populationen und Jahreszuwachs	. 69
Tabelle 3-12: BHD, Baumalter und Durchmesser Diphasiastrum	. 71

# Abkürzungsverzeichnis

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism		
ATP	Adenosintriphosphat		
bp	Basenpaar		
CEU	Cohesive End Units		
СТАВ	Cetyltrimethylammoniumbromid		
dd H <sub>2</sub> O	doppelt destilliertes Wasser		
DNA	Deoxyribonucleic acid		
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate		
EcoRI	Nuklease I aus dem Stamm R von Escherichia coli		
EDTA	Ethylendiamintetraacetat		
et al.	et alii		
GPS	Global Positioning System		
Hz	Hertz		
kb	Kilo-Basenpaar		
М	Molar (Einheit der Stoffmengenkonzentration)		
MW	Molecular Weight (Molekülmasse)		
PCR	Polymerase Chain Reaction		
pН	potentia Hydrogenii		
PVP	Polyvinylpyrrolidon		
rcf	relative centrifugal force		
RNase	Ribonuklease		
TAE	TRIS-Acetat-EDTA		
Taq	Thermus aquaticus		
TE	TRIS-EDTA		
TRIS	Tris(hydroxylmethyl)-aminomethan		
U	Units		
VspI	Vibrio species		

## 1 Einleitung

Die Pflanzenfamilie der Bärlappgewächse (Lycopodiaceae) innerhalb der Farnpflanzen (Pteridophyten) ist mit etwa 400 Arten weltweit vertreten (WIKSTRÖM & KENRICK 2000). Innerhalb dieser Familie sind die Flachbärlappe (*Diphasiastrum*) mit insgesamt 15 bis 20 Arten in der temperaten und der borealen Zone eine mittelgroße Gattung. Nah verwandt ist die Gattung *Lycopodium*, die deshalb in dieser Arbeit auch eine wichtige Rolle spielt. WAGNER Jr. & BEITEL 1993 beschreiben Flachbärlappe mit horizontalen Sprossen (Rhizome) und vertikalen Sprossen (Sprossbüschel). Letztere sind quadratisch bis flach, verzweigt und tragen linealische bis lanzettliche Blätter, die dachziegelartig auf der Oberseite (Dorsalblätter), der Unterseite (Ventralblätter) und seitlich (Lateralblätter) angeordnet sind. Die Sporenstände (Strobili) sitzen an den vertikalen Sprossen und sind gestielt oder ungestielt meist zu mehreren angeordnet (vgl. Abbildung 1-1).



Abb. 1-1: Sporophyten der *Diphasiastrum*-Arten. Dargestellt sind die Hauptarten *Diphasiastrum tristachyum* (links, mit fast reifen Strobili), *Diphasiastrum complanatum* (rechts oben, steriler Sprossbüschel) und *Diphasiastrum alpinum* (rechts unten, mit unreifen diesjährigen und abgestorbenen vorjährigen Strobili).

Werden Sporenstände ausgebildet, kann eine sexuelle Reproduktion über Sporen erfolgen, ansonsten ist auch vegetative Vermehrung über die Rhizome möglich. Nach PLOTNIKOV 1977 in CALLAGHAN & EMANUELSSON 1985 werden 4\*10<sup>5</sup> Sporen in einem Strobilus von *Lycopodium annotinum* gebildet, die im Spätsommer durch den Wind ausgebreitet werden können. Sporenzahlen zu *Lycopodium clavatum* und den *Diphasiastrum*-Arten sind bislang nicht bekannt. Zum Sporenradius von *L. clavatum* gibt es verschiedene Messwerte in der Literatur, die zwischen 11,8 µm und 21 µm liegen

Art (wiss.)	Länge des Sporenstandes in mm
D. alpinum	(6) 8 – 15 (20)
D. issleri	(10) 15 – 25 (30)
D. complanatum	(10) 15 – 30
D. zeilleri	15 - 25 (30)
D. tristachyum	15 – 25
D. oellgaardii	(10) 15 – 30 (35)

Tabelle 1-1: Sporenstandslängen bei Diphasiastrum.

(BROOKS & ELSIK 1974, FERRANDINO & AYLOR 1984, NIKLAS 1985, GRINSHPUN et al. 1991, WANNER & PUSCH 2000, PETROFF 2005, LOUBET et al. 2007, ZIVCOVA et al. 2007, OKUBO et al. 2010, BORRELL 2012, BARON et al. 2014), für *D. complanatum* werden etwa 19 μm angegeben (XU et al.

2013). Auskunft zur Länge der Strobili geben FISCHER et al. 2007 (vgl. Tabelle 1-1). Zur terminalen Fallgeschwindigkeit der Diphasiastrum-Sporen gibt es bislang keine Daten in der Literatur, jedoch für L. clavatum (ZELENY & MCKEEHAN 1910, STEPANOV 1935, GREGORY & STEDMAN 1953, CHAMBERLAIN 1967, FERRANDINO & AYLOR 1984, DI-GIOVANNI et al. 1995, RAMBERT et al. 1998, LOUBET et al. 2007, BORRELL 2012). Über die maximale Ausbreitungsdistanz der Sporen ist auch nur wenig bekannt. Durch den Wind auf den Boden abgelagerte Sporen können nach BRUCHMANN 1898 nur durch Wassertropfen weitertransportiert werden, da die Anziehungskräfte zwischen Sporen und Bodenpartikeln zu groß sein sollen. Die Sporen keimen im Dunklen unter der Bodenoberfläche zu Prothallien (WHITTIER 1977, WHITTIER 1981, WHITTIER & WEBSTER 1986). Nach BRUCHMANN 1910 kann das sechs Jahre aufgrund einer Dormanzphase dauern, wobei L. clavatum und L. annotinum nur 5% keimfähige Sporen bilden sollen, die dann auch noch unregelmäßig keimen. Beim Keimen reißen die Sporen dreilappig auf. Die weitere Entwicklung hin zu einem Prothallium soll weitere sechs bis neun Jahre in Anspruch nehmen. Er beobachtete dies an den Arten D. complanatum, L. clavatum und L. annotinum. Das Prothallium von Diphasiastrum ist im Gegensatz zu denen von

*Lycopodium* möhrenförmig, aber betreibt auch Mykorrhiza (WAGNER Jr. & BEITEL 1993). Unterirdische Prothallien stellen wahrscheinlich eine Anpassung an Trockenheit dar (WAGNER et al. 1985). Die Mykorrhiza soll nach BRUCHMANN 1910 für *L. clavatum* und *L. annotinum* erst nach der Keimung im sogenannte Fünfzellstadium notwendig sein. Für *Diphasiastrum* macht er diesbezüglich keine Angaben. Die Gametophyten bilden männliche und weibliche Gameten. Dabei gibt es die Möglichkeit von echter Fremdbefruchtung (outcrossing), Selbstbefruchtung innerhalb eines Prothalliums (intragametophytic selfing) und einer Zwischenform (intergametophytic selfing) mit der gleichen genetischen Konsequenz wie bei outcrossing (vgl. Abbildung 1-2). Bei überwiegender Fremdbefruchtung innerhalb einer Population sollte die genetische Diversität zwischen den einzelnen genetischen Individuen (Geneten) größer sein als bei Selbstbefruchtung. Schließlich besteht noch die Möglichkeit der vegetativen Vermehrung über Rhizome, aus der genetisch identische Individuen, im Folgenden als Klone bezeichnet, hervorgehen. Fraglich ist, inwieweit sich diese von aus intragametophytic selfing entstandenen Individuen unterscheiden.



**Abb. 1-2: Reproduktion bei** *Diphasiastrum*. Dargestellt sind die Formen der sexuellen Reproduktion bei den *Diphasiastrum*-Arten. Zwei genetisch verschiedene Sporophyten A und B bilden unter Reduktionsteilung (Meiose) Sporen aus (A bzw. B). Nach der Keimung zum Gametophyten kann eine Befruchtung durch Gameten der Gametophyten A und B erfolgen (blau), wobei man von Outcrossing spricht. Eine Befruchtung kann auch durch Gameten der Gametophyten A1 und A2 erfolgen (violett, Intergametophytic Selfing) oder durch zwei Gameten eines Gametophyten, z. B. A1 (rot, Intragametophytic Selfing).

AllesechsinDeutschlandvorkommendenFlachbärlapp-ArtenDiphasiastrum complanatum(L.)HOLUB,Diphasiastrum alpinum(L.)HOLUB,

Diphasiastrum tristachyum (PURSH) HOLUB, Diphasiastrum zeilleri (ROUY) HOLUB, Diphasiastrum issleri (ROUY) HOLUB und Diphasiastrum oellgaardii STOOR et al. nach BUTTLER & HAND 2008 sind stark gefährdet (KORNECK et al. 1996, LUDWIG & SCHNITTLER 1996). Früher waren die Arten so verbreitet und häufig, dass sie unter anderem zu Kränzen gebunden worden sind (NAUERTZ & ZASADA 2001). Die erst im Jahr 1996 wissenschaftlich beschriebene Art D. oellgaardii ist wie die beiden Arten D. zeilleri und D. issleri hybridogenen Ursprungs, was mithilfe gelelektrophoretischer Isoenzym-Analysen nachgewiesen worden ist (STOOR et al. 1996).

Flachbärlappe besiedelten in Deutschland vermutlich einst durch Brand entstandene Waldlichtungen sowie Silikatfelsfluren der Durchbruchstäler, während es heute fast ausschließlich anthropogen geschaffene Biotope wie Wegböschungen und Skipisten, aber auch Zwergstrauchheiden auf ehemals militärisch genutzten Flächen sind (vgl. Abbildung 1-3). Aktuelle Verbreitungskarten aller *Diphasiastrum*-Arten für Deutschland gibt es im WebGIS der Deutschlandflora.



**Abb. 1-3: Standorte von** *Diphasiastrum*-Arten. Dargestellt sind ein naturnaher Kiefernmischwald mit *Diphasiastrum tristachyum* in der Oberlausitz in Sachsen (1), ein borealer Nadelwald in Süd-Finnland mit *Diphasiastrum complanatum* (2), eine Zwergstrauchheide mit *Diphasiastrum complanatum* auf einer ehemals militärisch genutzten Fläche im Thüringer Schiefergebirge (3) und eine Zwergstrauchheide mit *Diphasiastrum tristachyum* auf einer Skipiste im Rothaargebirge in Nordrhein-Westfalen (4).

Eine Gefährdungsursache könnten heutzutage zumindest indirekt die erhöhten Stickstoffeinträge in den Boden aus der Zeit des verstärkten sauren Regens in Deutschland darstellen. Saurer Regen führt zu einer Bodenversauerung (SINGH & AGRAWAL 2008). Außerdem soll er negative Auswirkungen auf die Mykorrhiza haben (KAENE & MANNING 1988, MAEHARA et al. 1993, HONRUBIA & DIAZ 1996). Bei niedrigeren pH-Werten im Boden deutlich unter 4 sind bestimmte Elemente nicht mehr (z. B. P, K, Ca, Mg), andere für die meisten Pflanzen toxische Elemente (z. B. Al) jedoch verstärkt pflanzenverfügbar (LAKE 2000). Die relativ lange Keimungsdauer der Sporen setzt ein großes Zeitfenster für die Besiedlung an einem Standort und für die weitere Entwicklung der Pflanze voraus. Dieses könnte durch eine beschleunigte Sukzession, ausgelöst durch Eutrophierung, enger geworden sein.

Um die in Deutschland nach §44 Bundesnaturschutzgesetz besonders geschützten (aufgeführt in Anlage 1 der Bundesartenschutzverordnung) und in der Flora-Fauna-Habitat-Richtlinie im Anhang V gelisteten Arten vorm Verschwinden zu bewahren, sollen die Grundlagen für ein Artenhilfsprogramm geschaffen werden, das auch auf andere Arten mit ähnlicher Ökologie wie z. B. Wintergrüngewächse (Pyrolaceae) übertragbar ist. Denn Wintergrüngewächse besiedeln ähnlich Standorte wie Flachbärlappe und besitzen ebenfalls eine ähnliche Reproduktionsbiologie, wenngleich die Ausbreitungseinheit ein nur wenige Mikrogramm schwerer Same ist (JOHANSSON et al. 2014). Das Ziel meiner Arbeit ist es, die Lage, Beschaffenheit und das zeitliche Bestehen geeigneter Flächen in der Landschaft für die Flachbärlappe zu ermitteln, die für eine spontane Neuetablierung von Populationen über Sporen erforderlich sind. Dazu ist es notwendig, die Reproduktionsbiologie der Arten und deren Standorte zu untersuchen. Darauf aufbauend gliedert sich meine Arbeit in vier Arbeitsfelder, denen folgende Fragestellungen zugrunde liegen:

#### (1) Genetische Diversität:

Wie viele Sporophyten können sich an einem Standort etablieren? Wie groß ist die genetische Diversität der Elternarten sowie der hybridogen entstandenen Zwischenarten und ist der Artstatus letzterer gerechtfertigt?

5

### (2) Sporenausbreitung:

Wie hoch ist die Sporenproduktion in den Sporenständen?

1

Wie groß ist die Ausbreitungsdistanz der Sporen einer bestehenden Population? Welchen Einfluss haben terminale Fallgeschwindigkeit und Umweltfaktoren (Wind, Luftfeuchte)?

#### (3) Etablierungsversuche:

Wie hoch ist die Keimungsrate der Sporen und kann Feuer diese beschleunigen? Wie groß sind der Rhizomzuwachs und die Anzahl gebildeter vertikaler Sprosse pro Jahr?

#### (4) Standortanalyse:

Wie lange existieren Populationen an einem Standort und welche Faktoren wirken limitierend?

#### Folgende Hypothesen gilt es zu bestätigen:

#### Genetische Diversität

Die genetische Diversität der drei Elternarten unterscheidet sich nicht signifikant voneinander.

#### **Sporenausbreitung**

Theoretische und gemessene terminale Fallgeschwindigkeit unterscheiden sich nicht signifikant.

#### Etablierungsversuche

Abgetrennte Rhizomstücke wachsen besser in der Nähe bestehender Populationen an.

#### **Standortanalyse**

Die pH-Werte der Böden Finnlands und Deutschlands unterscheiden sich signifikant. Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Alter eines Klons und seinem Durchmesser.

## 2 Material und Methoden

2

## 2.1 Genetische Diversität

Das folgende Kapitel 2.1 besteht im Wesentlichen aus dem Kapitel 2 meiner im Jahr 2014 an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald vorgelegten Diplomarbeit mit dem Titel "Etablierung von AFLP zur Abschätzung der genetischen Diversität von Restvorkommen der Gattung *Diphasiastrum* in Thüringen".

## 2.1.1 Vorarbeiten in den Untersuchungsgebieten

Für die <u>genetischen</u> Untersuchungen wurden Populationen aller *Diphasiastrum*-Arten aus dem Thüringer Wald, dem Hohen Thüringer Schiefergebirge, dem Bayerischen Wald und dem Harz ausgewählt <u>sowie einzelne Proben aus den Alpen</u> (insgesamt 209 Proben aus den Labornummern 96 bis <u>379</u>). Die Fundortdaten wurden aus den Datenbanken der jeweils zuständigen Landesbehörden für Naturschutz und aus eigenen Kartierergebnissen entnommen. Die Fundorte wurden im Herbst 2014 und 2015 aufgesucht und auf die dort nachgewiesenen Arten überprüft. Dazu wurden Luftbilder aus Google Maps mit den eingezeichneten Fundorten sowie ein GPS-Gerät Garmin etrex 10 als Unterstützung verwendet. Die Vorarbeiten sowie das Sammeln und Bestimmen der Pflanzen wurde im Harz, Bayerischen Wald (zusammen überwiegender Teil der Proben) und den Alpen durch Karsten Horn vorgenommen, für zwei zusätzlich beprobte Pflanzen aus den Alpen durch Prof. Martin Schnittler. Einen Überblick über die Fundorte, <u>Arten, Sammler und Bestimmer (leg./det.) sowie Labornummern liefert Anhang A.</u>

Da es sich bei den *Diphasiastrum*-Arten um besonders geschützte Arten nach §1 BArtSchV handelt, wird für das Sammeln nach §44 Abs. 1, Nr. 4 BNatSchG und das Aufbewahren nach §44 Abs. 2, Nr. 1 BNatSchG eine artenschutzrechtliche Ausnahmegenehmigung benötigt. Da hier der Zweck der Forschung im Mittelpunkt steht, muss eine Ausnahme nach §45 Abs. 7 Nr. 3 BNatSchG zugelassen werden. Diese wurde nach Antragstellung durch die zuständigen Naturschutzbehörden der einzelnen Landkreise, in denen gesammelt werden sollte, erteilt. Der Bescheid musste bei den Geländearbeiten mitgeführt werden. Als Gegenleistung für den Genehmigungsbescheid wurden den Naturschutzbehörden nach Abschluss der Geländearbeiten die Daten der beprobten *Diphasiastrum*-Populationen zur Verfügung gestellt. Das gleiche Verfahren

war für alle weiteren Versuche, bei denen Teile von Bärlappen entnommen worden sind, im Rahmen dieser Arbeit notwendig (Kapitel 2.2., 2.3.2, 2.3.4, 2.4.3).

Beprobt wurde je Population ein Sprossbüschel, ohne dass aufwändigere Sammelmethoden wie das Grid Sampling zum Einsatz kamen. Populationen sind im Folgenden als räumlich klar abgetrennte Flachbärlapp-Patches mit einem Mindestabstand von 1 m zueinander definiert. An den ausgewählten Fundorten der *Diphasiastrum*-Arten wurden zuerst Daten zur jeweiligen Population erhoben. Dazu gehört eine Koordinatenangabe vom Mittelpunkt der Population mit geografischen Koordinaten (Dezimalgrad) mithilfe eines GPS-Gerätes Garmin etrex 10. Neben der genauen Lokalisierung der Populationen wurden Daten zur Populationsgröße erhoben, da dies in den Nebenbestimmungen der Genehmigungsbescheide festgelegt wurde. Dazu wurde die Anzahl aller Sprossbüschel durch Zählung ermittelt und die Deckung der lebenden oberirdischen Pflanzenteile geschätzt. Hierbei wurde aber abweichend von BRAUN-BLANQUET 1964 nicht der prozentuale Anteil an der markierten Untersuchungsfläche, sondern die absolute Deckung der Art in dm<sup>2</sup> angegeben. Für die folgenden Arbeiten wurden die Sprossbüschel mit einer Astschere freigelegt. Die Arten wurden mithilfe des Bestimmungsschlüssels von HORN 2006 bestimmt.

Einige Populationen, bei denen eine Artbestimmung aufgrund Hybridisierung nicht sicher möglich war, wurden mit einem Herbarbeleg abgesichert, für den aber nur ein Teil eines Sprossbüschels verwendet wurde. Von jedem Sprossbüschel wurden zwischen 50 cm und 80 cm Sprossmaterial entnommen (ca. 200 mg Trockenmaterial). Das Pflanzenmaterial wurde mit einer Schere entnommen und in ein gefaltetes halbes Blatt Toilettenpapier eingelegt (Sprossstücke von insgesamt maximal 30 cm Länge).

Das Blatt wurde außen mit Art, Fundort und Datum beschriftet (z. B. "Dalp\_Suh\_170914") und mit Leim zugeklebt. Die beschrifteten Tüten wurden sofort in einen luftdicht verschließbaren Kunststoffbeutel (Zip-Lock) mit Silica-Gel gelegt (vgl. Abbildung 2-1). Silica-Gel ist gut geeignet, um frisches Pflanzenmaterial schnell zu trocknen, ohne die DNA stark zu zerstören. Es ist besser als Anhydrit (CaSO<sub>4</sub>) geeignet, da es mehr Wasser aufnehmen und schneller regeneriert werden kann. Außerdem ist es im Vergleich zu Anhydrit im trockenen Zustand nicht staubig und im feuchten Zustand nicht klebrig (CHASE & HILLS 1991).

8

## 2.1.2 Vorbereitung des Pflanzenmaterials

Nach dem Sammeln im Gelände wurde das Pflanzenmaterial in Zip-Lock-Beuteln in einem trockenen Raum bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die gefalteten Tüten wurden am Tag des Sammelns gewechselt, da das Material feucht gesammelt wurde. Beim Wechseln der Tüten wurde darauf geachtet, dass die Luft vorm Verschließen der Zip-Lock-Beutel herausgepresst wird, da diese Feuchtigkeit enthält und somit dem schnellen Trocknen entgegenwirkt. Das Silica-Gel wurde gewechselt, sobald es sich entfärbt hat (Farbumschlag von orange nach farblos). Das erfolgte erstmals nach ein bis zwei Tagen und wurde nach mehreren Wochen wiederholt.



**Abb. 2-1: Vorbereitung des Probenmaterials.** Getrocknetes Pflanzenmaterial von *Diphasiastrum alpinum* in Silica-Gel (links), 60 mg abgewogen und abgefüllt in 2,0ml-Tubes (Mitte) und nach dem Zerkleinern in einer Schwingmühle "Retsch MM 301" (rechts).

Für die DNA-Extraktion wurden pro Population jeweils 60 mg Pflanzenmaterial auf einer Feinwaage (Sartorius TE 313 S) abgewogen. Bei der Extraktion wurde etwa von jeder fünften Probe eine Wiederholung gemacht, wobei jeweils die gleiche Menge getrocknetes Pflanzenmaterial eingewogen wurde. Das abgewogene Probenmaterial wurde sofort in 2,0 ml-Reaktionsgefäße (Safe Lock Tubes, Eppendorf) gefüllt. In jedes 2,0 ml-Tube wurde eine Stahlkugel mit 4 mm Durchmesser gegeben. Zum Zerkleinern wurde eine Schwingmühle (MM 301, Retsch) verwendet. Das Probenmaterial war bei einer Frequenz von 30 Hz (1800/min) nach 1 min zerkleinert und homogenisiert (vgl. Abbildung 2-1).

## 2.1.3 DNA-Extraktion

## <u>Grundlagen</u>

Pflanzenzellen besitzen eine Zellwand, die vor der DNA-Extraktion erst aufgebrochen werden muss. Bei Pflanzenmaterial, welches mit Silica-Gel getrocknet wurde, erfolgt dies durch eine Schwingmühle (vgl. Kapitel 2.1.2).

Mithilfe eines Extraktionspuffers werden unerwünschte Zellbestandteile und Stoffe entfernt. Um die DNA von Membranen und Proteinen zu trennen, wird Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) eingesetzt. Zusätzlich verwendete Salze wie z. B. Natriumchlorid (NaCl) verhindern eine Komplexbildung von CTAB mit Nukleinsäuren. Bereits DELLAPORTA et al. 1983 nennen als Modifikation ihres Protokolls eine Extraktion mit CTAB.

Bei DNA-Extraktionen können nach der Auflösung der Zellbestandteile Polyphenole an die Nukleinsäuren binden. Um das zu vermeiden, kann Polyvinylpyrrolidon (PVP) eingesetzt werden, das mit Polyphenolen durch Wasserstoffbrückenbindungen Komplexe bildet (CHIRGWIN et al. 1979 in JOHN 1992).

Phenol/Chloroform- oder Chloroform/Isoamylalkohol-Extraktionen können zur weiteren Aufreinigung der Nukleinsäuren verwendet werden. Dabei bilden sich drei Phasen. Eine untere flüssige, in der das Chloroform zurückbleibt, eine mittlere feste mit Proteinen und eine obere flüssige mit den Nukleinsäuren. Nach PATERSON et al. 1993 kann eine zweifache Extraktion mit Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) sinnvoll sein, um eine reinere obere Phase zu erhalten.

## Abgeändertes Soltis Lab CTAB DNA Extraction Protocol

Zum zerkleinerten Pflanzenmaterial wurden jeweils abweichend vom Protokoll, welches auf DOYLE & DOYLE 1987 basiert, 1,2 ml vom Extraktionspuffer (vgl. Tabelle 2-1) dazugegeben, sodass die Reaktionsgefäße bis unter den Deckel befüllt waren (2,0 ml-Tubes). Nach dem Befüllen von zwei Tubes wurden diese sofort kräftig geschüttelt, um einen Absatz am Boden zu vermeiden und um die Stahlkugeln später besser entfernen zu können. Für die Reaktion kamen die Tubes mit dem zerkleinerten Pflanzenmaterial im Extraktionspuffer in einen Heizblock VLM LS1 für 60 min bei 55°C. Dabei wurden sie alle 15 min per Hand geschüttelt. Die Stahlkugeln wurden anschließend mit einem Magnet entfernt.

Stoffbezeichnung	Menge je 100 ml Puffer	Funktion bei der Extraktion
СТАВ	2 g	Entfernung von Polysacchariden
TRIS	12,1 g	Aufrechterhaltung des pH-Wertes
PVP (MW 40.000)	4 g	Entfernung von Polyphenolen
EDTA (0,5 M)	0,585 g	Schutz vor Nukleasenaktivität
NaCl (5 M)	8,18 g	Stabilisierung der DNA
Mercaptoethanol	0,5 ml	Entfernung von Polyphenolen

 Tabelle 2-1: Zusammensetzung des Extraktionspuffers

Zur Trennung von Proteinen und Nukleinsäuren wurde in einem ersten Schritt abweichend zum Protokoll Phenol und Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) im Verhältnis 1:1 verwendet. Zu den 1,2 ml Extraktionspuffer wurden 0,8 ml Phenol-Chloroform/Isoamylalkohol gegeben. Anschließend wurden die Tubes für 25 min bei 4°C (Kühlraum) und einer Frequenz von 350/min geschüttelt (Edmund Bühler KM-2). Die Tubes wurden bei 4°C für 10 min bei 15000 rcf (Eppendorf Centrifuge 5417 R) zentrifugiert. Anschließend waren drei Phasen in den Tubes erkennbar. Eine untere flüssige, in der sich das Chloroform befindet, eine mittlere feste mit den Pflanzenresten und Proteinen und eine obere, welche die Nukleinsäuren enthält. Die obere Phase (Überstand) wurde mit sterilen, geschnittenen Pipettenspitzen abgenommen und in ein neues 2,0 ml-Tube gegeben. Abweichend zum Protokoll wurde noch ein zweites Mal mit Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) extrahiert, diesmal aber ohne Zugabe von Phenol. Verwendet wurde das Volumen des Überstandes aus der Phenol-Choroform-Extraktion. Außerdem wurden zum Überstand 8 µl Ribonuklease A (RNase A) gegeben, um Ribonukleinsäuren zu entfernen. Eine Durchmischung erfolgte durch Auf- und Abpipettieren. Anschließend kamen die Tubes für 15 min bei 37°C in den Inkubator.

Nur Isopropanol wurde verwendet, um die Nukleinsäuren ausfällen zu lassen. Dazu musste die Menge des Überstandes abgeschätzt werden. Geschätzt wurde anhand der Skala der Tubes auf 50 µl genau. Zum Überstand wurden abweichend vom Protokoll 0,7 Volumen Isopropanol gegeben. Ein Homogenisieren erfolgte durch mehrmaliges vorsichtiges Hin- und Herschwenken der geschlossenen Tubes. Hierbei waren die Nukleinsäuren als fädige Strukturen erkennbar. Anschließend kamen die Tubes für 15 min ins Gefrierfach (-20°C) und wurden danach abweichend vom Protokoll für 25 min bei 15000 rcf zentrifugiert.

Nach Ausschütten des Überstandes wurde abweichend vom Protokoll zum nun erkennbaren DNA-Pellet 1 ml 70% iger Ethanol gegeben. Außerdem erfolgten eine 10minütige Inkubation und eine anschließende Zentrifugation für 5 min bei 15000 rcf. Die zweite Aufreinigung des DNA-Pellets mit 70% igem Ethanol erfolgte in gleicher Weise.

Die DNA-Pellets wurden für 15 min bei 35°C in einer Vakuum-Zentrifuge (Christ RVC 2-18) in den Tubes mit jeweils geöffnetem Deckel getrocknet.

Zu den getrockneten DNA-Pellets wurden abweichend vom Protokoll je nach Pelletgröße zwischen 40 µl und 60 µl Tris(hydroxylmethyl)-aminomethan-Ethylendiamintetraacetat-Puffer (TE-Puffer) gegeben. Die Tubes wurden über Nacht bei 4°C gelagert. Am nächsten Tag wurde die DNA in den Tubes durch vorsichtiges Anschnipsen in Lösung gebracht und anschließend entweder eingefroren (-20°C) oder weiterverwendet.

## Agarose-Gel-Elektrophorese

DNA ist aufgrund ihrer Phosphatgruppen schwach negativ geladen. Daher kann sie sich bei Anlegen einer elektrischen Spannung in Richtung der positiven Elektrode bewegen. Das verwendete Agarose-Gel besitzt eine netzartige Struktur, die ein Hindurchdringen von DNA-Fragmenten gewährleistet. Je geringer die Agarose konzentriert ist, desto größer sind die Maschen im Netz und desto leichter passen auch größere DNA-Fragmente hindurch. Da größere DNA-Fragmente das Gel langsamer durchlaufen als kleinere, ist ein Auftrennen nach ihrer Größe möglich. Zur Abschätzung der Größe wird ein Größenstandard (DNA-Marker mit Fragmenten bekannter Größe) zu Hilfe genommen. Es wurde ein 0,8% iges Agarose-Gel aus 1,44 g Agarose und 180 ml Tris-Acetat-EDTA-Puffer (TAE-Puffer) hergestellt und im lauwarmen Zustand in eine Gelwanne (Tray) gegossen. Nachdem es (nach einer Stunde) erstarrt war, wurde es über Nacht bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt. Die Gelelektrophorese-Kammer wurde mit TAE-Puffer befüllt und das Tray hineingestellt. Vor dem Auftragen der DNA-Lösung wurde diese vorsichtig per Hand homogenisiert. Von jeder DNA-Probe wurden 2 µl vermischt mit 5 µl Blaupuffer (10x) in einen Slot pipettiert. An der ersten Position, immer nach acht Proben und nach der letzten Probe wurde ein Slot ausgespart, um hier 6 µl vom λHindIII-Standard zu setzen. Anschließend wurde mithilfe eines Consort E385 Electrophoresis Power Supply (Programm P9-1) eine Spannung von 25 Volt für vier Stunden angelegt. Das Agarose-Gel mit der DNA kam anschließend für 40 min in Ethidiumbromid, um diese anzufärben. Ein Foto wurde mit einer Kamera Olympus NOC-5050 unter Zuhilfenahme eines Transilluminators (UV-Licht) unter einer Dunkelhaube Biostep DH-30/32 gemacht. Die notwendigen Einstellungen dazu lieferte die Software Argus X1 V.2.

## 2.1.4 AFLP-Reaktion

## <u>Grundlagen</u>

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) ist eine DNA-Fingerprinting-Methode und basiert auf der Detektion von DNA-Fragmenten durch Amplifikation mithilfe einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Bei der Restriktion wird die DNA mit zwei Restriktionsenzymen in Fragmente unterschiedlicher Länge mit überstehenden Enden zerschnitten. Dabei schneidet das Enzym EcoRI (aus *Escherichia coli*) ähnlich häufig wie das Enzym VspI (aus einer *Vibrio*-Art). Beides sind sogenannte Frequent Cutter. Die Erkennungssequenz von EcoRI ist sechs Basenpaare (bp) und die von VspI ebenso lang. Die entstandenen Fragmente haben nun Schnittstellen von EcoRI und EcoRI, EcoRI und VspI sowie VspI und VspI. Während der Ligation binden doppelsträngige EcoRI- und VspI-Adapter an die jeweiligen Schnittstellen mithilfe des Enzyms T4 DNA Ligase, wie in Abbildung 2-2 zu erkennen ist.

#### **Restriktion**



#### Abb. 2-2: Restriktion und Ligation.

Die Amplifikation bei komplexen Genomen mit der AFLP-Methode erfolgt in zwei Schritten. Bei der Präamplifikation werden zwei Primer mit jeweils einem selektiven Nukleotid verwendet. Bei der selektiven Amplifikation mit den Produkten aus der Präamplifikation werden hingegen Primer mit je zwei oder mehr selektiven Nukleotiden verwendet (vgl. Abbildung 2-3). So kann die Zahl an amplifizierten DNA-Fragmenten weiter reduziert werden. Denn es ist wichtig, für die Auswertung eine überschaubare Zahl an DNA-Fragmenten zu haben. Primer sind Oligonukleotide mit einer Kernsequenz, einer enzymspezifischen Sequenz und den selektiven Nukleotiden am 3<sup>c</sup>-Ende. Amplifiziert werden nur DNA-Fragmente mit einer EcoRI-Sequenz am einen und einer VspI-Sequenz am anderen Ende. Das erfolgt nur, wenn die Nukleotide der Restriktionsfragmente zu den selektiven Nukleotiden der Primer passen. Die AFLP-Methode soll das Vorhandensein oder Fehlen von DNA-Fragmenten bestimmter Länge zeigen. Sie ist bei jeder DNA anwendbar, unabhängig vom Organismus und der Genomgröße (Vos et al. 1995). Um spezifische DNA-Sequenzen effizient zu vervielfältigen, wurde die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) entwickelt. Diese umfasst drei Schritte, die sich mehrmals wiederholen (Zyklen). Die Denaturierung dient zur Auftrennung des DNA-Doppelstrangs in zwei Einzelstränge. Bei der Hybridisierung binden jeweils zwei Primer an die DNA-Fragmente und die Elongation beschreibt die Synthese der neuen DNA-Doppelstränge durch das Enzym DNA-Polymerase. Nach jedem Zyklus steht die doppelte Menge an DNA-Fragmenten zur Verfügung (MULLIS et al. 1986). Die Anzahl der nach einem PCR-Zyklus (n) amplifizierten DNA-Fragmente beträgt 2<sup>n</sup>.



**Abb. 2-3: Selektive Amplifikation.** Dargestellt sind ein DNA-Fragment mit Restriktionsschnittstellen von EcoRI (grün/rot) und VspI (blau/rot) sowie die daran gebunden Primer mit zwei (VspI-CT) bzw. drei (EcoRI-AAG) selektiven Nukleotiden.

## Durchführung

Für die Restriktion wurden die auf einem Agarose-Gel geschätzten DNA-Konzentrationen verwendet. Es wurde je Reaktionsansatz 500 ng DNA eingesetzt. Für alle Reaktionsansätze wurde ein Thermocycler "Eppendorf Mastercycler" verwendet. Alle Arbeiten wurden auf Eis durchgeführt. Der Mastermix für einen Restriktionsansatz bestand aus 10  $\mu$ l Tango-Puffer, 0,25  $\mu$ l des Restriktionsenzyms EcoRI und 0,5  $\mu$ l des Restriktionsenzyms VspI. Vor der eigentlichen Restriktion wurde zu der Menge an DNA-Lösung die entsprechende Menge an doppelt destilliertem (dd) Wasser gegeben, um auf ein Volumen von 39,25  $\mu$ l zu kommen. Zu den 39,25  $\mu$ l DNA-Wasser-Gemisch wurden je PCR-Tube 10,75  $\mu$ l vom Mastermix gegeben, um auf ein Gesamtreaktionsvolumen von 50 µl zu kommen (vgl. Tabelle 2-2). Der Reaktionsansatz für die Restriktion kam für 4,5 h bei 37°C (lid heated 60°C) in einen Thermocycler (Programm 37C45H).

Mastermix	Arbeitslösung	Endkonzentration	Volumen für einfachen Ansatz
Tango-Puffer	10x	2x	10µ1
EcoRI	20U/µ1	5U	0,25µ1
VspI	10U/µ1	5U	0,5µ1
Gesamtvolumen			10,75µl

Tabelle 2-2: Mastermix für die Restriktion.

Für die Ligation setzte sich der Mastermix für einen Reaktionsansatz folgendermaßen zusammen: 3,6  $\mu$ l dd H<sub>2</sub>O, 2  $\mu$ l T4-Ligase-Puffer, 1  $\mu$ l ATP, 0,4  $\mu$ l EcoRI-Adaptor, 2  $\mu$ l VspI-Adaptor und 1  $\mu$ l T4-Ligase (vgl. Tabelle 2-3). Zu diesem Volumen von 10  $\mu$ l wurden 10  $\mu$ l des Restriktionsprodukts pipettiert. Der Reaktionsansatz für die Ligation kam für 9 h bei 16°C (lid heated 50°C) in einen Thermocycler (Programm LIG16).

Tabelle 2-3: Mastermix für die Ligation.

Mastermix	Arbeitslösung	Endkonzentration	Volumen für einfachen Ansatz
dd H <sub>2</sub> O			3,6µ1
T4-Ligase-Puffer	10x	1x	2μ1
ATP	10mM	0,5mM	1µ1
EcoRI-Adaptor	5μΜ	1µM	0,4µ1
VspI-Adaptor	50μΜ	5μΜ	2μ1
T4-Ligase	200CEU/µ1	2,4U/Ansatz	1µ1
Gesamtvolumen			10µl

Das Ligationsprodukt wurde vor der Präamplifikation 1:5 ( $16 \mu l \ dd \ H_2O$  und  $4 \mu l$ Ligationsprodukt) verdünnt und die Verdünnung anschließend mit einem Vortexer (Vortex Genie 2) homogenisiert.

Die Präamplifikation wurde in zwei Schritten durchgeführt. Der erste Mastermix  $(5,33 \mu l)$  für einen Reaktionsansatz bestand aus  $3,13 \mu l$  dd H<sub>2</sub>O,  $1 \mu l$  NH<sub>4</sub>Cl-Puffer,

0,88 μl MgSO<sub>4</sub>, 0,25 μl dNTPs, 0,07 μl MolTaq DNA-Polymerase (vgl. Tabelle 2-4) und kam für 10 min bei 60°C in einen Thermocycler (Programm 6010MIN).

Mastermix	Arbeitslösung	Endkonzentration	Volumen für einfachen Ansatz
dd H <sub>2</sub> O			3,13µ1
NH <sub>4</sub> Cl-Puffer	10x	1x	1µ1
MgSO <sub>4</sub>	25mM	2,2mM	0,88µ1
dNTPs	10mM	0,25mM	0,25µl
MolTaq DNA- Polymerase	5U/µl	0,35U/Ansatz	0,07µl
Gesamtvolumen			5,33µl

Tabelle 2-4: Mastermix I für die Präamplifikation.

2

Für den zweiten Schritt der Präamplifikation wurde immer die Primer-Kombination EcoRI-A/VspI-C verwendet. Der Mastermix (1,17 µl) für einen Reaktionsansatz bestand aus 0,25 µl dd H<sub>2</sub>O, 0,25 µl dNTPs, 0,3 µl EcoRI-A-Primer, 0,3 µl VspI-C-Primer und 0,07 µl MolTaq DNA-Polymerase (vgl. Tabelle 2-5). Zu diesem Volumen von 6,5 µl wurden 3,5 µl des verdünnten Ligationsprodukts pipettiert. Der Reaktionsansatz kam anschließend für die PCR in einen Thermocycler (Programm AFPA6656). Nach einer ersten Denaturierung der DNA für 2 min bei 94°C, einer Primer-Hybridisierung (Annealing) für 30 s bei 66°C und einer Elongation für 2 min bei 72°C folgten zehn Zyklen, in denen die Annealing-Temperatur jeweils um 1°C auf 56°C beim elften Zyklus reduziert wurde. Die Denaturierung dauerte ab dem zweiten Zyklus nur noch 30 s. Nach dem 30. Zyklus folgte eine 30-minütige Phase bei 60°C.

Mastermix	Arbeitslösung	Endkonzentration	Volumen für einfachen Ansatz
dd H <sub>2</sub> O			0,25µ1
dNTPs	10mM	0,25mM	0,25µ1
EcoRI-A-Primer	10µM	0,3µM	0,3µ1
VspI-C-Primer	10µM	0,3µM	0,3µ1
MolTaq DNA- Polymerase	5U/µl	0,35U/Ansatz	0,07µ1
Gesamtvolumen			1,17µl

Tabelle 2-5: Mastermix II für die Präamplifikation.

Das Präamplifikationsprodukt wurde vor der selektiven Amplifikation 1:20 verdünnt (190  $\mu$ l dd H<sub>2</sub>O und 10  $\mu$ l Präamplifikationsprodukt) und die Verdünnung anschließend vorsichtig per Hand homogenisiert.

Der Mastermix (9,1  $\mu$ l) für einen Reaktionsansatz der selektiven Amplifikation bestand aus 6,04  $\mu$ l dd H<sub>2</sub>O, 1  $\mu$ l NH<sub>4</sub>Cl-Puffer, 0,88  $\mu$ l MgSO<sub>4</sub>, 0,5  $\mu$ l dNTPs, 0,45  $\mu$ l EcoRI-ACT-Primer (nur 0,15  $\mu$ l beim EcoRI-AAG-Primer), 0,16  $\mu$ l VspI-CAG-Primer (bzw. VspI-CT zu EcoRI-AAG) und 0,07  $\mu$ l MolTaq DNA-Polymerase (vgl. Tabelle 2-6). Zu den 9,1  $\mu$ l Mastermix wurden 0,9  $\mu$ l vom Präamplifikationsprodukt pipettiert. Der Reaktionsansatz kam für 2 h 50 min für die PCR in einen Thermocycler (Programm AFPA6656).

Anschließend wurde zur Vorbereitung für den Sequencer (ABI Prism 310 Genetic Analyzer) ein zweiter Mastermix ( $8,5 \mu$ l) aus  $8,41 \mu$ l HiDi und  $0,09 \mu$ l vom Größenstandard LIZ für einen einfachen Ansatz hergestellt. Dazu wurden  $1,5 \mu$ l vom Produkt aus der selektiven Amplifikation pipettiert. Zur Denaturierung der DNA kam der Reaktionsansatz für 5 min bei 95°C in einen Thermocycler (Programm DENAT95) und anschließend sofort auf Eis, damit die DNA einzelsträngig bleibt. Die PCR-Streifen mit dem fertigen Produkt aus der selektiven Amplifikation konnten nun für einen Tag bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Mastermix	Arbeitslösung	Endkonzentration	Volumen für einfachen Ansatz
dd H <sub>2</sub> O			6,04µ1
NH <sub>4</sub> Cl-Puffer	10x	1x	1µl
MgSO <sub>4</sub>	25mM	2,2mM	0,88µ1
dNTPs	10mM	0,2mM	0,5µ1
EcoRI-ACT- Primer	10μΜ	0,45µM	0,45µl
VspI-CT-Primer	10µM	0,16µM	0,16µl
MolTaq DNA- Polymerase	5U/µ1	0,35U/Ansatz	0,07ml
Gesamtvolumen			9,1µl

Tabelle 2-6: Mastermix für die selektive Amplifikation (Beispiel: AAG / CT).

## 2.1.5 Elektropherogramme und 0-1-Matrix

MAYRAND et al. 1992 entwickelten ein chemisches Verfahren, die dazu notwendige Technik und Software zur Analyse von PCR-Produkten. Dabei wurden mit bis zu vier verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen markierte DNA-Moleküle zusammen mit einem Größenstandard innerhalb eines Elektrophorese-Gels analysiert. Mithilfe des Standards wurde dem entstandenen Elektropherogramm aus eine Größenkalibrierungskurve erstellt. Die unbekannten Molekülgrößen der PCR-Produkte wurden automatisch aus der Kalibrierungskurve berechnet. Für die Analyse der Populationen kam die Kapillarelektrophorese (JORGENSON & LUKACS 1981) zum Einsatz. Die DNA-Fragmente wurden in einem ABI Prism 310 Genetic Analyzer nach ihrer Größe aufgetrennt. Dazu wurden in der selektiven Amplifikation farbstoffmarkierte (6-FAM) Eco-Primer verwendet und vor der Denaturierung der DNA ein Größenstandard (Gene Scan 500-LIZ Size Standard) dazugegeben. Die Elektropherogramme wurden mit der Software GeneScan erstellt.

Für die Ähnlichkeitsanalyse aller Populationen einer Art wurden alle Peaks zwischen 100 und 500 bp mit einer Peakhöhe von  $\geq$  30 verwendet. Dabei wurde die Einstellung "light smoothing of peaks" in GeneMapper 5.0 ausgewählt, um die Peaks etwas zu glätten. Es wurde die automatische Auswertung des Programms verwendet (automatical bin setting and reading). Die 0-1-Matrizen aus den beiden Primer-Kombinationen wurden zuerst einzeln und anschließend zusammen mithilfe eines Algorithmus in Microsoft Excel 2010 hinsichtlich Ähnlichkeiten zwischen Proben und Fehlerraten zwischen Wiederholungen ausgewertet. Mithilfe der Software PAUP 4.01 wurden die genetischen Unterschiede in einer baumartigen Struktur dargestellt.

## 2.2 Ausbreitung über Sporen

2

## 2.2.1 Sporenproduktion in den Sporenständen

Zur Abschätzung der Anzahl gebildeter Sporen wurden zum einen Sporenstände von *Lycopodium clavatum* im unreifen Zustand gesammelt und in geöffnete 2,0 ml-Tubes zum Trocknen gelegt. Die Sporen konnten so gleich in einem Messgefäß aufgefangen werden. Der Durchmesser einer Spore von *L. clavatum* entnommen aus der Literatur liegt zwischen 23,6  $\mu$ m (PETROFF 2005) und 42  $\mu$ m (WANNER & PUSCH 2000). Die Länge der Sporenstände wurde ab dem Beginn der ersten Blättchen im Sporenstand gemessen (Messgenauigkeit: 1 mm). Zu den Längen der ähnlich breiten Sporenstände der selteneren *Diphasiastrum*-Arten liefert die Online-Flora von Österreich Messwerte (FISCHER et al. 2007). Das Sporenvolumen in den Tubes wurde mit Vergleichs-Tubes mit bekanntem Volumen an Wasser (50  $\mu$ l bis 250  $\mu$ l mit Abstufungen von 50  $\mu$ l) abgeschätzt (Messgenauigkeit: 10  $\mu$ l). Das Verhältnis aus dem theoretischen Sporenvolumen in mm<sup>3</sup> und der Länge des jeweiligen Sporenstände jeder Länge Sporenvolumen bestimmt werden können. Die Packungsdichte P ist jedoch nicht bekannt, sollte aber zwischen 50% und 74% für eine angenommene Kugelform einer Spore betragen.

Volumen einer Spore:  $V_{Einzelspore} = \frac{4}{3}\pi r^3$ 

Sporenanzahl:  $n_{Sporen \ im \ tube} = \frac{P * V_{Sporen \ im \ tube}}{V_{Einzelspore}}$ 

Um die tatsächlich freigesetzte Anzahl an Sporen ermitteln zu können, ist eine Berechnung eines Minimal- und Maximalwertes erforderlich, da ein unterschiedlicher Sporenradius r (A), eine unterschiedliche Packungsdichte P der Sporen (B), ein unterschiedlicher Anteil freigesetzter Sporen  $S_f$  (C) sowie eine unterschiedliche Länge L der Sporenstände (D) berücksichtigt werden müssen. Für die Berechnung des Maximalwertes müssen von A der Minimalwert und von B, C und D der Maximalwert verwendet werden. Für die Berechnung des Minimalwertes müssen von A der Maximalwert und von B, C und D der Minimalwert verwendet werden.

Gesamtsporenvolumen (Sporenstand	d): $V_{Sporen(gesamt)} = u * L$			
Anzahl freigesetzter Sporen:	$n_{Sf} = S_f * 10^9 * \frac{V_{Sporen(gesamt)}}{V_{Einzelspore}} * P$			
Gesamtformel zur Berechnung:	$n_{Sf} = \frac{3*10^9}{4\pi r^3} * P * S_f * u * L$			
$\mathbf{r} = \mathbf{R}$ adius einer Spore in $\mu m$				
$\mathbf{P}$ = Packungsdichte der Sporen in %				

 $S_f$  = Anteil freigesetzter Sporen eines Sporenstandes in %

2

- **u** = Umrechnungsfaktor
- $\mathbf{L} =$ Länge eines Sporenstandes in mm

Aufgrund dieser Problematik wurden zusätzlich Sporen direkt in einzelnen Sporangien gezählt, um genauere Werte zu erhalten. Dies erfolgte mit einem 1x1 mm-Gitter unter einem Stereomikroskop (Zeiss Stemi SV6). Aufgrund des Aufwandes wurde dies nur mit der häufigen Vergleichsart *L. clavatum* gemacht, die auch im folgenden Sporenausbreitungsversuch geometrisch perfektere Populationen aufweist. Um die Gesamtzahl der in einem Sporenstand gebildeten Sporen zu ermitteln, wurde außerdem die Anzahl der Sporangien in einem Sporenstand bestimmt.

## 2.2.2 Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen

2

Die terminale Fallgeschwindigkeit beschreibt die Maximalgeschwindigkeit, die ein Körper mit einem Radius r und einer Dichte  $p_1$  im freien Flug ohne Luftbewegungen unter dem Einfluss der Erdbeschleunigung g erreicht.

Nach dem Stokes'schen Gesetz gilt:  $v = 2 * r^2 * g * \frac{p_1 - p_2}{9*\mu}$  mit

Radius r einer Spore = 0,0016 cm (mittlerer Wert aus Literatur) Erdbeschleunigung g = 981 cm\*s<sup>-2</sup> Dichte p<sub>1</sub> einer Spore = 1,175 g\*cm<sup>-3</sup> (mittlerer Wert aus Literatur) Dichte p<sub>2</sub> der Luft = 0,00129 g\*cm<sup>-3</sup> Viskosität  $\mu$  der Luft = 0,000182 cm\*s

Theoretische terminale Fallgeschwindigkeit:  $v = 3.6 \ cm * s^{-1}$ 

Der Sporenradius wurde für je 50 Sporen von L. clavatum, D. complanatum und D. tristachyum unter einem Mikroskop bestimmt. Da es in der Literatur sehr unterschiedliche Messwerte zur terminalen Fallgeschwindigkeit gibt, soll mithilfe eines Versuches ein klarer Wert ermittelt werden. Auch wenn es bereits Versuche gibt, bei denen die terminale Fallgeschwindigkeit mithilfe von Laserlicht gemessen worden ist (ASKEW et al. 1997), soll doch eine kostengünstigere, aber dennoch genaue Methode gewählt werden. Es wurde ein Versuch basierend auf TESMER & SCHNITTLER 2007 durchgeführt, bei dem ein durchsichtiger Zylinder verwendet worden ist, der bis auf eine kreisförmige Öffnung im oberen Teil abgedichtet war. An zwei Seiten wurden LED-Leuchten befestigt. Eine Seite des Zylinders wurde abgedunkelt, da der Versuch im Dunkeln durchgeführt worden ist (vgl. Abbildung 2-4). Für den Versuch wurden Sporenstände der weiter verbreiteten Bärlapp-Art L. clavatum verwendet. Ein Sporenstand wurde über die kreisförmige Öffnung gehalten und einmal mit dem Zeigefinger angestoßen. Von den unterschiedlich schnell sinkenden "Sporenwolken" wurde die letzte ausgewählt, da es hier am wahrscheinlichsten ist, tatsächlich einzelne Sporen zu messen. Von dieser wurden einzelne Sporen ausgewählt und mit einer Stoppuhr die Zeit gemessen, die sie von der oberen Markierung des Zylinders bis zur unteren Markierung (insgesamt 24,5 cm) benötigt haben.



Abb. 2-4: Fallzylinder.

## 2.2.3 Sporenfallen zur Ermittlung der Ausbreitungsdistanzen

### Vorversuch

Als Vorversuch wurden an einer Population von *L. clavatum* in Mecklenburg-Vorpommern (Heideberge bei Neu Dargelin) zwei verschiedene Typen von Sporenfallen getestet. Zum einen eine mit vertikal ausgerichteten, klebenden Objektträgern (ALCAZAR et al. 2003) und eine mit horizontal ausgerichteten Trichtern mit einem Netz (GOMEZ-NOGUEZ et al. 2014). Letztere ermöglichen auch eine Messung des Niederschlages. Beide Sporenfallen wurden so errichtet, dass sie Sporen in einer Höhe von 30 cm über dem Boden einfangen können (vgl. Abbildung 2-5). Mit dem am besten geeigneten Sporenfallen-Typ sollen *Diphasiastrum*-Populationen in Thüringen und Sachsen und diese Population von *L. clavatum* als Vergleichsart mit ähnlich großen Sporen untersucht werden.



Abb. 2-5: Sporenfallen. Dargestellt sind die "Pluviometric Spore Trap" (links) und die Klebefalle (rechts).
Für den Versuch an der Population von L. clavatum im Landkreis Vorpommern-Heidebergen nördlich Greifswald auf den von Neu Dargelin war eine artenschutzrechtliche Ausnahmegenehmigung erforderlich. Ebenso musste eine Erlaubnis des Eigentümers und Bewirtschafters der Grünlandfläche eingeholt werden. Die Population von L. clavatum wurde stichprobenartig mit einem 1 x 1 m-Gitter (vgl. Abbildung 2-6) kartiert, um den Entwicklungszustand der Sporenstände zu dokumentieren. Anhand der Anzahl reifer Sporenstände in den Aufnahmeflächen kann auf die Gesamtzahl reifer Sporenstände in der Population geschlossen werden.



Abb. 2-6: Gitter zur Einmessung der Individuen.

Die Sporenfallen wurden in acht Himmelsrichtungen (S, SW, W, NW, N, NO, O, SO) und in drei Entfernungen (1 m, 2 m, 5 m) zur Ausgangspopulation aufgestellt. Zum Einmessen der vier Achsen (Himmelsrichtungen) wurde ein Maßband verwendet. Für die Abstände wurden die nächstgelegenen fertilen Sprosse dieser Achsen ausgewählt. An den so erzeugten 24 Punkten wurden links und rechts (jeweils 90° zur Achse) im Abstand von

10 cm die beiden Sporenfallen befestigt (vgl. Abbildung 2-7). Die Sporenfallen wurden nach zwei Wochen wieder abgebaut.



**Abb. 2-7: Schema zur Anordnung der Sporenfallen.** Dargestellt sind die Ausgangspopulation, die Achsen der acht Himmelsrichtungen sowie die beiden Typen von Sporenfallen (blau = Pluviometric Spore Trap, rot = Klebefalle).

Zur Auszählung der Sporen in bzw. an den Sporenfallen wurde wie folgt vorgegangen. Bei den Pluviometric Spore Traps wurden die Füllstände (Niederschlagswasser) angezeichnet. Anschließend wurde jedes 100 µm-Netz mit Wasser durchgespült. Der Inhalt wurde nun mit einem 20 µm-Netz gefiltert, um Partikel von Sporengröße (30 bis 35 µm) aufzufangen. Die 20 µm-Netze wurden unter einem Stereomikroskop Stemi SV6 auf Sporen kontrolliert. Zur Auszählung der Sporen an den Klebefallen wurde eine Schablone mit Messgitter zum Einspannen der Objektträger unter einem Stereomikroskop (Zeiss Stemi SV6) gefertigt. Diese enthält 24 Messquadrate von 1 mm<sup>2</sup> Größe im Abstand von 9 mm zueinander und mit einem Mindestabstand von 3 mm zum Rand aufgrund von Randeffekten. An jedem der 24 Messquadrate wurden alle Sporen gezählt und später der erzeugte Mittelwert auf die Fläche der Klebefolie am Objektträger (76 mm x 26 mm) hochgerechnet. Automatische Sporenzählungen wie bei WAGNER & MACHER 2012 sind ungeeignet, da Bärlapp-Sporen zu variabel in Form und Größe sind.

#### Hauptversuch

Im Hauptversuch wurde die Methode mit den Objektträgern mit Klebefolie verwendet. Es wurden drei geeignete Bärlapp-Populationen in Mecklenburg-Vorpommern (L. clavatum, Neu Dargelin, VG), Thüringen (D. complanatum, Lichtenhain, SLF) und Sachsen (D. tristachyum, Dürrbach, GR) ausgewählt. Geeignet ist eine Population, wenn sie isoliert von anderen Bärlapp-Populationen ist (>1 km entfernt), da es so keine Kontamination auf den Objektträgern geben kann. Denn Lycopodium-Sporen sind makroskopisch nicht von Diphasiastrum-Sporen unterscheidbar. Geeignet ist eine Population weiterhin nur, wenn die zahlenmäßig ausreichenden (n > 50) reifenden Sporenstände nicht sehr verteilt, sondern eher punktförmig stehen und wenn das Gelände im Umkreis von 200 m eben ist. Folgende Abänderungen waren notwendig. Zum einen wurden immer drei Sporenfallen an jedem Messpunkt im Abstand von 10 cm zueinander aufgestellt, um diese als "Wiederholungen" zu nutzen, die Messwerte also abzusichern. Zum anderen wurden Sporenfallen auch in größeren Entfernungen aufgestellt, um die Fernausbreitung über Sporen nachweisen zu können (Entfernungen 1 m, 2 m, 5 m, 10 m, 20 m, 50 m, 100 m und 200 m). Abweichend davon wurden in Thüringen nur bis in 20 m und in Sachsen nur bis in 50 m Entfernung zur Population Sporenfallen aufgestellt, da es Hindernisse (dichter Nadelholzforst) in größeren Entfernungen gab. Des Weiteren wurden die Populationen und deren Sporenstände vollständig kartiert und in ein 10 x 10 cm-Raster eingezeichnet, wobei zwischen reifen und unreifen Sporenständen unterschieden worden ist (vgl. Abbildung 2-8).



**Abb. 2-8: Unterschiedliche Typen von Sporenständen.** Dargestellt sind ein dreiteiliger ausgereifter Sporenstand von *Lycopodium clavatum* mit bereits freigesetzten Sporen (links) sowie ein einfacher unreifer Sporenstand dieser Art (rechts).

Mehrteilige Sporenstände wurden entsprechend ihrer Anzahl als mehrere kartiert. Die Kartierung der Sporenstände soll zeigen, ob es einen Zusammenhang zwischen der Sporenanzahl in geringeren Entfernungen von der Population (0 m bis 2m) und der Verteilung der Sporenstände innerhalb der Population gibt. Ansonsten könnte ein Zusammenhang mit der Windrichtung möglich sein. Die Messschablone hat nun anstelle von 24 1 x 1 mm-Zählfeldern 75 Zählfelder und die Objektträger werden so eingespannt, dass die Seite, die im Freilandversuch oben war, nach rechts zeigt. Der Objektträger ist hier mit "oben" beschriftet (vgl. Abbildung 2-9). Das ist wichtig, da auch getestet werden soll, ob es Bereiche am Objektträger gibt, in denen sich deutlich mehr Sporen als in anderen Bereichen befinden.

1	
unten	oben

Abb. 2-9: Messschablone zum Auswerten der Ausbreitungsversuche.

Die Anzahl an Sporen pro cm<sup>2</sup> in Abhängigkeit zur Entfernung lässt sich mit einer mathematischen Funktion der Form  $f(x) = a^*x^{-b}$  beschreiben mit x als Ausbreitungsradius r sowie a und b als die zu ermittelnden Parameter. Die theoretische Ausbreitungsdistanz für eine Spore bei konstant horizontal wehendem Wind v<sub>hw</sub> und ohne Berücksichtigung von Turbulenzen und Aufwind lässt sich berechnen, wenn Fallhöhe h und terminale Fallgeschwindigkeit v<sub>s</sub> einer Spore bekannt sind:  $r_{theor} = (h^*v_{hw})/v_s$  (KUPARINEN 2006). Ist die theoretische Ausbreitungsdistanz geringer als die gemessene gibt es aufwärts gerichtete Luftströmungen. Die Fallhöhe h beträgt bei *L. clavatum* (3,5-) 6,5 – 30 (-38) cm (FISCHER et al. 2007). Als mittlerer Wert wurden 10 cm nach stichprobenartigen Messungen im Gelände angenommen. Die tägliche mittlere Windgeschwindigkeit (in

Beaufort), die tägliche Hauptwindrichtung und die tägliche Niederschlagsmenge über den Untersuchungszeitraum wurden vom Deutschen Wetterdienst entnommen. Die Funktion f(x) wurde noch zu  $f_2(x)$  erweitert, da auch die Streuung der Sporen nach links und rechts in einer Ebene parallel zur Bodenoberfläche berücksichtigt werden muss (entspricht dem Radius x), um eine Aussage zur Anzahl der vorbeifliegenden Sporen in unterschiedlichen Entfernungen machen zu können. Außerdem wurde berücksichtigt, dass die sporenbildende Population kein Punkt, sondern eine Fläche ist, die zur Vereinfachung als Kreis mit einem Radius  $x_{pop} = 5$  m betrachtet wird:  $f_2(x) = (2^*x_{pop}+x)^*a^*x^{-b}$ . Die Ausbreitung der Sporen in die Höhe wurde aufgrund der Komplexität und fehlender Messungen nicht mit berücksichtigt in dieser Arbeit. Dennoch konnte der Sporenverlust zwischen zwei sehr naheliegenden Radien x mit einem Abstand von 1 m für verschiedene Entfernungen berechnet werden. Ein Integrieren der Funktion war hierbei nicht erforderlich.

# 2.3 Etablierungsversuche

2

# 2.3.1 Untersuchungsgebiete und Versuchsaufbau

Für die Etablierungsversuche wurden drei *Diphasiastrum*-Populationen ausgewählt. Eine Population (*D. complanatum*) befindet sich im Östlichen Thüringer Schiefergebirge 1 km nordwestlich des Ortes Wellsdorf im Pöllwitzer Wald bei ca. 440 m ü. NN. Hier siedelt die Art auf einer ehemaligen Lehrgrenze der NVA. Die anderen beiden Populationen (*D. alpinum* und *D. tristachyum*) liegen im Hohen Thüringer Schiefergebirge südwestlich des Ortes Brennersgrün bei ca. 710 m ü. NN, wo sie den Grenzstreifen der ehemaligen innerdeutschen Grenze (Grünes Band) besiedeln (vgl. Abbildung 2-10). Die Population mit *D. alpinum* wird im Folgenden als Brennersgrün NO und die mit *D. tristachyum* als Brennersgrün SW bezeichnet.



#### Abb. 2-10: Untersuchungsgebiet

Die Auswahl der Populationen erfolgte nach bestimmten Kriterien. Nach Durchsicht des Fachinformationssytems Naturschutz der Thüringer Landesanstalt für Umwelt und Geologie und der Kontrolle im Gelände wurden nur *Diphasiastrum*-Populationen mit >100 Sporenständen ausgewählt, die isoliert sind, damit nur eine geringe Kontaminationsgefahr durch Sporenflug von anderen *Diphasiastrum*-Populationen gegeben ist. Schließlich wurden nur Populationen ebener, offener Standorte ausgewählt, um einen einfachen Versuchsaufbau zu ermöglichen.

Für die vier in den Versuchen untersuchten Bärlapp-Arten waren artenschutzrechtliche Ausnahmegenehmigungen erforderlich, da Teile von ihnen entnommen werden sollten. Die Erlaubnis der Flächeneigentümer (DBU Naturerbe GmbH und Thüringenforst) wurde zeitgleich eingeholt. Als Vergleichsart mit ähnlicher Reproduktionsbiologie, aber vermutlich kürzerer Keimungsdauer wurde *L. clavatum* aus dem Umfeld der *Diphasiastrum*-Populationen verwendet. RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015 fanden bei Bodenuntersuchungen deutlich weniger Prothallien von *Diphasiastrum* als von *Lycopodium* und schlussfolgerten, dass bei *Diphasiastrum* die Sporenlebensfähigkeit und die Befruchtungsrate geringer als bei *Lycopodium* sind. Die Etablierung der *Diphasiastrum*-Arten wurde in Entfernungen von 1 m, 10 m und 100 m in jeweils zwei Richtungen zu der bestehenden sporenbildenden *Diphasiastrum*-Population untersucht (vgl. Abbildungen 2-11 bis 2-13).



**Abb. 2-11: Untersuchungsgebiet A.** Dargestellt sind die untersuchte Population von *Diphasiastrum alpinum* (blau), Populationen anderer Bärlapp-Arten (rosa = *Huperzia selago*, grün = *Lycopodium clavatum*) sowie die Patches für die Ansiedlungsversuche (weiß).



**Abb. 2-12: Untersuchungsgebiet C.** Dargestellt sind die untersuchte Population von *Diphasiastrum complanatum* (rot), die Population von *Lycopodium clavatum* (grün) sowie die Patches für die Ansiedlungsversuche (weiß).



**Abb. 2-13: Untersuchungsgebiet T.** Dargestellt sind die untersuchte Population von *Diphasiastrum tristachyum* (gelb), die Population von *Lycopodium clavatum* (grün) sowie die Patches für die Ansiedlungsversuche (weiß).

Jeder dieser sechs Patches pro Population wurde in weitere zweimal vier Kleinflächen von 40 cm x 40 cm Größe und zweimal eine Kleinfläche von 80 cm x 80 cm unterteilt. Auf den Kleinflächen wurden die Vegetationsschichten entfernt und der Oberboden etwa 5 cm tief abgeplaggt (vgl. Abbildung 2-14).



Abb. 2-14: Kleinflächen eines Patches.

Die Kleinflächen 5 wurden für den Test auf Spontanansiedlung durch Sporenflug zuerst angelegt. Des Weiteren wurde Oberboden aus dem Bereich der jeweiligen *Diphasiastrum*-Population sowie der näheren Umgebung entnommen. So sollte gewährleistet sein, dass der lebensnotwendige Mykorrhiza-Pilz im Boden vorhanden ist. Daraus wurde ein Gemisch (10:1) hergestellt und dieses anschließend auf eine Korngröße  $\leq 2$  mm gesiebt. Sporen wurden an einem Tag während der Sporenreife aus allen Sporenständen entnommen, indem Papiertüten von 6 cm x 7 cm übergestülpt und durch zehnmaliges Anschnipsen die Sporen mithilfe der Tüten aufgefangen wurden. So konnte gewährleistet werden, dass noch ausreichend Sporen für den Test auf Spontanansiedlung in den Sporenständen enthalten sind. Sammelzeitraum war je nach Art Mitte Juli (*D. complanatum*), Anfang August (*D. alpinum*) und Anfang Oktober (*D. tristachyum*). Die Sporen wurden anschließend trocken gelagert. Für die Keimungsversuche im Gelände wurden Sporentaschen aus Nylon mit 30 µm Maschenweite basierend auf JOHANSSON & ERIKSSON 2014 gefertigt (vgl. Abbildung 2-15). Sie führten einen Keimungsversuch bei Wintergrüngewächsen (Pyrolaceae) in Schweden durch. Dadurch konnte eine Kontamination mit anderen Samen minimiert werden. Die Verwendung von Taschen bei den Flachbärlappen ermöglicht es, eine Kontamination mit anderen ähnlichen Bärlapp-Sporen zu reduzieren und jedes Jahr mit wenig Aufwand Keimungsraten zu ermitteln.



**Abb. 2-15: Fertigung der Sporentaschen.** 4x4 cm großes Stück Nylonstoff (links) zweiseitig mit Zweikomponentenklebstoff verschlossen und mit 0,4 cm<sup>3</sup> Bodenmaterial befüllt (Mitte) sowie komplett mit Klebstoff verschlossen, beschriftet und mit Zwirn zur Befestigung im Gelände versehen (rechts).

Ein Teil der Sporen wurde vor dem Befüllen in die Sporentaschen mit Feuer behandelt, da das die Keimung beschleunigen soll. In einem Versuch von VOGEL et al. 2011 sank dabei die Keimdauer von *L. digitatum* von neun Monaten auf drei Wochen. Dazu wurde mithilfe eines Feuerzeuges in einer Blechdose (Durchmesser = 10 cm, Höhe = 11,5 cm) ein Zellstofftuch (30 cm x 30 cm) angezündet. Sofort nach der Flammenbildung wurde die Hälfte der gesammelten Sporen (*D. complanatum*: 0,01 cm<sup>3</sup>, *L. clavatum* bei *D. complanatum*: 1 cm<sup>3</sup>, *D. alpinum*: 0,05 cm<sup>3</sup>, *L. clavatum* bei *D. alpinum*: 0,15 cm<sup>3</sup>; *D. tristachyum*: 0,3 cm<sup>3</sup>, *L. clavatum* bei *D. tristachyum*: 1,5 cm<sup>3</sup>) in die Flamme gegeben, sodass es zu einer kurzzeitigen "Feuerballbildung" kam. Das Sporen-Asche-Gemisch wurde anschließend mit 50 ml Wasser aus der Dose gewaschen und in einen Glasbehälter gefüllt. Die Sporentaschen wurden mit 0,4 cm<sup>3</sup> gesiebtem Bodenmaterial befüllt (420 pro Population). Je Population wurden davon in 120 Taschen die vorher feuerbehandelten Sporen von *Diphasiastrum* (60) und *L. clavatum* (60) gegeben. In 240 Taschen wurden unbehandelte Sporen gefüllt. Verwendet wurden jeweils 0,1 ml eines Sporen-Wasser-Gemisches. Die letzte offene Seite der Sporentaschen wurde anschließend mit Klebstoff verschlossen. Pro Population wurden schließlich noch 120 Taschen mit Rauchgas behandelt. Dazu wurden die verschlossenen Sporentaschen eine Stunde dem Rauch von verbrennendem Holz (*Picea abies, Pinus sylvestris, Betula pendula*) ausgesetzt. Zur Prüfung der Keimung ex situ unter nicht sterilen Bedingungen (BECK 1880) wurden zusätzlich 20 Petrischalen (8 cm Durchmesser) pro Untersuchungsgebiet mit 20 cm<sup>3</sup> gesiebtem Bodenmaterial und 0,1 ml Sporen-Wassergemisch von *Diphasiastrum* und *L. clavatum* (unbehandelt und feuerbehandelt) befüllt und später im Dunkeln bei 4°C gelagert. Auch wenn Sporen in Ethanol besser löslich sind, wurde Wasser verwendet, da Ethanol möglicherweise negative Effekte auf die Sporenhülle haben kann.

Die zweimal fünf Kleinflächen pro Patch wurden wie folgt behandelt (vgl. Abb. 2-16). Auf den Kleinflächen 1 wurden die Sporentaschen mit gesiebtem Bodenmaterial und ohne Sporen ausgelegt. Die Kleinflächen 2 wurden mit gesiebtem Bodenmaterial bestreut (jeweils 1 dm<sup>3</sup>). Dazu wurden Sporen in Form eines Sporen-Wasser-Gemisches (0,5 ml) gegeben. In den Kleinflächen 3 wurden die Sporentaschen mit gesiebtem Bodenmaterial und unterschiedlich behandelten Sporen, befestigt mit einem 13 cm langen Nagel im Boden, geordnet ausgelegt. Die Kleinflächen 4 stellen Kontrollflächen dar. Hier wurde langfristig überprüft, ob eine Spontanbesiedlung durch Sporen möglich ist. Hier wurde auch jährlich die Sukzessionsgeschwindigkeit kontrolliert, indem Vegetationsaufnahmen angefertigt worden sind. Auf den Kleinflächen 5, die abweichend zu den anderen Kleinflächen 80 cm x 80 cm groß sind, wurden Sprossstücke verpflanzt, um die Effizienz der vegetativen Vermehrung zu ermitteln.



Abb. 2-16: Bearbeitung der Kleinflächen. Alle Patches wurden in den drei Gebieten gleich angeordnet und zwar so, dass sich die Seite mit den Kleinflächen 1 am Kolonnenweg befindet und die Kleinflächen 5 davon abgewandt sind.

### 2.3.2 Sprossverpflanzungen

Die Sprossstücke wurden aus der bestehenden Population entnommen. Pro Patch wurde ein Spross von *Diphasiastrum* und einer von *L. clavatum* in einer Tiefe von ca. 3 cm verpflanzt. Wichtig war hierbei, dass das Wurzelsystem beim Ausgraben nicht beschädigt worden ist. Anhaftendes Bodenmaterial wurde soweit wie möglich vorsichtig entfernt. Mit einer Schere wurden ein bis zwei Sprossbüschel mit anhängendem im Wachstum befindlichen Rhizom entnommen (vgl. Abbildung 2-17). Die Sprossstücke waren je nach Art unterschiedlich lang: bei *D. tristachyum* 16,2 ( $\pm$  5,3) cm, bei *D. alpinum* 10,7 ( $\pm$  1,9) cm, bei *D. complanatum* 19,3 ( $\pm$  3,8) cm und bei *L. clavatum* 23,3 ( $\pm$  3,7) cm. Verpflanzungsversuche führten bereits BENCA 2014 mit verschiedenen Bärlapp-Arten durch, wobei es zusätzlich eine In vitro-Phase mit kontrollierten Bedingungen gab. Sie verwendeten Sprossstücke mit ein oder mehr Sprossbüscheln von insgesamt 20 bis 30 m Länge mit einem Wurzelsystem. Bei allen eingepflanzten Sprossen wurde notiert, welche Merkmale der Standort aufweist. Als positiv für ein Sporophytenwachstum werden entwickelte Böden angesehen. Außerdem könnte das Vorhandensein von anderen Bärlappen und von Heidekrautgewächsen positiv sein, da diese möglicherweise gleiche Mykorrhiza-Pilze zum Leben benötigen. Denn man findet *Diphasiastrum*-Arten und die Art *L. clavatum* zu nahezu 100% mit Arten aus dieser Pflanzenfamilie vergesellschaftet. Mithilfe der verpflanzten Sprosse wurden der jährliche Rhizomzuwachs in cm und die jährliche Anzahl neu gebildeter vertikaler Sprosse ermittelt. Diese Parameter stellen die Grundlage für die Altersbestimmung einzelner Bärlapp-Klone in Kapitel 2.4.3 dar.



**Abb. 2-17: Verpflanzung von Sprossstücken.** Dargestellt ist ein Sprossbüschel von *Diphasiastrum tristachyum* mit Rhizom und Wurzelsystem während der Vermessung (links), beim Einsetzen in den lehmig-schluffigen Oberboden (Mitte) und die Versiegelung der Pflanzstelle (rechts).

### 2.3.3 Keimungsversuche

Neben den Keimungsversuchen im Freiland wurden auch noch Keimungsversuche unter sterilen Bedingungen (axenic culture) mit drei *Diphasiastrum*-Arten (*D. complanatum*, *D. zeilleri*, *D. tristachyum*) und *L. clavatum* als Vergleichsart durchgeführt. Dazu wurden trocken, im Dunkeln und bei Raumtemperatur gelagerte Sporen (je nach Art 25  $\mu$ l, 50  $\mu$ l, 75  $\mu$ l bzw. 100  $\mu$ l) in 2,0 ml-Tubes gefüllt, mit 0,1% Polysorbat (Tween) 20 befeuchtet und anschließend zweimal gründlich mit demineralisiertem Wasser in einem Filter (ca. 10  $\mu$ m Maschenweite) gespült. Dort wurden sie mit 70% Ethanol und anschließend für zwei Minuten mit 1% bzw. 2% Natriumhypochlorit-Lösung gespült, zweimal mit demineralisiertem Wasser gespült und als Sporenlösung in 2,0 ml-Tubes gefüllt. Nach dem Sterilisieren wurden die Sporen unterschiedlich behandelt. Ein Teil der Sporen wurde für 24 Stunden bei 80°C erhitzt (**E**) und gleichzeitig bei 300 rpm geschüttelt (Mixing Block MB 102). Ein weiterer Teil wurde mit sterilem Seesand für 30 Sekunden per Hand gemörsert (**M**). Außerdem wurde ein Teil der Sporen für eine Stunde Rauchgas (**R**) aus der Verbrennung von Holz der Arten *Picea abies, Pinus sylvestris* und *Betula* 

pendula ausgesetzt. Dabei wurden in Wasser gelöste Sporen in Taschen aus Planktonnetz (20 µm Maschenweite) gefüllt und in den Rauch gehängt sowie anschließend für 24 Stunden in eine mit Rauchgas gefüllte luftdichte Kunststofftüte gelegt. Außerdem gab es noch Kombinationen aus Erhitzen und Rauchgas (ER), Mörsern und Rauchgas (MR) sowie einen Ansatz ohne Behandlung der Sporen (U). Nachträglich (einen Monat später) wurden Sporen noch für fünf Minuten mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt (nur 24 Petrischalen-Kulturen, je 6 von jeder Art), da das auch die Keimung beschleunigen kann (FREEBERG & WETMORE 1957). Sporen aller vier Arten aus der etwa einen Monat lang im Dunklen bei 4°C gelagerten Sporenlösung wurden abschließend noch mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt, da sich dies positiv auf die Keimung auswirken soll. Für die Keimungsversuche wurde ein Nährstoffmedium hergestellt. Ein Liter davon enthielt basierend auf WHITTIER 2003 100 mg NH<sub>4</sub>Cl, 50 mg MgSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O, 20 mg CaCl<sub>2</sub>, 50 mg K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,25 ml Spurenelemente: 1 Liter davon enthielt 2,5 g MnCl<sub>2</sub> \* 4 H<sub>2</sub>O, 2 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 50 mg ZnSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O, 30 mg CoSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O, 15 mg CuSO<sub>4</sub>, 25 mg Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> \* 2 H<sub>2</sub>O (nach WHITTIER & STEEVES 1960, aber Cu und Co als Sulfat), 4 ml 1,85 M Fe-EDTA, 5 g Glucose und 1% Agar. Es wurde ein zweites Nährstoffmedium ohne Glucose hergestellt, um herauszufinden, ab wann in der Entwicklung von einer Spore zu einem Prothallium Zucker benötigt wird (WHITTIER 1964). Bei einem Keimungsversuch mit der ebenso mykotrophen Farnart Botrychium dissectum war Zucker erst bei der Prothallienentwicklung, jedoch noch nicht bei der Sporenkeimung notwendig (WHITTIER 1973). Nach dem Autoklavieren für 20 Minuten bei 121°C und 1,1 bar (VWR Vapourline 80) wurden die Sporen abweichend von WHITTIER 1998 nicht in verschließbare Kultivierungs-Tubes, sondern in Petrischalen von 9 cm Durchmesser gegeben und mit Parafilm luftdicht verschlossen, um so den Feuchtigkeitsverlust zu minimieren. Dabei wurden in jede Petrischale 2 ml Sporenlösung gegeben, die je nach Art ca. 100 bis 10000 Sporen enthielt. Die Sporenkulturen in den Petrischalen wurden im Dunkeln, etwa bei Raumtemperatur gelagert (WHITTIER 1981, WHITTIER 1998, WHITTIER 2003, WHITTIER & WEBSTER 1986). Bei einem zweiten Ansatz wurden den die Sporenkulturen im Dunkeln bei +4°C gelagert. Tabelle 2-7 gibt einen Überblick über den Versuchsaufbau und die verschiedenen Versuchsansätze am Beispiel von L. clavatum. Von jedem Ansatz wurde eine Wiederholung gemacht. Pro Art gab es somit 2\*6\*2\*2\*2 = 96 Petrischalen-Kulturen (plus 24 Kulturen aus Behandlung mit Schwefelsäure).

Art	NaClO	U	Е	Μ	R	MR	ER	Glucose	Temp.
	1%	Х						X	4°C
	1%	Х						Х	22°C
	1%	Х							4°C
	1%	Х							22°C
	1%		х					Х	4°C
	1%		Х					Х	22°C
	1%		Х						4°C
	1%		Х						22°C
	1%			Х				Х	4°C
	1%			Х				Х	22°C
	1%			Х					4°C
	1%			X					22°C
	1%				Х			Х	4°C
	1%				Х			Х	22°C
	1%				Х				4°C
	1%				х				22°C
	1%					Х		Х	4°C
	1%					Х		Х	22°C
	1%					Х			4°C
	1%					Х			22°C
	1%						х	Х	4°C
	1%						х	Х	22°C
ш	1%						х		4°C
vatu	1%						х		22°C
clar	2%	Х						Х	4°C
L. 6	2%	Х						Х	22°C
	2%	Х							4°C
	2%	Х							22°C
	2%		Х					Х	4°C
	2%		Х					Х	22°C
	2%		Х						4°C
	2%		Х						22°C
	2%			Х				Х	4°C
	2%			Х				Х	22°C
	2%			Х					4°C
	2%			Х					22°C
	2%				Х			Х	4°C
	2%				х			Х	22°C
	2%				Х				4°C
	2%				X				22°C
	2%					X		Х	4°C
	2%					X		Х	22°C
	2%					X			4°C
	2%					Х			22°C
	2%						X	Х	4°C
	2%						X	Х	22°C
	2%						X		4°C
	2%						X		22°C

#### Tabelle 2-7: Ansätze für die Keimungsversuche.

Die Kontrolle auf gekeimte Sporen erfolgt nach gleicher Methodik wie bei den Freilandversuchen. Dazu wurde ein Petrischalendeckel mit 49 aufgezeichneten 5 x 5 mm-Feldern als Messschablone verwendet (vgl. Abb. 2-18).



Abb. 2-18: Messschablone zum Auswerten der Keimungsversuche.

Die Anzahl aller sowie der gekeimten Sporen in jedem dieser Felder wurde unter einem Stereomikroskop bestimmt. Die sterilen Kulturen wurden anfangs wöchentlich und später (nach einem Monat) monatlich auf gekeimte Sporen kontrolliert, die Freilandkulturen etwa jährlich.

## 2.3.4 Sukzessionsgeschwindigkeit

Für die Vegetationsaufnahmen nach einem und zwei Jahren wurde die Deckung nicht nach BRAUN-BLANQUET 1964, sondern als konkreter Wert ermittelt. In die Auswertung einbezogen wurde die Deckung der Moosschicht, die Gesamtdeckung sowie das Vorkommen von Heidekrautgewächsen und Baumarten. Die Bodenart wurde im Gelände bestimmt. Die Sukzessionsgeschwindigkeit wird als Zunahme der Deckung (flächiger Vegetationszuwachs) nach zwei Jahren in Prozent auf einer im Jahr 0 etwa 5 cm tief abgeplaggten Fläche definiert.

## 2.4 Standortanalyse

### 2.4.1 Gametophytenreservoir im Boden

2

Um die Menge an Prothallien im Boden im Bereich von *Diphasiastrum*-Populationen abschätzen zu können, ist es erforderlich, im Oberboden zu graben. Dabei wurden je Population drei Bodenproben von 50 x 50 cm bis in 10 cm Tiefe reichend entnommen. Anschließend wurde die störende Moosschicht entfernt und die Probe in 10 x 10 cm-Plots unterteilt. Die Feinsuche nach Prothallien erfolgte mit einer Pinzette (RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015). Nach SPESSARD 1922 sollen Prothallien von *L. clavatum* meist in 1 cm Bodentiefe, seltener in >2 cm zu finden sein. Auch HORN et al. 2013 geben für *D. alpinum* eine Bodentiefe von 1 bis 2 cm an. Nach SCHMID & OBERWINKLER 1993 sind es 2 bis 3 cm für *L. clavatum*. Prothallien von *Diphasiastrum* (SPESSARD 1917, WHITTIER & BRITTON 1995, RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015) werden als rübenförmig beschrieben, wohingegen jene von *L. clavatum* (SPESSARD 1917, BRUCE & BEITEL 1979) als kugelförmig bis eiförmig beschrieben werden.

Insgesamt wurden für diese Untersuchung zwei *Diphasiastrum*-Vorkommen auf sandigen Böden in Mecklenburg-Vorpommern (*D. complanatum*) und Sachsen (*D. tristachyum*) untersucht, da hier Graben einfacher als in lehmigen Böden ist.

### 2.4.2 Bodeneigenschaften

Hierbei wurden Fundorte rezenter *Diphasiastrum*-Populationen in Mecklenburg-Vorpommern, Thüringen, Sachsen und Bayern (Oberfranken) sowie aus Finnland hinsichtlich des Boden-pH-Wertes und des geologischen Untergrundes untersucht. Der geologische Untergrund bzw. das Ausgangsgestein für die Bodenbildung wurden aus geologischen Karten bzw. vor Ort bestimmt. Zur Messung des pH-Wertes wurden Bodenproben (Mischproben) vom Oberboden (1 bis 5 cm Tiefe) und Unterboden (10 bis 20 cm Tiefe) aus 26 Populationen entnommen und bei 4°C gelagert. Die Proben wurden luftgetrocknet und auf 3 mm Korngröße gesiebt. Der pH-Wert wurde mit einem pH-Meter (WTW pH315i) in 0,01 M CaCl<sub>2</sub>-Lösung bei 20,0 ( $\pm$ 0,3) °C bestimmt. Dabei kamen 10 g Bodenmaterial (bei Humus 10 ml) in 25 ml Lösung und wurden 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Verwendet wurde eine Globatronics GT-KSg-04-Waage.

# 2.4.3 Alter von Individuen, Populationen und Standorten

2

Für die Altersbestimmungen wurden sechs klar abgrenzbare *Diphasiastrum*-Populationen in Mecklenburg-Vorpommern (Wokuhl: *D.* x *zeilleri*, Neustrelitz: *D. complanatum*) und Thüringen (Steinheid, Oberhof und Neuhaus am Rennweg: *D.* x *issleri*, Brennersgrün: *D. alpinum*) ausgewählt. Die Position der einzelnen Sprossbüschel und Verzweigungen an den Rhizomen wurde auf 1 cm genau kartiert (vgl. Abbildung 2-19).



Abb. 2-19: Rhizomvermessung bei *Diphasiastrum complanatum*. Mit einem Maßband wurden die Entfernungen zwischen den Rhizomverzweigungen gemessen. Im linken Teil des Fotos befinden sich die jungen grünen vertikalen Sprosse, weiter rechts die älteren, zum Teil abgestorbenen Sprosse.

Es wurde zwischen jungen farblosen (w), grünen sporentragenden (s), einfachen grünen (g) und abgestorbenen braunen Sprossbüscheln (b) unterschieden. Gesicherte Verbindungen zwischen den Sprossbüscheln wurden mit einer durchgezogenen Linie und vermutete Verbindungen mit einer gestrichelten Linie dargestellt. Um die Ausdehnung einer Population zu ermitteln, wurde nach mehreren Messungen die maximale Entfernung zwischen zwei Sprossen als Durchmesser verwendet (OINONEN 1967). Mithilfe der Abstände zwischen vertikalen Sprossen am Rhizom kann auf Zuwachsraten geschlossen

werden. Jedoch wird pro Jahr mehr als ein Sprossbüschel gebildet (PRIMACK 1973, YIN & MEICENHEIMER 2017 sowie mündliche Mitteilung Karsten Horn). Die längste der nicht unterbrochenen Rhizom-Verbindungen zwischen allen Sprossbüscheln stellt den minimalen Gesamtzuwachs der Population seit der ersten Sprossbüschelbildung eines Sporophyten dar. Es ist nur der minimale Gesamtzuwachs, da Teile von Rhizomen abreißen oder absterben können. Ein entsprechender Korrekturfaktor zum eigentlichen Gesamtzuwachs ist erforderlich. Um klären zu können, ob alle als getrennte Rhizome kartierten Pflanzen ursprünglich zu einem Klon gehörten, wurde die AFLP-Methode für einige Populationen (D. x zeilleri, Wokuhl - Labornummern 506 - 517 und D. x issleri, Steinheid - Labornummern 489 - 496; vgl. Anhang A) erneut verwendet. Von jedem Rhizom mit grünen Sprossbüscheln wurde Material entnommen. Es wurde abweichend zu Kapitel 2.1 nur die Primer-Kombination EcoRI-AAG / VspI-CT verwendet und die 0-1-Matrix wurde für D. x zeilleri komplett manuell ohne automatic oder manual bin setting und reading erstellt, da der Längenstandard häufig zu einer Profilverschiebung zwischen 200 und 300 Basenpaaren führte und so nicht vorhandene Unterschiede zwischen AFLP-Profilen generiert wurden.

Das minimale Alter der Populationen (2b) und das ungefähre Alter der Standorte (1b), das dem maximalen Alter der Populationen entspricht, wurden durch Literaturrecherche und Befragungen ermittelt (1a, 2a). Somit konnten die sechs Populationen als Referenzpopulationen bekannten Alters verwendet werden. Als Besiedlungszeit (von einer Spore zum ersten Sporophyten) wurden fünf Jahre angenommen und in die folgenden Berechnungen einbezogen.

Die Anzahl der vertikalen Sprosse an der längsten zusammenhängenden Rhizomverbindung (3a) wurde wie oben beschrieben noch durch eine genetische Untersuchung abgesichert (4a). Unter Berücksichtigung der berechneten mittleren Abstände zwischen zwei vertikalen Sprossen der jeweiligen Populationen wurde die einstige Anzahl vertikaler Sprosse ermittelt, als alle Rhizomstücke noch verbunden waren. Aus den Daten von Kapitel 3.3.2 wurde ein Mindestalter für die Populationen ermittelt (3b, 4b). Mithilfe der Daten zur Anzahl vertikaler Sprosse an der längsten Rhizomverbindung (3a und 4a) und dem Alter des Standorts (1a) wurde auf die Mindestanzahl jährlich gebildeter vertikaler Sprosse (5a) geschlossen. Diese Anzahl wurde mit der berechneten aus Kapitel 3.3.2 verglichen (5b). Abschließend wurden die Radien der Populationen (6a) mit dem errechneten Mindestalter der Population (3b bzw. 4b) ins Verhältnis gesetzt, um eine Aussage darüber treffen zu können, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Alter einer Population und seines Durchmessers gibt (vgl. OINONEN 1967).

Unabhängig von den zuvor genannten Untersuchungen wurde für einige *Diphasiastrum*-Populationen in naturnahen Kieferwäldern im östlichen Teil Deutschlands (Oberlausitz: Spreewitz, Kromlau, Halbendorf, Dürrbach sowie Wokuhl im Nordostdeutschen Tiefland und Arzberg im Fichtelgebirge) das Alter der umgebenden Baumbestände (nur *Pinus sylvestris*) durch Messungen an den 30 nächstgelegenen Bäumen ermittelt. Die Höhe der Bäume wurde mit einem Förster-Dreieck näherungsweise bestimmt. Außerdem wurde der Brusthöhendurchmesser mit einem Maßband gemessen. Einen Zusammenhang zwischen Brusthöhendurchmesser und Alter eines Baumes fand MITCHELL (1979). Das Alter lässt sich demnach näherungsweise aus dem Brusthöhendurchmesser in cm dividiert durch 1,3 als spezifischen Altersfaktor für die Wald-Kiefer (*Pinus sylvestris*) multipliziert mit 2 für Waldbäume in geschlossenen Beständen berechnen. Das ermittelte Bestandsalter der Bäume lässt einen Rückschluss auf ein mögliches Pionierstadium der dortigen Vegetation zu, das für den Zeitraum ab der Keimung bis zur Sporophytenbildung von Bedeutung ist, wenngleich diese Methode einige Ungenauigkeiten beinhaltet.

### 3 Ergebnisse

## 3.1 Genetische Diversität

Die morphologische Bestimmung der Arten nahm für die Gebiete Harz und Bayerischer Wald Karsten Horn vor. Diese deckten sich mit den Resultaten aus den genetischen <u>Untersuchungen</u>. Die Feherrate unterscheidet sich deutlich bei den beiden verwendeten Primer-Kombinationen. Für EcoRI-AAG / VspI-CT liegt sie für alle Arten bei 9,9% und für EcoRI-ACT / VspI-CAG bei 14,3%. Die Unterschiede hinsichtlich der einzelnen Arten sind Tabelle 3-1 zu entnehmen.

Art	Fehlerrate und	Anzahl von	
7 11 1	AAG-CT	ACT-CAG	Wiederholungen
D. alpinum	9,6% (177)	13,8 (195)	12
D. complanatum	5,8 (192)	10,9 (220)	16
D. x issleri	7,6 (187)	9,7 (185)	4
D. x oellgaardii	9,5 (146)	8,2 (152)	2
D. tristachyum	7,4 (131)	14,9 (174)	4
D. x zeilleri	9,2 (167)	15,2 (181)	7
alle Arten	9,9 (246)	14,3 (267)	45

Tabelle 3-1: Fehlerrate beim AFLP.

Als Mindestgrenze für zwei unterschiedliche Genotypen wurden 18 Unterschiede in der 0-1-Matrix (Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein von Peaks) angenommen, was in etwa der Fehlerrate für beide Primer-Kombinationen entspricht. Damit lassen sich für EcoRI-AAG / VspI-CT 8 Genotypen bei 64 Proben für *D. alpinum*, 65 Genotypen bei 65 Proben für *D. complanatum*, 36 Genotypen bei 36 Proben für *D. x issleri*, 3 Genotypen bei 8 Proben für *D. x oellgaardii*, 2 Genotypen bei 14 Proben für *D. tristachyum* und 17 Genotypen bei 17 Proben für *D. x zeilleri* und ermitteln. Für EcoRI-ACT / VspI-CAG sind das bei identischer Probenanzahl 44 Genotypen für *D. alpinum*, 65 Genotypen für *D. x oellgaardii*, 25 Genotypen für *D. x oellgaardii*, 65 Genotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotypen für *D. alpinum*, 70 Senotypen für *D. x oellgaardii*, 70 Senotype

14 Genotypen für *D. tristachyum* und 17 Genotypen für *D. x zeilleri* und ermitteln. Eine zusammenfassende Darstellung liefert Tabelle 3-2.

Art	Anteil von Genotypen an Proben			
	AAG-CT	ACT-CAG		
D. alpinum	8 / 64	44 / 64		
D. complanatum	65 / 65	65 / 65		
D. x issleri	36 / 36	35 / 36		
D. x oellgaardii	3 / 8	6 / 8		
D. tristachyum	2 / 14	14 / 14		
D. x zeilleri	17 /17	17 / 17		

Tabelle 3-2: Anteil von Genotypen.

Die Fehlerrate von zwei Wiederholungen ist meist geringer als der Unterschied zwischen zwei Proben unterschiedlicher geografischer Herkunft. Nur für *D. alpinum* und *D. tristachyum* (beide Primer-Kombinationen) gibt es eine teilweise Überlagerung (vgl. Abbildungen 3-1 und 3-2).



Abb. 3-1: Unterschiede zwischen Proben der *Diphasiastrum*-Arten I. Dargestellt sind die Unterschiede in den DNA-Fragmenten (Different alleles) zwischen zwei Proben beim Vergleich von jeder Probe mit jeder (Combinations) bei den sechs verschiedenen Arten (Primer-Kombination EcoRI-AAG / VspI-CT). In rosa sind die Unterschiede zwischen zwei Wiederholungen einer Probe hervorgehoben.



**Abb. 3-2: Unterschiede zwischen Proben der** *Diphasiastrum*-Arten II. Dargestellt sind die Unterschiede in den DNA-Fragmenten (Different alleles) zwischen zwei Proben beim Vergleich von jeder Probe mit jeder (Combinations) bei den sechs verschiedenen Arten (Primer-Kombination EcoRI-ACT / VspI-CAG). In rosa sind die Unterschiede zwischen zwei Wiederholungen einer Probe hervorgehoben.

Im "neighbour-joining tree" (erstellt von Martin Schnittler) sind die Elternarten klar getrennt. *D. alpinum* ist in zwei Gruppen aufgespalten, die den geografischen Herkünften Bayerischer Wald und Harz entsprechen. Die Proben aus Thüringen teilen sich auf die beiden Gruppen auf, die aus den Alpen sind bei der Harz-Gruppe zu finden. Die Hybridarten stehen in der Regel zwischen ihren Elternarten (vgl. Abbildung 3-3).



**Abb. 3-3: Neighbour-joining tree für alle** *Diphasiastrum*-Arten. Der Baum wurde aus der Kombination der beiden oben genannten Primer-Kombinationen erstellt. Die Farben bezeichnen die Arten mittels Bestimmung durch Analyse des RPB2-Gens und die Form der Symbole die geografische Herkunft. Die Beschriftungen stehen für die Genotypen aus Untersuchungen der Chloroplasten rbcL-atpB-Region und des Introns des RPB2-Gens. A und B stehen für Wiederholungen einer Probe (SCHNITTLER et al. unveröffentlicht).

# 3.2 Ausbreitung über Sporen

3

# 3.2.1 Sporenproduktion in den Sporenständen

Die Schätzung des Sporenvolumens von *L. clavatum* zeigte, dass selten alle Sporen freigesetzt werden. Abbildung 3-4 zeigt Sporenstände von *L. clavatum* mit einem unterschiedlichen Anteil an freigesetzten Sporen.



**Abb. 3-4: Unterschiedliche Sporenfreisetzung bei** *Lycopodium clavatum*. Dargestellt sind zwei Sporenstände mit 100% freigesetzten Sporen (links) und zwei Sporenstände mit 55 bis 60% freigesetzten Sporen (rechts).

Der Anteil der freigesetzten Sporen wurde geschätzt und mithilfe dessen das theoretische Volumen von 100% freigesetzten Sporen eines Sporenstandes berechnet. Diese berechneten Volumina liegen abhängig von der Länge des Sporenstandes zwischen 65 und 100 mm<sup>3</sup> (vgl. Tabelle 3-3). Der Anteil freigesetzter Sporen beträgt im Mittel 72%. Der Umrechnungsfaktor u liegt bei 3,07 ( $\pm 0,05$ ).

Probe	Länge in mm	Volumen in mm <sup>3</sup> (gemessen)	freigesetzte Sporen in %	Volumen in mm <sup>3</sup> (theoretisch)
1	64 (32 + 32)	200	100	200
2	64 (32 + 32)	180	95	190
3	62 (32 + 30)	110	55 bis 60	190
4	56 (28 + 28)	150	90	170
5	55 (28 + 27)	150	90	170
6	46 (24 + 22)	90	65	140
7	45 (23 + 22)	90	65	140
8	43 (22 + 21)	80	60	130
9	42 (22 + 20)	100	75	130
10	42 (19 + 23)	30	20 bis 25	130

Tabelle 3-3: Sporenvolumen und Länge von zwei Sporenständen.

Für die Berechnung der Anzahl der tatsächlich freigesetzten Sporen wurden folgende Minimal- und Maximalwerte für die Parameter ermittelt: ein Radius von 11,8 und 21  $\mu$ m, eine Packungsdichte von 52 und 74%, die bei Kugelanordnungen im Raum realistisch ist, ein Anteil freigesetzter Sporen von minimal 75 (Mindestwert während der Hauptsporenreife) und maximal 100% und die Länge der Sporenstände bei *L. clavatum* von 21 bzw. 32 mm. Dabei konnten ein Minimalwert von ca. 0,6 Mio. und ein Maximalwert von ca. 10,5 Mio. Sporen pro Sporenstand ermittelt werden (vgl. Tabelle 3-4).

Tabelle 3-4: Anzahl freigesetzter Sporen von Lycopodium clavatum.

	Radius r	Packungs- dichte P	Anteil freigesetzter Sporen S <sub>f</sub>	eigesetzter Länge der ren S <sub>f</sub> Sporenstände L		Anzahl freigesetzter Sporen n
Min	21 µm	52%	75%	21 mm	3,06	646.039
Max	11,8 µm	74%	100%	32 mm	3,06	10.528.548

Wendet man die Formel auf die *Diphasiastrum*-Arten an, so müssen je nach Art unterschiedliche Werte für die Länge des Sporenstandes verwendet werden (vgl. Tabelle 1-1). Hierbei wurden die in Klammern stehenden Extremwerte jedoch nicht berücksichtigt. Alle anderen Parameter wurden von *L. clavatum* entnommen, da dort keine Unterschiede in den Extremwerten zu erwarten sind. Die Anzahl tatsächlich freigesetzter Sporen liegt bei *D. alpinum* bei ca. 0,2 bis 4,9 Mio. und erreicht somit nur gut die Hälfte aller anderen *Diphasiastrum*-Arten (vgl. Tabelle 3-5). Aufgrund der im Mittel kürzeren Sporenstände setzen die *Diphasiastrum*-Arten eine geringere Anzahl an Sporen frei.

Art	X	Radius r	Radius rPackungs- dichte PAnteil frei- gesetzter Sporen Sf		Länge der Sporen- stände L	Umrech- nungs- faktor u	Anzahl freigesetzter Sporen n
dp	Min	21 µm	52%	75%	8 mm	3,06	246.110
D.6	Max	11,8 µm	74%	100%	15 mm	3,06	4.935.257
iss	Min	21 µm	52%	75%	15 mm	3,06	461.457
$D_{il}$	Max	11,8 µm	74%	100%	25 mm	3,06	8.225.428
tri	Min	21 µm	52%	75%	15 mm	3,06	461.457
D.	Max	11,8 µm	74%	100%	25 mm	3,06	8.225.428
ei	Min	21 µm	52%	75%	15 mm	3,06	461.457
D.	Max	11,8 µm	74%	100%	25 mm	3,06	8.225.428
mo	Min	21 µm	52%	75%	15 mm	3,06	461.457
D.c	Max	11,8 µm	74%	100%	30 mm	3,06	9.870.514
ləc	Min	21 µm	52%	75%	15 mm	3,06	461.457
D.0	Max	11,8 µm	74%	100%	30 mm	3,06	9.870.514

Tabelle 3-5: Anzahl freigesetzter Sporen von Diphasiastrum-Arten.

Mithilfe der direkten Zählung von Sporen in den Sporangien konnte die Ungenauigkeit reduziert werden.

Die fünf ausgewählten Strobili von *L. clavatum* enthielten 105,2 ( $\pm$  3,7) Sporangien bei einer mittleren Länge der Sporenstände von 21,2 ( $\pm$  2,0) mm. Die Anzahl der Sporen pro Sporangium (n = 4) lag bei 27735 ( $\pm$  7492). Daraus folgt eine Anzahl von 2 917 722 Sporen pro Strobilus für *L. clavatum*, jedoch mit Schwankungen zwischen etwa 2,1 und 3,8 Millionen Sporen. Für die Population bei Neu Dargelin ergibt sich somit eine potentiell freigesetzte Sporenmenge von 24 bis 43 Milliarden im Jahr 2015.

### 3.2.2 Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen

3

Die Sporenmessungen ergaben einen mittleren Durchmesser von 29,5 ( $\pm$  2,0) µm für *L. clavatum*, 32,3 ( $\pm$  2,5) µm für *D. complanatum* und 33 ( $\pm$  2,6) µm für *D. tristachyum* (jeweils n = 50). Die durchschnittliche gemessene terminale Fallgeschwindigkeit von *L. clavatum*-Sporen lag bei 2.16  $\pm$  0.11 cm\*s<sup>-1</sup> (n = 50). Die theoretische terminale Fallgeschwindigkeit berechnet nach dem Stokes'schen Gesetz würde bei 3.09 cm\*s<sup>-1</sup> und damit deutlich darüberliegen, wenn bei 20°C gemessen wird und ein Sporendurchmesser von 29.5  $\pm$  2.0 µm sowie eine Dichte einer Einzelspore von 1.175 g/cm<sup>3</sup> angenommen werden. Vergleichswerte und der eigene Messwert sind Abbildung 3-5 zu entnehmen. Für die etwas größeren Sporen von *D. complanatum* wurde eine geringfügig höhere terminale Fallgeschwindigkeit von 2,25 ( $\pm$  0,10) cm\*s<sup>-1</sup> (n = 50) gemessen. Vergleichsdaten aus der Literatur sind nicht in ausreichender Menge vorhanden und wurden deshalb nicht in die Abbildung aufgenommen.



**Abb. 3-5: Terminale Fallgeschwindigkeit der Sporen.** Dargestellt ist die gemessene Fallgeschwindigkeit (Mittelwert und Standardabweichung) von *Lycopodium clavatum*-Sporen im Vergleich mit Messungen anderer Autoren (rot) und die theoretische Fallgeschwindigkeit basierend auf den Sporenmessungen der jeweiligen Autoren (blau).

# 3.2.3 Sporenfallen zur Ermittlung der Ausbreitungsdistanzen

#### <u>Vorversuch</u>

Der Sporenfallentyp "Klebefalle" lieferte folgende Ergebnisse. Die mittlere Anzahl an Sporen pro Quadratmillimeter lag bei der Entfernung von 1 m bei 39, von 2 m bei 29 und von 5 m bei 13. Die meisten Sporen sind an den Sporenfallen, die nordöstlich und südwestlich der Population befestigt wurden, registriert worden. In den Sporenfallen vom Typ "Pluviometric Spore Trap" sind keine Sporen festgestellt worden.

#### Hauptversuch

Die Sporenanzahl an einer Sporenfalle ist abhängig von der unterschiedlichen Anzahl an Sporenständen der drei Populationen. Während es bei Dürrbach nur 93 (vgl. Abbildung 3-7) und bei Lichtenhain nur 142 (vgl. Abbildung 3-9) reife Sporenstände gab, waren es bei Neu Dargelin 11358 (vgl. Abbildung 3-11). Außerdem sind die Sporenstände je nach Art unterschiedlich groß und enthalten unterschiedlich viele Sporen (vgl. Kapitel 3.2.1). Bei Dürrbach wurden in 1 m Entfernung nur 8 ( $\pm$  7) Sporen pro cm<sup>2</sup> ermittelt (vgl. Abbildung 3-6), bei Lichtenhain nur 49 ( $\pm$  28) Sporen pro cm<sup>2</sup> (vgl. Abbildung 3-8) bei Neu Dargelin jedoch 3349 ( $\pm$  1522) Sporen pro cm<sup>2</sup> (vgl. Abbildung 3-10). Nur für letztere Population wurde eine Sporenausbreitungsfunktion erstellt und der Sporenverlust ermittelt.



**Abb. 3-6: Sporenausbreitungskurven von** *Diphasiastrum tristachyum*. Dargestellt ist die Anzahl der Sporen in Abhängigkeit von der Entfernung (1 m, 2 m, 5 m und 10 m) für die in acht Himmelsrichtungen positionierten Sporenfallen.



Abb. 3-7: Sporenstände von *Diphasiastrum tristachyum*. Dargestellt ist die Lage der Sporenfallen in einer Entfernung von 1 m sowie die Verteilung und die Anzahl der reifen Sporenstände, die mithilfe eines 1 x 1 m-Gitters auf  $10 \times 10$  cm-Raster genau kartiert worden sind (gelb: 1-5 und hellbraun: 6-10 Sporenstände).



**Abb. 3-8: Sporenausbreitungskurven von** *Diphasiastrum complanatum*. Dargestellt ist die Anzahl der Sporen in Abhängigkeit von der Entfernung (1 m, 2 m, 5 m, 10 m und 20 m) für die in acht Himmelsrichtungen positionierten Sporenfallen.



**Abb. 3-9: Sporenstände von** *Diphasiastrum complanatum*. Dargestellt ist die Lage der Sporenfallen in einer Entfernung von 1 m sowie die Verteilung und die Anzahl der reifen Sporenstände, die mithilfe eines 1 x 1 m-Gitters auf 10 x 10 cm-Raster genau kartiert worden sind (gelb: 1-5, hellbraun: 6-10 und braun: 11-20 Sporenstände).



**Abb. 3-10: Sporenausbreitungskurven von** *Lycopodium clavatum*. Dargestellt ist die Anzahl der Sporen in Abhängigkeit von der Entfernung (0 m, 1 m, 2 m, 5 m, 10 m, 20 m, 50 m, 100 m und 200 m) für die in acht Himmelsrichtungen positionierten Sporenfallen.



**Abb. 3-11: Sporenstände von** *Lycopodium clavatum.* Dargestellt ist die Lage der Sporenfallen in Entfernungen von 0 m und 1 m sowie die Verteilung und die Anzahl der reifen Sporenstände, die mithilfe eines 1 x 1 m-Gitters auf 10 x 10 cm-Raster genau kartiert worden sind (gelb: 1-5, hellbraun: 6-10, braun: 11-20 und dunkelbraun: >21 Sporenstände).

Die Sporenausbreitungsfunktion kann am besten mit der Funktion  $f(x) = 45878*x^{-2,302}$  für die Entfernungen von 5 m bis 200 m beschrieben werden (R<sup>2</sup> = 0,9979). Die geringeren Entfernungen wurden nicht berücksichtigt, da dies zu einer Abweichung der Kurve von den Messwerten in größeren Entfernungen führt, die aber für die Arbeit besonders relevant sind (vgl. Abbildung 3-12).



**Abb. 3-12: Mittlere Sporenausbreitungskurve für** *Lycopodium clavatum*. Dargestellt sind die zusammengefassten Sporenzählungen für die Population von *Lycopodium clavatum* bei Neu Dargelin für alle acht Himmelsrichtungen und die Entfernungen 5 m, 10 m, 20 m, 50 m, 100 m und 200 m mit logarithmierter y-Achse. In jeder Entfernung (schwarze Raute) gab es bis zu 24 Messungen (graue Rauten). Die kleinere Teilabbildung zeigt den Ausschnitt von 50 m bis 200 m mit nicht logarithmierter y-Achse.

Bis in 200 m Entfernung wurden noch Sporen nachgewiesen. Einige Sporenfallen waren beschädigt und ließen somit keine aussagekräftigen Zählungen zu. Einen Überblick über die Sporenzählungen der *L. clavatum*-Population gibt Tabelle 3-6.

<b>F</b> 46	Himmelsrichtung								
Entiernung	N	NO	0	SO	S	SW	W	NW	
	4434.2	5074.2	3134.7	1272 4	1119.6	1667.1	5041.8	3600.4	
0 m	(±	(±	(±	(+ 01 1)	(±	(±	(±	(±	
	219.7)	502.7)	263.0)	(± )1.1)	172.5)	156.3)	150.6)	515.4)	
	4435.1	5101.8	2628.0	888.9	830.6	1220.3	3402.7	2989.8	
1 m	(±	(±	(±	(±	(1, 95, 2)	$(\pm 40.4)$	(±	(±	
	355.6)	324.4)	228.7)	243.4)	(± 85.5)	(± 49.4)	325.6)	352.7)	
	3651.1	4380.0	1596.9	844.4	602.2	840.4	3197.8	1056 /	
2 m	(±	(±	(±	(±	(+78.2)	(+ 22.0)	(±	(1930.4)	
	152.1)	108.4)	738.0)	102.6)	$(\pm 78.2)$	(± 22.9)	394.2)	$(\pm 37.3)$	
	1386.2	2401.3	741.8	224.0	164.0	106.0	1215.6	5167	
5 m	(±	(±	(±	(1, 92, 2)	(+51.2)	$(\pm 20.1)$	(±	340.7	
	128.8)	140.4)	120.2)	$(\pm 03.3)$	$(\pm 31.2)$	(± 29.1)	131.3)	$(\pm 33.3)$	
	126.0	598.7	200.0	127.2	40.2	60.4	652.0	160.4	
10 m	(+67.2)	(±	(+54.8)	(137.3)	(+11.5)	(1.26.7)	(+50.2)	(+21.2)	
	$(\pm 07.5)$	247.5)	(± 34.8)	$(\pm 20.7)$	(± 11.3)	$(\pm 30.7)$	$(\pm 30.2)$	$(\pm 31.3)$	
20 m	94.7	keine	64.9	17.8	6.7	6.2	keine	39.1	
20 m	(± 34.0)	Daten	(± 9.8)	(± 4.7)	(± 6.1)	(± 6.0)	Daten	$(\pm 8.0)$	
50 m	4.9	5.3	16.9	2.2	1.3	1.8	2.7	2.2	
50 m	(± 2.0)	(± 1.3)	(± 5.6)	(± 2.0)	(± 1.3)	(± 1.5)	(± 0)	± (2.0)	
100 m	2.2	3.1	0	0	0.4	0	1.8	0	
100 m	$(\pm 0.8)$	$(\pm 0.8)$	0	0	$(\pm 0.8)$	0	(± 3.1)	0	
200 m	0	0.4	0	keine	1.3	0	0	0	
200 m	U	$(\pm 0.8)$	U	Daten	(± 1.3)	U	U	U	

Tabelle 3-6: Sporenzählungen bei Lycopodium clavatum.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Sporenanzahl auf den Objektträgern und der Position zur Sporenquelle im Sinne einer Himmelsrichtung gefunden werden. Während die meisten Sporen nordöstlich und nördlich der Population aufgefangen worden sind, waren es überwiegend aus Osten wehende Winde im Untersuchungszeitraum. Auffallend sind allerdings deutlich geringere Sporenmengen an den Objektträgern südwestlich, südlich und südöstlich der Population (vgl. Abbildung 3-13).



Abb. 3-13: Zusammenhang zwischen Sporenanzahl und Windrichtung. Die auf der x-Achse dargestellten Himmelsrichtungen bedeuten, dass der Wind in diese Richtung geweht hat, aber aus der entgegengesetzten Richtung kam. Mit dem Wind wurden die Sporen von Lycopodium clavatum in diese Richtung transportiert und die Zählungen dort an den Sporenfallen vorgenommen.

Die theoretische maximale Ausbreitungsdistanz der Sporen liegt bei einer Fallhöhe von 0,1 m, einer Windgeschwindigkeit von 10 m/s und einer terminalen Fallgeschwindigkeit der Sporen von *L. clavatum* von 0,0216 m/s bei 46,3 m. Auch bei der Annahme einer Windgeschwindigkeit von 100 km/h, die an manchen Tagen kurzfristig erreicht worden sein könnte, ist der Transport einer Spore mit dem horizontal wehenden Wind nur bis in maximal 128,6 m möglich. Sporen wurde jedoch noch in 200 m Entfernung zur Population gefunden.

Ohne Berücksichtigung der vertikalen Verteilung in der Luft fliegen in der Höhe der Sporenfallen unter Anwendung der Sporenausbreitungsfunktion  $5*10^7$  Sporen in einer Entfernung von 1 m zur sporenbildenden Population,  $4,6*10^5$  Sporen in 10 m,  $1,3*10^4$  Sporen in 100 m, 575 Sporen in 1000 m und 28 Sporen in 10000 m durch die Luft und passieren den entsprechenden Radius bzw. die Entfernung. Der Sporenverlust liegt demnach zwischen 1 und 2 m bei  $3,9*10^7$ , zwischen 10 und 11 m bei 71801, zwischen 100 und 101 m bei 173 und zwischen 1000 und 1001 m nur noch bei einer Spore.
## 3.3 Etablierungsversuche

## 3.3.1 Sprossverpflanzungen

Die Verpflanzung einzelner Sprossstücke in den drei Untersuchungsgebieten verlief insgesamt erfolgreich. Nach zwei Jahren sind 12 von 72 Sprossstücken (17%) angewachsen und vital. Bei der Art *D. alpinum* (Brennersgrün) sind es 1 von 12 Sprossstücken (8%), bei *D. complanatum* (Pöllwitzer Wald) 2 von 12 (17%) und bei *D. tristachyum* (Brennersgrün) 1 von 12 (8%). Die Vergleichsart *L. clavatum* wuchs insgesamt ähnlich gut an (22%): im Pöllwitzer Wald mit 2 von 12 Sprossen und bei Brennersgrün mit 1 von 12 (Untersuchungsgebiet A) bzw. sogar mit 5 von 12 Sprossen (Untersuchungsgebiet T). Das unterschiedlich schnelle oberirdische Sprosswachstum ist in den Abbildungen 3-14 bis 3-17 dargestellt.

Der Längenzuwachs am Rhizom nach zwei Jahren gemittelt und heruntergerechnet auf ein Jahr liegt für *D. alpinum* bei 0,5 cm, für *D. tristachyum* bei 7,5 cm, für *D. complanatum* bei 13,3 ( $\pm$  1,8) cm und für *L. clavatum* bei 9,1 ( $\pm$  4,0) cm. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Vitalität eines angepflanzten Sprosses nach zwei Jahren und der Entfernung zur nächstgelegenen Bärlapp-Population ermittelt werden (vgl. Tabelle 3-7).

Entfernung zur nächstgelegenen Population Art	1 m	10 m	100 m
D. alpinum	0	1	0
D. complanatum	0	1	1
D. tristachyum	1	0	0
L. clavatum (A)	0	1	0
L. clavatum (C)	0	0	2
L. clavatum (T)	3	2	0
insgesamt	4	5	3

Tabelle 3-7: Anzahl vitaler Sprosse in Abhängigkeit zur Entfernung.



**Abb. 3-14: Verpflanzter Spross von** *Diphasiastrum alpinum*. Dargestellt sind der eingesetzte Spross bei Brennersgrün (A10NII) aus dem Herbst 2014 (links) und der angewachsene Spross im Herbst 2015 mit einem neu gebildeten Sprossbüschel (5, rechts).



Abb. 3-15: Verpflanzter Spross von *Diphasiastrum complanatum*. Dargestellt sind der eingesetzte Spross im Pöllwitzer Wald (C100NII) aus dem Herbst 2014 (links) und der angewachsene Spross im Herbst 2015 mit abgestorbenen (1 und 2) sowie neuen (3) Sprossbüscheln (rechts).



**Abb. 3-16: Verpflanzter Spross von** *Diphasiastrum tristachyum*. Dargestellt sind der eingesetzte Spross bei Brennersgrün (T1SI) aus dem Herbst 2014 (links) und der angewachsene Spross im Herbst 2015, jedoch ohne neue vertikale Sprosse (rechts).



**Abb. 3-17: Verpflanzter Spross von** *Lycopodium clavatum*. Dargestellt sind der eingesetzte Spross im Pöllwitzer Wald (LC100NII) aus dem Herbst 2014 (links) und der angewachsene Spross im Herbst 2015 mit großem Zuwachs (rechts).

# 3.3.2 Keimungsversuche

Nach zweieinhalb Jahren konnten bei der stichprobenartigen Kontrolle der Sporentaschen und der Petrischalen mit Sporen und Bodenmaterial vom Standort keine gekeimten Sporen und sich daraus entwickelte Prothallien unterm Stereomikroskop nachgewiesen werden. Ebenso erfolglos verliefen die nachträglich durchgeführten Keimungsversuche auf sterilem Nährstoffmedium. Nach fünf Monaten bzw. vier Monaten, für die mit konzentrierter Schwefelsäure behandelten Sporen, konnten keine keimenden Sporen unter dem Stereomikroskop gefunden werden.

# 3.3.3 Sukzessionsgeschwindigkeit

Die Auswertung der Vegetationsaufnahmen aus 2015 und 2016 spiegelt ganz klar die Vegetations- und Standortverhältnisse der Untersuchungsgebiete wider. Abhängig von der Höhenlage sind in fast allen Aufnahmen unterschiedliche Pioniergehölze zu finden (grün). Im Untersuchungsgebiet A ist das vor allem *Picea abies* mit einer Deckung von 1% nach zwei Jahren, aber auch *Pinus sylvestris* und *Betula pendula* und *Sorbus aucuparia*. Im Untersuchungsgebiet C ist das vor allem *Betula pendula* mit bis zu 10% Deckung, aber auch *Pinus sylvestris*, *Populus tremula* und *Frangula alnus* und im Untersuchungsgebiet T nur *Picea abies* mit bis zu 1% Deckung. In vielen Aufnahmen sind nach zwei Jahren Heidekrautgewächse (*Calluna vulgaris, Vaccinium myrtillus*) zu finden (blau). Nur im Untersuchungsgebiet T, das bereits vor den Untersuchungen Rohbodencharakter hatte, sind Vertreter dieser Pflanzenfamilie nur vereinzelt zu finden.

Außer im Untersuchungsgebiet T gab es auch noch im Untersuchungsgebiet A auffallend viele Rohbodenstandorte (gelb), im Untersuchungsgebiet C jedoch nur entwickelte saure Rankerböden. Mit Rot markierte Nährstoffzeiger (*Rubus fruticosus* agg.) waren nur in Untersuchungsgebiet C zu finden, hier aber bereits nach einem Jahr (vgl. Tabellen 3-8 bis 3-10). Die Sukzessionsgeschwindigkeit variierte sehr stark, sogar innerhalb jedes der drei Untersuchungsgebiete. Der flächige Vegetationszuwachs lag nach zwei Jahren im Untersuchungsgebiet A bei 39 ( $\pm$  29) %, im Untersuchungsgebiet C bei 31 ( $\pm$  18) % und im Untersuchungsgebiet T sogar bei 53 ( $\pm$  25) %. Den größten Teil dazu beigetragen haben die Moose mit entsprechend 39 ( $\pm$  28) % (A), 15 ( $\pm$  20) % (C) und 49 ( $\pm$  25) %.

Aufnahme-Nr.	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29	30	30
Aufnahmedatum	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16
Untersuchungsgebiet	A	A	А	A	A	A	A	A	A	A	А	Α
Höhe ü. NN (in m)	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705
Patch-Nr.	100SWII	100SWII	100SWI	100SWI	10SWII	10SWII	10SWI	10SWI	1SWII	1SWII	1SWI	1SWI
Bodentyp	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.
Gesamtdeck. (%)	6	30	7	30	20	40	20	40	3	10	7	10
Deckung Moosschicht (%)	5	30	5	30	20	40	20	40	1	10	5	10
Deckung Flechtenschicht (%)	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0	0,1	0	0,1
Deckung Pilzschicht (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Art mit Deckung in %												
Betula pendula	0,1	0,1				1					6	
Calluna vulgaris							2	2	1	1	1	1,5
Deschampsia flexuosa	0,5	1	0,1	1	0,5	0,1	0,1					
Picea abies		0,1			1	0,5	0,5		1	0,5	1	0,5
Pinus sylvestris						0,2		0,2	-	0,1	-	0,5
Sorbus aucuparia				0,1	1			-				-
Vaccinium myrtillus	1	1	2	1,5	0,5	1		0,1				
Aufnahme-Nr.	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35	36	36
Aufnahmedatum	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16
Untersuchungsgebiet	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	А	A
Höhe ü. NN (in m)	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705	705
Patch-Nr.	1NOI	1NOI	1NOII	1NOII	10NOI	10NOI	10NOII	10NOII	100NOI	100NOI	100NOII	100NOII
Bodentyp	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Ranker	Ranker	Ranker	Ranker	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.
Gesamtdeck. (%)	20	30	4	5	95	99	80	95	10	40	3	40
Deckung Moosschicht (%)	20	30	1	5	95	95	80	95	10	40	1	40
Deckung Flechtenschicht (%)	0	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1
Deckung Pilzschicht (%)	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Art mit Deckung in %			0								45	
Betula pendula											0,2	0,5
Calluna vulgaris	2	1,5	2	1	2	5		0,1	0,5	1	1	2
Deschampsia flexuosa					0,5	1	0,1	0,2	0,5	1	1	1
Picea abies		0,2	1	0,1	0,1		0,1					
Pinus sylvestris				1								
Sorbus aucuparia			0,1	0,1	· · · · ·							
Manadad and a still and					-	-				-		

Tabelle 3-8:	Vegetationsa	ufnahmen i	m Untersuc	hungsgebiet A.
--------------	--------------	------------	------------	----------------

Autoobroo Mr	1	1	2	2	2	2	4	4	E	E	6	6
Aufnahmedatum	10 10 15	16 00 16	10 10 15	16 00 16	10 10 15	16 00 16	10 10 15	16 00 16	10 10 15	16 00 16	10 10 15	16 00 16
Uptorsuchungsgebiot	10.10.15	10.05.10	10.10.15	10.05.10	10.10.15	10.05.10	10.10.15	10.05.10	10.10.15	10.05.10	10.10.15	10.05.10
Höhe ü NN (in m)	440	440	440	440	445	445	445	445	445	445	445	445
Datch Nr	10000	1000	10001	10001	1000	1000	1000	1000	1011	1011	101	111
Padantan	Donkor	Donkor	Bankar	Donkor	Dankor	Dankor	Dankor	Dankor	Dankor	Dankor	Dankor	Dankor
Cocomtdockung (%)	nalikei	15	FO	Ralikei	10	20	anker	Adikei	Kalikei	20	10	FO
Gesantdeckung (%)	20	15	50	80	10	30	20	40	5	30	10	50
Deckung Woosschicht (%)	20	10	50	80	5	5	10	5	5	20	10	20
Deckung Flechtenschicht (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Deckung Plizschicht (%)	U	U	0	0	U	0	0	0	U	0	U	0
Art mit Deckung in %		-		-		-	0.5		-	-		-
Agrostis spec.	0.4				<u>.</u>		0,5		-	0.1		10
Cellura unilegaia	0,1	-	0.5	-		20		20		0,1	0,3	
Caliuna vuigaris	2	5	0,5	5	1,5	20	1	20	0,1	10	0,1	1
Carex spec.					-	0,5	1	10	0,1	1	0,1	
Deschampsia flexuosa	0,1	0,1	0,1	1	5	10	2		0,1	5	0,1	20
Frangula ainus												
Gallum saxatile							5	10				
Hypericum perforatum	0,1	0,1					2.2				2.4	
Pinus sylvestris	1	1	0,1		1.000		0,2		3		0,2	
Polygala serpyllitolia					0,3	0,5						
Populus tremula		1										2
Rubus fruticosus agg.												
Rumex acetosella		_				-				-		-
Vaccinium myrtillus								1				
viola spec.												
Aufnahme Nr	7	7	Q	Q	9	٩	10	10	11	11	12	12
Aufnahme-Nr.	7	7	8	8	9	9	10 10 15	10	11	11	12	12
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum	7 10.10.15	7 16.09.16	8 10.10.15	8 16.09.16	9 10.10.15	9 16.09.16	10 10.10.15	10 16.09.16	11 10.10.15	11 16.09.16	12 10.10.15	12 16.09.16
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe in NN (in m)	7 10.10.15 C	7 16.09.16 C	8 10.10.15 C	8 16.09.16 C	9 10.10.15 C	9 16.09.16 C	10 10.10.15 C	10 16.09.16 C	11 10.10.15 C	11 16.09.16 C	12 10.10.15 C	12 16.09.16 C
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m)	7 10.10.15 C 445	7 16.09.16 C 445	8 10.10.15 C 445	8 16.09.16 C 445	9 10.10.15 C 445	9 16.09.16 C 445	10 10.10.15 C 445	10 16.09.16 C 445	11 10.10.15 C 445	11 16.09.16 C 445	12 10.10.15 C 445	12 16.09.16 C 445
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Pedeotym	7 10.10.15 C 445 1SI Papkor	7 16.09.16 C 445 1SI Papkor	8 10.10.15 C 445 1SII Papkor	8 16.09.16 C 445 1SII Bapkor	9 10.10.15 C 445 10SI	9 16.09.16 C 445 10SI Papkor	10 10.10.15 C 445 10SII Papkor	10 16.09.16 C 445 10SII Papkor	11 10.10.15 C 445 100Sl Papkor	11 16.09.16 C 445 100SI Papkor	12 10.10.15 C 445 100SII Papkor	12 16.09.16 C 445 100SII Papkor
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Cocentriaciung (iv)	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker	8 10.10.15 C 445 1SII Ranker	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Dockung Mocorchist (%)	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20	8 10.10.15 C 445 1SII Ranker 8	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker 8	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung techtorschicht (%)	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5	8 10.10.15 C 445 1SII Ranker 8 5 0	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20 10	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker 8 5	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%)	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0	8 16.09.16 C 445 15II Ranker 20 10 0	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0	11 10.10.15 C 445 100Sl Ranker 8 5 0	11 16.09.16 C 445 100Sl Ranker 10 5 0	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%)	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20 10 0 0	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0	9 16.09.16 C 445 105  Ranker 30 5 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker 8 5 0 0	11 16.09.16 C 445 100Sl Ranker 10 5 0 0	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Hotherschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Art mit Deckung in % Autrotis sene	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0	8 16.09.16 C 445 1511 Ranker 20 10 0 0	9 10.10.15 C 445 1051 Ranker 15 10 0 0	9 16.09.16 C 445 1051 Ranker 30 5 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0	11 10.10.15 C 445 100Sl Ranker 8 5 0 0	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5 0 0	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec.	7 10.10.15 C 445 1Si Ranker 7 5 0 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0	8 16.09.16 C 445 1511 Ranker 20 10 0 0	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker 8 5 0 0	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5 0 0 0	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Agrostis spec. Betula pendula Calluna wulgaris	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0 0 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20 10 0 0 0 0	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0 0	11 10.10.15 C 445 100Sl Ranker 8 5 0 0 0	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5 0 0 0	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0 0,1 1	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0 0
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Hootschicht (%) Deckung Flieschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec.	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0 0 0 0 0,1 0,5 0,2	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0 0	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0,2 0,5	8 16.09.16 C 445 15II Ranker 20 10 0 0 0 0 0 5	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 1	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0 0	10 16.09.16 C 445 105II Ranker 30 5 0 0 0 0	11 10.10.15 C 445 100SI Ranker 8 5 0 0 0	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5 0 0 0	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0 0,1 1 0,1	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0 0 5
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampia flexuosa	7 10.10.15 C 445 1SI Ranker 7 5 0 0 0 0 0	7 16.09.16 C 445 1SI Ranker 20 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 2	8 10.10.15 C 445 1SII Ranker 8 5 0 0 0 0 0	8 16.09.16 C 445 1511 Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 5 10	9 10.10.15 C 445 1051 Ranker 15 10 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0 0 0 1,5 1 5	10 16.09.16 C 445 105II Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0	11 10.10.15 C 445 100Sl Ranker 8 5 0 0 0	11 16.09.16 C 445 100Sl Ranker 10 5 0 0 1 1 1	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0 0,1 1 0,1 0,1 1	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0 0 0 0 5 1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Franzula alous	7 10.10.15 C 445 151 Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1	7 16.09.16 C 445 1Sil Ranker 20 5 0 0 0 0 0 1 10 0,5 2	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 5 3	8 16.09.16 C 445 1Sili Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 0 5 10 0,5 1	9 10.10.15 C 445 10Si Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 1 1 0,1	9 16.09.16 C 445 1051 Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 1 5	10 10.10.15 C 445 10Sill Ranker 10 5 0 0 0 0 0 1,5 1 5	10 16.09.16 C 445 10Sill Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 1 5 0,5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 1005  Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0	11 16.09.16 C 445 10051 Ranker 10 5 0 0 0 1 1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0 0 0 1 0,1 1 0,1 1 1	12 16.09.16 C 445 100SH Ranker 20 5 0 0 0 0 0 5 1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Richtenschicht (%) Deckung Rizschicht (%) Deckung Rizschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Gallum saxatile	7 10.10.15 C 445 151 Ranker 7 5 0 0 0 0 0	7 16.09.16 C 445 151 Ranker 20 5 0 0 0 0	8 10.10.15 C 445 1511 Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 0 5 3	8 16.09.16 C 445 15II Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 0 0 10 0 0,5 1 1	9 10.10.15 C 445 105l Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 1 0,1	9 16.09.16 C 445 1051 1051 8 anker 30 5 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 105II Ranker 10 5 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 105/1 Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 10051 10051 Ranker 8 5 0 0 0	11 16.09.16 C 445 10051 Ranker 10 5 0 0 0 1 1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0 0 0 0 1 0,1 1 1 0,1 1	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 0 5 1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Galium saxatile Hwnericum perforatum	7 10.10.15 C 445 151 Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1 0 ,1	7 16.09.16 C 445 15 15 8 anker 20 5 0 0 0 0 0 1 10 0,5 2	8 10.10.15 C 445 1311 Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 0 3	8 16.09.16 C 445 15II Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 0 0 10 0 0 0 10 0 0 5 1	9 10.10.15 C 445 105  Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 105l Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 105   Ranker 10 5 0 0 0 0 1,5 1 5 5	10 16.09.16 C 445 105II Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	11 10.10.15 C 445 1005I Ranker 8 5 0 0 0 0	11 16.09.16 C 445 100SI Ranker 10 5 0 0 0 1 1 1 1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0 0 1 0,1 1 0,1 1 1 0,1	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 5 1 0,1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung flog (%) Deckung Flog (%) Deckung Flog (%) Deckung Flog (%) Art mit Deckung in % Agrosti spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Gallum saxatile Hypericum perforatum Pinus sulvestris	7 10.10.15 C 445 151 Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1	7 16.09.16 C 445 151 Ranker 20 5 0 0 0 0 1 10 0,5 2	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 2 0,5 3 3	8 16.09.16 C 445 15   Ranker 20 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 5 1 0 0,5 1	9 10.10.15 C 445 1051 Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 1 0,1	9 16.09.16 C 445 1051 Ranker 30 0 0 0 0 0 5 5 1 5	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 105II Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 15 0,5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 1005l Ranker 8 5 0 0 0 0 0	11 16.09.16 C 445 1005l Ranker 10 0 0 0 1 1 1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 0 0 0 0 0 0 0 1 0,1 1 0,1 1 0,1 2	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 0 <b>5</b> 1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Galium saxatile Hypericum perforatum Pinus sylvestris Deurgala genvulifolia	7 10.10.15 C 445 15l Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1 1	7 16.09.16 C 45 1Sl Ranker 20 5 0 0 0 0 0 5 0 0 0 0 5 2 1 10 0,5 2 1	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 5 3 3	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20 10 0 0 0 0 0 5 10 0,5 10 0,5 1 1	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0 0 0 15 0,5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 1005i Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 1 0,1	11 16.09.16 C 445 1005l Ranker 10 5 0 0 0 0 1 1 1 1	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0 0,1 1 0,1 0,1 0,1 0,2	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0 0 0 0 0 0 1 0,1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Galium saxatile Hypericum perforatum Pinus sylvestris Polygala serpyllifolia Pongulus tremula	7 10.10.15 C 445 15i Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1 0,5 0,2 0,1 1 1	7 16.09.16 C 445 15i Ranker 20 5 0 0 0 0 0 1 10 0,5 2 1	8 10.10.15 C 445 1311 Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 0 5 3 3	8 16.09.16 C 445 15   Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 0 5 10 0,5 10 0,5 1 1	9 10.10.15 C 445 105  Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 105l Ranker 30 5 0 0 0 0 5	10 10.10.15 C 445 105   Ranker 10 5 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 105   Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	11 10.10.15 C 445 1005I Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 1 0,1 0,1 0,1	11 16.09.16 C 445 1005l Ranker 10 5 0 0 0 1 1 1 1 1 1 1 0,1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0 0 1 0,1 1 0,1 0,1 1 0,1 0,1 0,1	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 0 5 1 0,1 0,1 0,1 0,1 0,5
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Riotherschicht (%) Deckung Riechtenschicht (%) Deckung Rizschicht (%) Art mit Deckung in % Agrosti spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Gallum saxatile Hypericum perforatum Pinus sylvestris Polygala serpyllifolia Polygala serpyllifolia Polygala serpyllifolia Polygala serpyllifolia	7 10.10.15 C 445 1Sl Ranker 7 5 0 0 0 0,1 0,1 0,2 0,1 0,1 1	7 16.09.16 C 445 15l Ranker 20 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1 1 0 0 0 5 2	8 10.10.15 C 445 15ll Ranker 8 5 0 0 0 0,2 0,5 3 3	8 16.09.16 C 445 15   Ranker 20 10 0 0 0 0 0 5 10 0 0,5 1 1	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 105  Ranker 30 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 0 5 0 0 0 0 0 0 1 5 5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 1005  Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 0,1 0,1 0,1	11 16.09.16 C 445 100Sl Ranker 10 5 0 0 1 1 1 1 1 1 1 1 0,1	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 0 0 0 0,1 1 0,1 0,1 0,1 0,2	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 0 5 1 0,1 0,1 0,1
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Deckung Flechtenschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Galium saxatile Hypericum perforatum Pinus sylvestris Polygala serpyllifolia Populus tremula Rubus fruticosus agg.	7 10.10.15 C 445 15l Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1 1	7 16.09.16 C 445 151 Ranker 20 5 0 0 0 0 0 0 0 0 5 2 1 10 0,5 2 1	8 10.10.15 C 445 15II Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 5 3 3 3	8 16.09.16 C 445 1SII Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 5 10 0,5 1 1	9 10.10.15 C 445 10SI Ranker 15 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 16.09.16 C 445 10SI Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 10.10.15 C 445 10SII Ranker 10 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	10 16.09.16 C 445 10SII Ranker 30 5 0 0 0 0 15 0,5 5 5 5	11 10.10.15 C 445 1005i Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 1 0,1 0,1	11 16.09.16 C 445 1005l Ranker 10 5 0 0 0 0 1 1 1 1 0,1	12 10.10.15 C 445 100SII Ranker 10 5 0 0 0,1 1 0,1 0,1 0,1 0,1 0,2 3	12 16.09.16 C 445 100SII Ranker 20 5 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,1 0,1 0,1 0,5 5 5
Aufnahme-Nr. Aufnahmedatum Untersuchungsgebiet Höhe ü. NN (in m) Patch-Nr. Bodentyp Gesamtdeckung (%) Deckung Moosschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Deckung Pilzschicht (%) Art mit Deckung in % Agrostis spec. Betula pendula Calluna vulgaris Carex spec. Deschampsia flexuosa Frangula alnus Gallum saxatile Hypericum perforatum Pinus sylvestris Polygala serpyllfolia Populus tremula Rubus fruticosus agg. Rumex acetosella	7 10.10.15 C 445 151 Ranker 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0,5 0,2 0,1 0,5 0,2 0,1 1	7 16.09.16 C 445 15i Ranker 20 5 0 0 0 0 0 1 10 0,5 2 1	8 10.10.15 C 445 15ill Ranker 8 5 0 0 0 0,2 0,5 3 3 0,5 0,5	8 16.09.16 C 445 15   Ranker 20 10 0 0 0 0 0 0 0 10 0 0 5 10 0 0,5 10 10 0,5 10 10 0,5 10 0 0,5 10 10 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	9 10.10.15 C 445 1051 Ranker 15 10 0 0 0 0 0 1 1 0,1 0,1 0,3 0,3	9 16.09.16 C 445 105l Ranker 30 5 0 0 0 5 1 1 5 1 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 5 1 1 5 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	10 10.10.15 C 445 105   Ranker 10 0 0 0 0 1.5 1 5 5	10 16.09.16 C 445 105   Ranker 30 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	11 10.10.15 C 445 1005l Ranker 8 5 0 0 0 0 0 0 0 1 0,1 0,1 0,1	11 16.09.16 C 445 10051 Ranker 10 5 0 0 0 1 1 1 1 0,1 2	12 10.10.15 C 445 1005II Ranker 10 5 0 0 0,1 0,1 1 0,1 0,1 0,1 0,2 0,2 0 8	12 16.09.16 C 445 1005II Ranker 20 5 0 0 0 5 1 0,1 0,1 0,1 0,5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5

## Tabelle 3-9: Vegetationsaufnahmen im Untersuchungsgebiet C.

## Tabelle 3-10: Vegetationsaufnahmen im Untersuchungsgebiet T.

Aufnahme-Nr.	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17	18	18
Aufnahmedatum	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16
Untersuchungsgebiet	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т	Т
Höhe ü. NN (in m)	700	700	700	700	710	710	710	710	710	710	710	710
Patch-Nr.	100NWII	100NWII	100NWI	100NWI	10NWII	10NWII	10NWI	10NWI	1NWII	1NWII	1NWI	1NWI
Bodentyp	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Ranker	Ranker	Ranker	Ranker	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.
Gesamtdeck. (%)	3	20	12	5	30	70	50	70	10	60	20	60
Deckung Moosschicht (%)	1	10	10	3	30	60	50	60	10	60	20	60
Deckung Flechtenschicht (%)	1	10	1	2	1	10	1	10	0	1	0	0,1
Deckung Pilzschicht (%)	1	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0
Art mit Deckung in %												
Deschampsia flexuosa	0,1	1	1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,5	1,5	0,2	2
Picea abies	0,1	1	1	1	0,2	0,1	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,5
Vaccinium myrtillus	2		2								12	
Aufnahme-Nr.	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23	24	24
Aufnahmedatum	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16	11.10.15	22.09.16
Untersuchungsgebiet	Т	Т	Т	Т	Т	T	Т	T	Т	Т	Т	T
Höhe ü. NN (in m)	710	710	710	710	710	710	710	710	715	715	715	715
Patch-Nr.	1NOI	1NOI	1NOII	1NOII	10NOI	10NOI	10NOII	10NOII	100NOI	100NOI	100NOII	100NOII
Bodentyp	Ranker	Rohb.	Rohb.	Rohb.	Rohb.							
Gesamtdeck. (%)	50	80	40	70	30	75	20	75	5	20	10	30
Deckung Moosschicht (%)	50	80	40	60	30	70	20	70	5	20	10	30
Deckung Flechtenschicht (%)	0	0,1	0	0,2	1	2	2	3	0	0,2	0	0,1
Deckung Pilzschicht (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Art mit Deckung in %			12						-			
Deschampsia flexuosa	0,5	1,5	1	10	1	4	0,1	0,1				
Picea abies	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5		0,1	0,2	0,1		
Vaccinium myrtillus					3	2	2	2	1.1	0,3		

# 3.4 Standortanalyse

# 3.4.1 Gametophytenreservoir im Boden

3

In den untersuchten Böden konnten keine Prothallien von *L. clavatum* und *Diphasiastrum* nachgewiesen werden. Am Versuchsort in Mecklenburg-Vorpommern wurden lediglich Samen des Wiesen-Wachtelweizens (*Melampyrum pratense* L.) in den Bodenproben gefunden.

# 3.4.2 Bodeneigenschaften

Die pH-Werte im Unterboden deutscher und finnischer Standorte unterscheiden sich signifikant voneinander mit 3,8 ( $\pm$  0,36) bzw. 4,4 ( $\pm$  0,20) mit p = 0,005 (vgl. Abbildung 3-18). Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn nur die naturnahen, nicht stark anthropogen gestörten Standorte betrachtet werden. Hier liegt der mittlere pH-Wert der beprobten Böden in Deutschland bei 3,6 ( $\pm$  0,24) und finnischer Böden bei 4,3 ( $\pm$  0,06) mit p=0,0005 (vgl. Abbildung 3-19). Die Unterschiede in den Oberböden sind nicht signifikant.



Abb. 3-18: Boden-pH-Wert aller Standorte.



Abb. 3-19: Boden-pH-Wert naturnaher Standorte.

# 3.4.3 Alter von Individuen, Populationen und Standorten

Der mittlere Abstand zwischen zwei vertikalen Sprossen unterschied sich hinsichtlich der untersuchten Arten. Für *D. complanatum* (Neustrelitz) lag er bei 3,2 ( $\pm$  1,3) cm, für *D.* x *zeilleri* (Wokuhl) bei 3,9 ( $\pm$  1,5) cm, für *D.* x *issleri* (Steinheid) bei 2,3 ( $\pm$  1,1) cm, für *D.* x *issleri* (Oberhof) bei 1,7 ( $\pm$  0,6) cm, für *D.* x *issleri* (Neuhaus a. R.) bei 2,3 ( $\pm$  1,0) cm und für *D. alpinum* (Brennersgrün) bei 1,9 ( $\pm$  0,9) cm.

Laut Aussage von Mitarbeitern der örtlich zuständigen unteren Naturschutzbehörden entstanden die Standorte bei Oberhof und Neuhaus am Rennweg etwa 1972 ( $\pm$  2 Jahre) im Zuge des Ausbaus der ehemaligen Bundesstraße 247 bzw. während der Errichtung eines Holzlagers. Der Standort an der ehemaligen innerdeutschen Grenze bei Brennersgrün entstand vermutlich etwa 1950 ( $\pm$  5 Jahre), als der Grenzstreifen angelegt worden ist. Der Standort auf dem Kieferle bei Steinheid entstand während der Errichtung einer sowjetischen Radarstation im Zeitraum von 1945 bis 1962. Der Standort am Ortsrand von Wokuhl entstand etwa 1945 (mündliche Mitteilung Lothar Ratai) und der bei Neustrelitz, als dort die Bahnstrecke im Jahr 1907 angelegt worden ist (RADKE ohne Jahr).

Die Anzahl vertikaler Sprosse an der längsten Rhizomverbindung betrug je nach Population zwischen 57 und 73. Die genetische Untersuchung der Populationen bei Wokuhl und Steinheid zeigte, dass alle getrennt wachsenden Rhizome innerhalb jeder dieser beiden Populationen genetisch identisch sind und die Unterscheide im Bereich der Fehlerrate von 14,7% für *D. issleri* und 0,4% für *D. zeilleri* nach manueller Korrektur liegen. Die Population bei Wokuhl hatte demnach eine Mindestanzahl von 167 statt 57 vertikalen Sprossen und die bei Steinheid von 85 statt 67. Das berechnete Mindestalter der Populationen beträgt basierend auf den Daten zum Zuwachs aus Kapitel 3.3.2 demnach 67 (Wokuhl) bzw. 43 Jahre (Steinheid).

Die indirekt ermittelte Anzahl der jährlich gebildeten vertikalen Sprosse beträgt je nach Art und Standort zwischen 1 und 2,5. Das bestätigt auch die Zuwachsmessungen aus Kapitel 3.3.2. Ein Zusammenhang zwischen dem Alter einer Population und deren Durchmesser ist nicht nachweisbar (vgl. Abbildung 3-20), R<sup>2</sup> liegt bei nur 0,2065. Einen Überblick über alle Messwerte gibt Tabelle 3-11 und die beiden näher untersuchten Populationen sind in den Abbildungen 3-21 und 3-22 dargestellt.

**Tabelle 3-11: Alter von** *Diphasiastrum***-Populationen und Jahreszuwachs.** Gemessene Werte sind fett hervorgehoben, geschätzte kursiv und berechnete normal. Werte in Klammern basieren auf vermuteten Zugehörigkeiten zu einem Klon ohne genetische Untersuchungen. Das Alter ist immer in Jahren angegeben.

Art	D. zei	D. iss	D. alp	D. iss	D. iss	D. com
Ort	Wokuhl	Steinheid	Brennersgrün	Oberhof	Neuhaus	Neustrelitz
(1a) Entstehung Standort	1945	1945-62	1950	1972	1972	1907
(1b) Maximalalter Population	66	58	61	39	39	105
(2a) Erstnachweis der Art am	1977	2006	2003	2013	2007	1070
Fundort	1011	2000	2000	2010	2007	1010
(2b) Mindestalter Population	39	10	13	3	9	38
(3a) Anzahl vert. Sprosse an	57	67	63	73	58	75
längster Rhizomverb.	0.					
(3b) Mindestalter Population	23	34	63	37	29	25
aus 5b	20		00	0.	20	20
(4a) Anzahl vert. Sprosse an						
längster Rhizomverb. nach	167	85	(74)	(76)	(65)	(119)
genet. Unters.						
(4b) Mindestalter Population	67	43	(74)	(38)	(33)	(40)
aus 5b	0	2	(* */	(00)	(00)	(10)
<mark>(5a)</mark> Anzahl jährlich						
gebildeter vert. Sprosse aus	2,5	1,5	1,0 (1,2)	1,9 (1,9)	1,5 (1,7)	0,7 (1,1)
3a/1b (aus 4a/1b)						
<mark>(5b)</mark> Anzahl jährlich gebild.	2.5	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0
vert. Sprosse aus Kap. 3.3.2	2,0	_,0	.,0	2,0	_,0	0,0
(6a) Radius Population in cm	150	45	135	150	390	510
(6b) Wachstumsfaktor	65	13	21	4 1	13.4	20.4
Population 6a/3b	0,0	1,0	۲, ۱	-т, г	10,7	20,7
(6c) Wachstumsfaktor	22	1.0	(1.8)	(3.9)	(11.8)	(12.8)
Population 6a/4b	۷,۷	1,0	(1,0)	(0,0)	(11,0)	(12,0)



Abb. 3-20: Zusammenhang zwischen Größe und Alter eines Klons. Dargestellt in Rot sind die eigenen Berechnungen (nur Diss Ste und Dzei Wok genetisch abgesichert) im Vergleich zum ermittelten Zusammenhang von OINONEN 1967 (schwarz).



Abb. 3-21: Rhizome von Diphasiastrum x zeilleri (Wokuhl, 2016).



Abb. 3-22: Rhizome von Diphasiastrum x issleri (Steinheid, 2016).

Tabelle 3-12 zeigt die Messungen der Brusthöhendurchmesser (BHD) von *Pinus sylvestris* und die Größe der *Diphasiastrum*-Populationen. Werden die vorherigen Ergebnisse zum maximalen jährlichen Sprosszuwachs bei *D. complanatum* berücksichtigt (Vergrößerung des Durchmessers um bis zu 40,8 cm pro Jahr), sind die Populationen bei Spreewitz und Halbendorf deutlich älter (88 bzw. 59 Jahre) als die umgebenden Baumbestände (17 bzw. 25 Jahre).

Tabelle 3-12: BHD, Baumalter und Durchmesser Diphasiastrum.

Art	D. zei	D. tri	D. tri	D. zei	D. tri	D. zei
Ort	Arzberg	Spreewitz	Kromlau	Halbendorf	Dürrbach	Wokuhl
BHD in cm	20,4 (± 5,6)	11 (± 3,7)	29,2 (± 5,1)	16,4 (± 5,6)	26 (± 5,4)	17,3 (± 3,5)
mittleres						
Baumalter in	31	17	45	25	40	27
Jahren						
Durchmesser						
Diphasiastrum-	5,6	36	18	24	5,5	6,2
Population (in m)						

## 4 Diskussion

## 4.1 Genetische Diversität

### <u>Hybridarten</u>

Die drei Zwischenarten D. x issleri, D. x oellgaardii und D. x zeilleri sind sicher hybridogenen Ursprungs, was durch DNA-Gehaltsmessungen an Sporophyten festgestellt worden ist (BENNERT et al. 2011). Die Autoren gehen von Introgressionsschranken aus, wobei die Zwischenarten in Morphologie und DNA-Gehalt zwischen den jeweiligen Elternarten stehen. Die Unterschiede in den AFLP-Profilen sind bei allen Zwischenarten (besonders bei der besser funktionierenden Primer-Kombination EcoRI-AAG / VspI-CT) deutlich größer als die Unterschiede zwischen zwei Wiederholungen, die die Fehlerrate darstellen und bei der AFLP-Methode unvermeidbar sind. Lediglich bei D. x oellgaardii ist die genetische Diversität aufgrund der geringen genetischen Diversität der Elternarten so gering, dass die Unterschiede zum Teil im Bereich der Fehlerrate liegen. Die AFLP-Profile aller sechs Arten sind klar getrennt und keine Rückkreuzungen konnten gefunden werden. Das wird besonders im Baumdiagramm (neighbour-joining tree) deutlich. Das durch Prof. Martin Schnittler und Anja Klahr untersuchte RPB2-Gen zeigt auch eine klare Trennung der Arten, da kein Genotyp von zwei Arten geteilt wird. Auch mit dieser Methode konnten keine 1992 Rückkreuzungen gefunden werden. Bereits WAGNER fand keinerlei Rückkreuzungen. Bei den als Zwischenarten oder Hybridarten bezeichneten Sippen handelt es sich somit um immer wieder neu entstehende F1-Hybriden. Auch WAGNER et al. 1985 gehen von de-novo-Hybriden, allerdings bei der amerikanischen Art D. x sabinifolium, entstanden aus D. sitchense und D. tristachyum.

AAGAARD et al. 2009 denken, dass Rückkreuzungen zwischen Hybriden und ihren Elternarten auftreten können. GILMAN 1994 fanden zum Beispiel eine vermeintlich triploide Hybride zwischen *D. digitatum* und *D. x sabinifolium* in den USA basierend auf einer morphologischen Untersuchung. Auch HANUSOVA et al. 2014 gehen von Introgression aus, basierend auf morphologischen und flow-cytometrischen Daten. Die eigenen Daten sprechen jedoch dagegen.

Apomixis konnte bislang nicht nachgewiesen werden. Dazu hätten es eine deutliche Überlappung der Unterschiede zwischen den AFLP-Profilen einer Zwischenart mit der

Fehlerrate (vgl. Abbildung 3-1) geben müssen. Auszuschließen ist sie aber grundsätzlich nicht, da zum Beispiel von *D*. x *oellgaardi* nur wenige Proben vorhanden waren. Einen Hinweis auf Apomixis könnten die sogenannten Diplosporen liefern, die deutlich größer als normal entwickelte Sporen sein sollen. Solche Sporen wurden im Rahmen der mikroskopischen Untersuchungen jedoch nicht gefunden. OLLGAARD 1985 fanden potentielle Hybriden zwischen *D. alpinum* und *D. tristachyum* in Dänemark mit einer irregulären Meiose mit einem großen Anteil an ungepaarten Chromosomen, 50% deformierten Sporen und einer intermediären Morphologie. Allerdings fanden HERSEY & BRITTON 1981 basierend auf cytologischen Untersuchungen bei *D*. x *habereri* heraus, dass die Meiose normal verläuft. Auch WAGNER 1992 entdeckte nur fruchtbare Hybriden mit komplett gepaarten Chromosomen und normal entwickelten Sporen bei den Hybriden *D*. x *habereri*, *D*. x *zeilleri* und *D*. x *sabinifolium*.

Die Frage ist, ob für das Entstehen der Zwischenarten die Elternarten in unmittelbarer Nähe vorkommen müssen oder ob auch die effektive Sporenfernausbreitung das ermöglichen kann.

### Elternarten

Die AFLP-Untersuchungen zeigen (ebenso wie andere genetische Untersuchungen durch Prof. Martin Schnittler und Anja Klahr: RPB2-Gen), dass *D. complanatum* die genetisch diverseste Art in Deutschland ist (65 Genotypen bei 65 Proben für EcoRI-AAG / VspI-CT). Intragametophytic selfing spielt bei dieser Art höchstens eine untergeordnete Rolle oder ist ganz ausgeschlossen. Allerdings wiesen MAJOR & ODOR 1999 bei einer Untersuchung von *D. complanatum* in West-Ungarn mithilfe von Isoenzym-Analysen intragametophytic selfing als dominierend nach. Weitere Untersuchungen zu dieser Art gibt es bislang nicht. Jedoch sind die Ergebnisse der AFLP-Untersuchung eindeutig und lassen keine Zweifel aufkommen.

*D. alpinum* (8 Genotypen bei 64 Proben) und *D. tristachyum* (2 Genotypen bei 14 Proben) haben eine deutlich geringere genetische Diversität (EcoRI-AAG / VspI-CT). Hier ist intragametophytic selfing die dominierende Form der Befruchtung.

SOLTIS & SOLTIS 1988 untersuchten in Nordamerika unter anderem *L. clavatum* enzymelektrophoretisch und konnten dabei 44 Genotypen aus 167 Individuen nachweisen. Sie gehen von Outcrossing aus.

OLLGAARD 1985 fanden in Dänemark Bärlapp-Bestände, die fast nur aus einem Klon bestanden, daher kann es dort meist nur ein Etablierungsereignis gegeben haben. Auch in Deutschland stellen die meisten teppichartig wachsenden Individuen der *Diphasiastrum*-Arten fast immer einen Klon dar. Das zeigten bereits Voruntersuchungen im Pöllwitzer Wald in Ost-Thüringen. In vielen Fällen wachsen allerdings mehrere solcher Teppiche in wenigen Metern Entfernung zueinander und mit einer ähnlichen Größe, was auf ein ähnliches Alter hindeutet, sodass von gleichzeitigen Mehrfachetablierungen an den meisten Fundorten ausgegangen werden kann.

## 4.2 Ausbreitung über Sporen

### **Sporenproduktion**

In den eigenen Untersuchungen wurden für *L. clavatum* zwischen  $2,1*10^6$  und  $3,8*10^6$ Sporen je Sporenstand ermittelt. PLOTNIKOV 1977 in CALLAGHAN & EMANUELSSON 1985 geben  $4*10^5$  Sporen je Strobilus an, jedoch für die Art *L. annotinum*. Sie errechneten daraus eine Anzahl von  $1,88*10^6$  Sporen pro Quadratdezimeter Bodenfläche. Für die *Diphasiastrum*-Arten sind ähnliche Größenordnungen zu erwarten. Das beobachtete Phänomen einer doppelten Sporenreife von *L. clavatum* (September und Oktober 2015) bei Neu Dargelin ist zumindest bereits für *L. annotinum* bekannt (SONNBERGER 1995 und SONNBERGER et al. 2008). Für *L. clavatum* und die *Diphasiastrum*-Arten ist dies bislang noch nicht wissenschaftlich beschrieben worden.

### Terminale Fallgeschwindigkeit

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zum Sporendurchmesser und zur Dichte von *Lycopodium-* und *Diphasiastrum-*Sporen. Meist wird jedoch nicht genannt, welche Art untersucht worden ist. Zum Teil konnte die Fallgeschwindigkeit nachträglich anhand der gegebenen Messwerte ermittelt werden. Während der Sporenradius mit 11,8 bis 21 µm angegeben wird (FERRANDINO & AYLOR 1984, WANNER & PUSCH 2000, PETROFF 2005, LOUBET et al. 2007, ZIVCOVA et al. 2007, XU et al. 2013) reichen die Werte für die Sporendichte von 1,03 bis 1,2 g/cm<sup>3</sup> (WANNER & PUSCH 2000, PETROFF 2005, LOUBET et al. 2007). Die Messungen einzelner Sporen von *L. clavatum* 

unterm Mikroskop liegen mit 29,5 ( $\pm$  2,0) µm für den Durchmesser im Bereich der Werte aus der Literatur. Die terminale Fallgeschwindigkeit, die zum Teil nachträglich ermittelt worden ist, reicht von 1,9 bis 6,3 cm\*s<sup>-1</sup> (ZELENY & MCKEEHAN 1910, STEPANOV 1935, GREGORY & STEDMAN 1953, CHAMBERLAIN 1967, FERRANDINO & AYLOR 1984, DI-GIOVANNI et al. 1995, RAMBERT et al. 1998, LOUBET et al. 2007, BORRELL 2012). Der eigene Messwert von 2,16 ( $\pm$  0,11) cm\*s<sup>-1</sup> für *L. clavatum* liegt unter den aktuellsten Messwerten, die von LOUBET et al. 2007 mit 3,8 cm\*s<sup>-1</sup> und ZIVCOVA et al. 2007 mit 3,4 bis 3,9 cm\*s<sup>-1</sup> erhoben worden sind. Auch der für *D. complanatum* liegt mit 2,25 ( $\pm$  0,10) cm\*s<sup>-1</sup> deutlich darunter. Fraglich ist, welche Art die Autoren untersucht haben. Die Abweichung von der theoretisch ermittelten terminalen Fallgeschwindigkeit von 3,09 cm\*s<sup>-1</sup> lässt sich mit Turbulenzen beim Sporenflug, die durch die stark strukturierte Oberfläche der Sporen (BARON et al. 2014) erzeugt werden, erklären.

(FERRANDINO & AYLOR 1984 untersuchten die terminale Fallgeschwindigkeit von Sporenclustern (2 bis 34 Sporen) von u. a. einer *Lycopodium*-Art. Für die terminale Fallgeschwindigkeit v von n Sporen konnten sie die Gleichung  $v_n = 0,98n^{0.53}$  aufstellen. In den eigenen Versuchen konnten ebenfalls fallende Sporencluster aus mehreren Sporen beobachtet werden. Deshalb wurden zur Messung einzelner Sporen immer solche aus der langsamsten Sporenwolke ausgewählt. Sporencluster fanden auch SUNDBERG 2005 bei *Sphagnum*-Arten und WAGNER et al. 1985 bei *Botrychium*-Arten. Diese Cluster erhöhen das intergametophytic selfing bei Bärlappen. Das Resultat ist eine geringere genetische Diversität bei den Nachkommen im Vergleich zu Sporen von genetisch unterschiedlichen Pflanzen.

TACKENBERG 2003 geht davon aus, dass Wetterbedingungen mit Turbulenzen und Aufwinden, die mit geringer relativer Luftfeuchte verbunden sind, bei Diasporen mit geringer terminaler Fallgeschwindigkeit (<1,5 m/s) einen Einfluss haben. Die hohe horizontale Windgeschwindigkeit soll hier, ebenso wie stürmisches Wetter mit sich schnell ändernden vertikalen Windgeschwindigkeiten, weniger von Bedeutung sein. TACKENBERG et al. 2003b gehen weiter davon aus, dass eine Fernausbreitung ( $\geq$ 100 m) von Diasporen mit terminaler Fallgeschwindigkeit von <0,5-1 m\*s<sup>-1</sup> hauptsächlich durch Aufwinde verursacht werden soll. Außerdem wird bei der Betrachtung der Bedeutung von Windgeschwindigkeit und Aufwinden für die Fernausbreitung dieser Diasporen ein Unterschied zwischen Wald- und Offenlandstandorten angenommen. Je größer die Distanz zur Diasporenquelle und je geringer die Fallhöhe sind, umso relevanter wird eine geringe Fallgeschwindigkeit, wenn ein hohes Windausbreitungspotential (= Anteil von Diasporen, die eine Referenzentfernung unter bestimmten Wetterbedingungen überschreiten) erreicht werden soll (TACKENBERG et al. 2003a).

#### Sporentransport durch die Luft

Für den Exponenten b der Sporenausbreitungskurve wurde in den eigenen Versuchen ein Wert von -2,30 bestimmt. SUNDBERG 2005 gibt einen Wert von -1,35 bis -1,84 für *Sphagnum*-Sporen bei einem Sporendurchmesser von 25,8 µm (*S. squarrosum*) bis 36,9 µm (*S. cuspidatum*) an (SUNDBERG & RYDIN 1998).

Die dominierende horizontale Windrichtung spielt, wie bereits TACKENBERG 2003 schrieb, keine entscheidende Rolle für eine effektive Sporenfernausbreitung. Die eigenen Versuche zeigen keine deutlich abweichenden Sporenmengen in den verschiedenen Himmelsrichtungen in vergleichbaren Entfernungen. Jedoch wurden deutlich weniger Sporen südwestlich, südlich und südöstlich zur Population aufgefangen. Das kann eine Folge der feuchten Luftströmungen aus Norden sein, da sich dort die Ostsee befindet. Denn feuchte Luft führt zu einem Schließen der Sporenstände, was eigene Beobachtungen zeigten. In einem ähnlich aufgebauten Versuch, jedoch mit horizontalen Sporenfallen, konnte LÖNNELL 2012 die Ausbreitung von Moos-Sporen der Art Discelium nudum von (21,8) - 24,6 - (30,1) µm Durchmesser bis in 600 m Entfernung in offener Landschaft nachweisen. Hierbei war vermutlich das geringe Relief von Vorteil, das es in den eigenen Versuchen nicht gab. Die beprobte Population bestand bei ihm aus 10.000 Sporenständen (100.000 pro m<sup>2</sup>) mit jeweils  $15.000 \pm 2.500$  Sporen pro Sporenstand. Daraus ermittelte er eine Gesamtsporenzahl von 125 bis 175 Mio. Im eigenen Versuch bei Neu Dargelin hatte der sporenbildende Bärlapp-Bestand eine Größe von 50 m<sup>2</sup> bei 11.358 Sporenständen (227 pro m<sup>2</sup>). Dafür gibt es bei L. clavatum ca. 2,1 bis 3,8 Millionen Sporen je Sporenstand. Nach Hochrechnung auf die Population etwa 10<sup>10</sup> bis 10<sup>11</sup> Sporen im Vergleich zu etwa 10<sup>8</sup> bis 10<sup>9</sup> Sporen bei LÖNNELL 2012. Das zeigte sich in seinem Versuch auch bei den absoluten Sporenmengen in geringeren Entfernungen. Während er in 10 m Entfernung  $214 \pm 48$  Sporen und in 50 m  $3 \pm 6$  Sporen nachwies, waren es im eigenen Versuch 349 ( $\pm$ 197) bzw. 7 ( $\pm$ 6). Da er jedoch eine andere Methodik zum Auffangen der Sporen verwendet hat (horizontale Sporenfallen), sind diese Werte nicht vergleichbar. Auffallend ist aber, dass er auch in 600 m Entfernung noch Sporen nachweisen konnte. Diese beiden Datensätze sprechen für eine gute Fernausbreitung der Sporen. Auch OLLGAARD 1985 geht von einer effektiven Sporenfernausbreitung bei Bärlappen aus. Er fand *D. alpinum* neben *L. clavatum*, *Huperzia selago* und *Lycopodiella inundata* isoliert in Dänemark in einem kleinen Gebiet von 10 mal 50 m.

Die Position der Sporenfallen zur Bodenoberfläche ist wichtig, da mit vertikal ausgerichteten Sporenfallen wie im eigenen Versuch nur vorbeifliegende, jedoch nicht auf dem Boden landende Sporen aufgefangen werden können. GREGORY 1951 zeigte, dass horizontale (parallel zum Boden angebrachte) Sporenfallen besser bei geringen Windgeschwindigkeiten und vertikale Sporenfallen besser bei hohen Windgeschwindigkeiten und Turbulenzen geeignet sind. Auf den Objektträgern fanden sich oft mehr Sporen am Rand als im Inneren. Das könnte das Phänomen des Randeffekts sein, das bereits GREGORY & STEDMAN 1953 beschrieben. Sie gehen davon aus, dass solche Effekte zu einer Unterschätzung der Sporendichte auf den Objektträgern führen kann. In den Entfernungen bis 2 m fanden sich im eigenen Versuch mehr Sporen im unteren Teil der Objektträger als im oberen. Das deutet auf aufsteigende Windbewegungen wie Aufwinde hin. Weiterhin wurden die meisten Sporen nach Hochrechnung auf den Radius x meist in 1 m Entfernung zur sporenbildenden Population aufgefangen. SREERAMULU & RAMALINGAM 1961 fanden bei Lycopodium-Sporen ein Maximum bei 5 m. In diesen geringen Entfernungen können Turbulenzen in der Luft verursacht durch die sporenbildende Population eine Erklärung dafür sein.

TACKENBERG et al. 2003 gehen davon aus, dass Fernausbreitung ( $\geq 100$  m) von Sporen mit einer terminalen Fallgeschwindigkeit von weniger als 0,5 m\*s<sup>-1</sup> hauptsächlich durch aufwärtsgerichtete Luftbewegungen verursacht wird. Nach der Formel von KUPARINEN 2006 dürfte die im eigenen Versuch untersuchten *Lycopodium*-Sporen selbst bei horizontal wehenden Wind von > 100 km/h nicht weiter als 130 m transportiert werden. Nachgewiesen wurden Sporen aber noch bis in 200 m Entfernung von der sporenbildenden Population, was die Theorie von TACKENBERG et al. 2003 bestätigt.

MCCUBBIN 1918 in GREGORY 1945 berechnete, dass Sporen mit einer terminalen Fallgeschwindigkeit von 0,8 cm\*s<sup>-1</sup>, aus einer Höhe von etwa 2,5 m freigesetzt, etwa 4 km weit mit einer Luftströmung von fast 50 km/h transportiert werden. CHRISTENSEN 1942 in GREGORY 1945 berechnete theoretische Ausbreitungsdistanzen von mehr als 4600 km für Windgeschwindigkeiten von knapp über 30 km/h für *Alternaria*-Sporen, die

aus einer Höhe von etwa 1,6 km freigesetzt worden sind. Die Entfernung, die noch 1% der Sporen passieren (ermittelt von SCHMIDT 1925 in GREGORY 1945 aus beobachteten terminalen Fallgeschwindigkeiten von Sporen und Pollen soll für *Bovista* bei 460000 km, für *Polytrichum* bei 19000 km, für *Lycopodium* bei 330 km und für *Pinus sylvestris* 40 km betragen. STEPANOV 1935 in GREGORY 1945 arbeitete mit Sporen der Pilze *Tilletia caries* (Sporendurchmesser: 17  $\mu$ m, terminale Fallgeschwindigkeit: 1,41 cm\*s<sup>-1</sup>) und *Bovista plumbea* (Sporendurchmesser: 5,6  $\mu$ m, terminale Fallgeschwindigkeit: 0,24 cm\*s<sup>-1</sup>) und fing Sporen auf einer Fläche von 25,92 cm<sup>2</sup> in unterschiedlichen Entfernungen zur Sporenquelle. In 5 m wies er 74,1% bzw. 74,4%, in 10 m 17,8% bzw. 19,9%, in 20 m 7,4% bzw. 4,9% und in 40 m 0,7% bzw. 0,8% der freigesetzten Sporen nach. Da in den eigenen Untersuchungen nicht die Bewegung der Sporenwolke verfolgt werden konnte und somit auch keine Vertikalverteilung der Sporen in der Luft möglich ist, wäre eine Schätzung der Entfernung eines Sporenverlustes von 90% nicht präzise. Dennoch wurde ein Sporenverlust geschätzt, der jedoch erst mithilfe eines Höhenparameters für die Sporenverteilung aussagekräftig werden kann.

## 4.3 Etablierungsversuche

### Sprossverpflanzungsversuche

Die Versuche könne insgesamt als erfolgreich bezeichnet werden. Von allen verpflanzten Arten waren zumindest einzelne Exemplare nach zwei Jahren noch vital. Die Zuwachsrate war im Vergleich zur Literatur jedoch eher gering. Bei *L. clavatum* lag sie bei maximal 15,5 cm pro Jahr, wohingegen PRIMACK 1973 70 cm (48-103 cm) Zuwachs pro Jahr und 12,8 (12-14) neue Seitentriebe bei 20 vermessenen Pflanzen angibt. OINONEN 1968 stellte allerdings einen variablen Sprosszuwachs von 3-86 cm pro Jahr bei dieser Art fest, der realistischer erscheint. In trockenen Kiefernwäldern Litauens lag die jährliche Zuwachsrate für *L. annotinum* bei 1 bis 3 cm (NAUJALIS 1995 in RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016). Der untersuchte Standort wird hierbei immer eine entscheidende Rolle spielen.

### Keimungsversuche

In der Literatur werden unterschiedliche Keimungsraten zu *Lycopodium-* und *Diphasiastrum*-Arten der temperaten und borealen Klimazone genannt. Diese liegen bei sterilen Keimungsversuchen im Dunkeln, bei Raumtemperatur und bei der Zugabe von Glucose zum Agar-Medium zu Beginn maximal bei 0,5% nach sechs Monaten für *D. x habereri* (WHITTIER & BRITTON 1995), bei 0,5% nach fünf Monaten für *D. sitchense* (WHITTIER 2003), bei 0,9% nach drei Monaten für *D. digitatum*, bei 0,1% nach drei Monaten für *L. obscurum* und bei 0,07% nach einem Monat für *L. clavatum* (WHITTIER 1998). WHITTIER 2008 führte außerdem einen Keimungsversuch mit *L. clavatum* unter sterilen Bedingungen und dem Einsatz von verschiedenem Licht (täglich 30 min) durch. Dabei keimten nach 110 Tagen im Dunkeln und bei Verwendung von langwelligem rotem Licht (ca. 710 bis 850 nm) signifikant mehr Sporen als bei rotem oder weißem Licht. Dieses hemmt die Keimung, wohingegen langwelliges rotes Licht sie fördert. Während der Entwicklung der Prothallien bilden sich auch langsam die Gameten in ihnen - erst die Antheridien, dann die Archegonien (WHITTIER 2003). Somit erfolgt die Befruchtung verzögert.

Bei (BECK 1880) waren Keimungsversuche auf Gartenerde mit *D. alpinum* und *L. annotinum* in Österreich nicht erfolgreich, jedoch wurden bei *L. clavatum* nach zwei Jahren erste keimende Sporen beobachtet. Er vermutet daher ein zweijähriges Dormanzstadium bei dieser Art. Bei den *Diphasiastrum*-Arten könnte das ähnlich sein und auch erklären, wieso nach zwei Jahren noch keine Sporen gekeimt sind.

EAMES 1942 fand die meisten Prothallien von Bärlappen im Bereich einer Aschelinie zwischen der Humusschicht und dem Oberboden. Er folgerte, dass Waldbrände, besonders nach einer Holzentnahme, geeignete Keimungsbedingungen für Sporen von Bärlappen darstellen können. Auch OINONEN 1968 vermutet einen Zusammenhang zwischen Waldbränden und der Besiedlung dieser Standorte nach einer bestimmten Zeit durch Bärlappe. RUOKOLAINEN & SALO 2009 beobachteten über zehn Jahre die Vegetationsentwicklung im nördlichen Finnland (Karelien) nach einem Waldbrand und fanden auf diesen Flächen verschiedene Bärlapp-Arten (*D. complanatum*, *L. clavatum*, *L. annotinum*), auf der Kontrollfläche ohne Feuereinfluss jedoch keine. KUKKONEN 1967 beobachtete, dass Waldbrände das Wachstum von *D. complanatum* und *D. tristachyum* in Finnland begünstigen. So war nach 20 Jahren eine Fläche von 50 x 50 m mit

*Diphasiastrum* bewachsen und im Bereich eines Lagerfeuers bildete sich ein Ring von 7 m Durchmesser nach einer unbekannten Anzahl von Jahren.

Nach NAUERTZ & ZASADA 2001 kann ein kompletter Lebenszyklus von einer Spore zu einem Sporophyten 20 Jahre dauern. OINONEN 1967 berichtet jedoch, dass es nach einem Feuer nur 11 bis 13 Jahre bei *Diphasiastrum*-Arten in Finnland dauert, bis eine Neuetablierung eines Sporophyten aus einer Spore stattfindet und 17 Jahre, bis eine räumliche Ausdehnung mithilfe der Rhizome zu erkennen ist. OLLGAARD 1985 nimmt eine noch kürzere Besiedlungszeit für einen Bärlapp-Bestand in Dänemark (*D. alpinum*, *L. clavatum*, *Huperzia selago*, *Lycopodiella inundata*) von geschätzten 10 Jahren bis zur Entdeckung der Sporenphytenpopulationen an.

Die Strobili werden bei *L. flabelliforme*, *L. clavatum*, *L. annotinum* und *L. obscurum* in Jahr 4 oder 5 gebildet (PRIMACK 1973). CALLAGHAN 1980 gibt eine Strobilibildung bei *L. annotinum* nach drei Jahren und Sporenfreisetzung nach vier Jahren an.

#### <u>Mykorrhiza</u>

Über die Mykorrhiza-Pilze der *Diphasiastrum*-Arten ist bislang noch wenig bekannt. TREU et al. 1996 wies Mykorrhiza in Wurzeln der Sporophyten von L. clavatum nach, jedoch nicht bei D. alpinum. Erst HORN et al. 2013 entdeckten sie bei der alpinen Art. Die Mykorrhiza existiert dort jedoch nur bei Gametophyten und nicht bei Sporophyten. Die Haupt-Mykorrhizapilzgruppe wurde bei D. alpinum auch in benachbarten Pflanzen von Calluna vulgaris gefunden. Der heterotrophe Gametophyt könnte somit epiparasitisch bei Ericaceae sein. Das wäre eine mögliche Erklärung für die enge pflanzensoziologische Vergesellschaftung (HORN et al. 2013). Calluna vulgaris kommt an fast allen Diphasiastrum-Fundorten Deutschlands vor, ebenso wie L. clavatum. Diphasiastrum- und L. clavatum-Populationen sind nicht immer vergesellschaftet (z. B. Finnland, Oberlausitz). Auch wenn in den deutschen Mittelgebirgen eine solche Vergesellschaftung zu beobachten ist, scheint ein gemeinsamer Mykorrhiza-Pilz als unwahrscheinlich. Die Wahrscheinlichkeit einer Standortbesiedlung über Sporen könnte also von dem Vorkommen eines artspezifischen Mykorrhiza-Pilzes abhängig sein. Auffallender ist eine Vergesellschaftung mit der Familie Ericaceae (besonders Calluna vulgaris) und noch deutlicher mit Pinus sylvestris.

Unklar ist zurzeit noch, ab wann im Leben einer Bärlapppflanze es zu einer Mykorrhiza kommt. Einige Arten speichern Zucker in ihren Sporen und können so erstmal keimen, benötigen spätestens zur Befruchtung jedoch einen Mykorrhiza-Pilz, um den notwendigen Zucker zu erhalten. Eine *Glomus*-Art kommt als Symbiont bei *L. obscurum* in Frage. Prothallien von *L. obscurum* können Lipidtröpfchen und Stärkekörnchen in ihren Zellen speichern, daher sind sie auch ohne Glucose auf Nährstoffmedium noch eine längere Zeit lebensfähig. Das ist ein Vorteil, aber nur, wenn diese Speicherstoffe langsam aufgebraucht werden, da die Prothallien so eine längere Zeit überdauern können, in der ein geeigneter Mykorrhiza-Pilz gefunden werden muss. Damit könnte auch eine sogenannte "Prothallien-Bank" im Boden aufgebaut werden (WHITTIER 2015).

Nach LANG 1899 wird der junge Sporophyt von *L. clavatum* nicht vom Mykorrhiza-Pilz besiedelt. Er muss, bis er das Licht an der Bodenoberfläche erreicht, vollständig abhängig von seinem Prothallium sein. Eine Infektion durch einen Mykorrhiza-Pilz in Primärwurzeln des Sporophyten wäre somit ein de-novo-Ereignis.

Endophytische Pilze sind nach BOULLARD 1979 in HORNBECK et al. 2003 nicht bekannt in Sporophyten der Lycopodiaceae und offenbar auch nicht notwendig für deren Entwicklung.

Es gibt eine Ähnlichkeit von Symbionten der arbuskulären Mykorrhiza bei *Huperzia*-Sporophyten und -Gametophyten, daher könnten Fotosynthese betreibende Sporophyten eine Kohlenstoffquelle für mykoheterotrophe Gametophyten über gemeinsame "Pilz-Netzwerke" der gleichen Art darstellen (WINTHER & FRIEDMAN 2008). Bei *D. complanatum* wurden bislang keine Individuen mit arbuskulärer Mykorrhiza gefunden (ZHAO 2000).

Mykorrhiza könnte auch eine wichtige Pufferfunktion im Boden einnehmen. In einem Versuch von HEIJNE et al. 1996 den Säurestress bei *Arnica montana* reduzieren. Allerdings bildete sich auch die Mykorrhiza zurück, da der *Glomus*-Pilz geschädigt worden ist.

### Sukzessionsgeschwindigkeit

Die Vegetationsaufnahmen auf den Ansiedlungsflächen zeigen sehr deutlich, dass offene Rohböden bereits nach wenigen Jahren zu einem großen Teil mit Vegetation bedeckt sein können. Inwieweit sich eine Schicht aus Kryptogamen auf dem Boden nachteilig auf die

Entwicklung von einer Spore zu einem Sporophyten auswirken kann, ist bislang unbekannt.

#### 4.4 Standortanalyse

#### Gametophytenreservoir im Boden

In den untersuchten Böden im Bereich von vitalen Diphasiastrum-Populationen wurden keine Prothallien nachgewiesen. BRUCHMANN 1898 schrieb zwar, dass sandige Böden im Thüringer Wald weniger Prothallien enthielten als humose Böden, aber reine Sandböden wurden in den eigenen Untersuchungen auch nicht ausgewählt. Es war immer eine mehrere Zentimeter mächtige Humusschicht entwickelt. Nach jetzigem Stand ist kaum eine Verjüngung über Sporen in Deutschland zu erwarten. Lediglich HORN et al. 2013 fand einen jungen Sporophyten von D. alpinum mit anhängendem Gametophyten im Bayerischen Wald und SCHMID & OBERWINKLER 1993 fanden 1990 im Schwarzwald vier Prothallien von L. clavatum von 5-10 mm Länge und 1-3 mm Breite in einer Bodentiefe von 2 bis 3 cm an einer Forststraßenböschung in der Nähe von jungen Sporophyten dieser Art. Die ersten Funde von Prothallien der Art D. complanatum in Deutschland beschreibt BRUCHMANN 1898. Er fand bis zu 8 x 4 mm, aber maximal 12 x 5 mm große, die ein Gewicht von etwa 0,15 g hatten. Er sammelte in mehreren Jahren im Thüringer Wald mehr als 500 Prothallien von D. complanatum, L. clavatum, L. annotinum und eher seltener von D. alpinum und gibt zum Teil mehr als zehn davon pro Kubikdezimeter Boden an. In den vergangenen Jahrzehnten wurden in verschiedenen Regionen in Europa Prothallien von Diphasiastrum-Arten und L. clavatum gefunden. RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015 fanden in Litauen 72 Prothallien von Diphasiastrum von 9,4 mm (± 2,3 mm) Länge und 3,7 mm ( $\pm$  0,9 mm) Breite. Jedoch fanden sie in den Bodenproben mit Ameisennestern nur wenige oder gar keine (RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016). THOMAS 1975 fand in Nord-Wales zwei Prothallien von D. alpinum von 3 mm Länge. In den USA gab es auch mehrere Funde in der Vergangenheit. So fanden BRUCE & BEITEL 1979 48 Prothallien von L. clavatum von 11,2 mm (± 3,6 mm) Länge. Davon besaßen von 70 Individuen von L. clavatum 19 keinen Sporophyten, 26 einen Sporophyten und 25 mehr als einen Sporophyten. SPESSARD 1917 fand Prothallien von L. clavatum in Amerika mit mittleren Größen von 6,5 x 5 mm bis 5 x 3 mm. Insgesamt fand er 17 Prothallien von den Arten D. complanatum, D. lucidulum, L. clavatum, L. annotinum und

*L. obscurum* auf 10 m<sup>2</sup> und mehr als sechs Prothallien (keine Arten genannt) auf 4 cm<sup>2</sup>. BRUCE 1979 fand 117 Prothallien von *L. digitatum* (Länge: 8-25 mm, Breite: 2,5-13 mm), die eher rübenförmig aussahen.

DEGENER 1924 fand die meisten Prothallien von *Lycopodium*-Arten in einer Bodentiefe von 2,5 bis 7 cm. EAMES 1942 fand die meisten Prothallien der von ihm untersuchten *Lycopodium*-Arten (*L. obscurum*, *L. clavatum*, *L. complanatum*, *L. lucidulum* und *L. annotinum*) in 3,5 bis 10 cm Bodentiefe und BRUCHMANN 1898 die meisten Prothallien von *D. complanatum*, *L. clavatum* und *L. annotinum* in 0,5 bis 10 cm Bodentiefe im Bereich von jungen Baumpflanzungen. PRIMACK 1973 jedoch fand keine jungen Sporophyten und auch keine Gametophyten während der Vermessung von *Lycopodium*und *Diphasiastrum*-Rhizomen im Gelände. RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016 fanden eine positive Korrelation zwischen der Anzahl an Gametophyten und jungen Sporophyten in ihren Bodenproben. Die Suche nach Prothallien könnte somit an jungen Sporophyten am erfolgversprechendsten sein.

Außerdem sollen Prothallien von *Diphasiastrum-* und *Lycopodium-*Arten meist nicht in der Nähe von alten Sporophyten vorkommen (SPESSARD 1922, STOKEY & STARR 1924, BRUCE & BEITEL 1979, RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015, RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016). STOKEY & STARR 1924 fanden die meisten Prothallien 15 bis 50 m entfernt von den Altpflanzen. Ebenso entfernt von den alten Sporophyten sind die jungen Sporophyten (BRUCHMANN 1898).

### Bodeneigenschaften

Arten mit oberirdischen Rhizomen (*D. complanatum*, *L. clavatum*) sollen einen Vorteil an feuchten und felsigen Standorten mit verdichtetem Boden und Arten mit unterirdischen Rhizomen einen Vorteil in stark reliefierten Gebieten mit lockerem Boden (NAUERTZ & ZASADA 2001) haben. Zu letzter Gruppe würde von den einheimischen Flachbärlapp-Arten nur *D. tristachyum* zählen. *Diphasiastrum*-Arten haben in Finnland überwiegend Vorkommen in trockenen Kiefernwäldern mit *Calluna vulgaris* und feuchten Fichtenwäldern mit *Vaccinium vitis-idaea* (KUKKONEN 1967). Die untersuchten *Diphasiastrum*-Populationen in Deutschland besiedeln überwiegend *Calluna*-Heiden auf Sekundärstandorten wie Straßen- und Wegböschungen, Skipisten und ehemals militärischen genutzten Flächen (z. B. "Grünes Band"). Wenige Populationen

(insbesondere *D. tristachyum*) besiedeln naturnahe Kiefernwälder mit einer entwickelten Strauch- und Krautschicht wie in der Oberlausitz im Osten Deutschlands.

Der mittlere pH-Wert der eigenen Untersuchungen aller beprobten Standorte im Oberboden lag bei 3,7. Die gemessenen Werte in 0,01M CaCl<sub>2</sub> von HORN 1997 für die Böden in 2 bis 8 cm Tiefe an den Wuchsorten von *Diphasiastrum*-Arten in Niedersachsen und Bremen lagen je nach Art zwischen 3,7 und 4,2. Dabei waren die pH-Werte an Wuchsorten von *D. tristachyum* und *D. x zeilleri* am geringsten. Der in Wasser gemessene pH-Wert in Waldböden Litauens im Bereich von Bärlapp-Fundorten lag bei 5 (RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016). Der pH-Wert gemessen in Wasser ist jedoch um 0,4 bis 1,1 Einheiten höher als in Salzlösung (ULRICH 1981 in WELLBROCK et al. 2016) bzw. um 0,6 bis 0,8 Einheiten höher und der Unterschied ist besonders groß bei niedrigeren pH-Werten (BACKES 1993 in WOLFF & RIEK 1997). Somit lag der mittlere pH-Wert der untersuchten Böden in Litauen vergleichsweise bei 4 bis 4,5 und damit über den in Deutschland festgestellten Werten und nicht mehr im Aluminium-Pufferbereich.

TAMM & HALLBACKEN 1988 wiesen 1982/1983 (gemessen in Wasser) einen geringeren pH-Wert in Bodenprofilen von Waldstandorten Schwedens nach verglichen mit Daten aus 1927. Die größte Versauerung wurde in der Humusschicht festgestellt – von 4,5 zu 3,8. Im Oberboden stellten sie einen Rückgang von 4,5 auf 4,2 fest. Sie nahmen an, dass die Ursache für die Versauerung in größeren Bodentiefen in Stoffen aus der Atmosphäre zu finden ist. Im Südwesten Schwedens waren die Rückgänge im pH-Wert geringer als im Norden. Sie konnten sich das nur mit einer unterschiedlichen Verteilung des Säureeintrags erklären.

In den letzten 20 Jahren sind die pH-Werte, zumindest in den Böden Deutschlands, wieder angestiegen. Während der zweiten Bodenzustandserhebung in Deutschland in den Jahren 2006 bis 2008 hatte der Auflagehumus der Böden (n > 1800) im Mittel einen pH-Wert gemessen in Wasser von 4,6 ( $\pm$  0,02) und gemessen in 1M Kaliumchlorid-Lösung von 3,9 ( $\pm$  0,02). In der oberen Mineralbodenschicht waren die pH-Werte im Mittel etwas geringer als im Auflagehumus und nahmen mit zunehmender Bodentiefe zu. Seit der ersten Bodenzustandserhebung in den 1990er Jahren sind die pH-Werte über das gesamte Profil gestiegen. Dabei war der Anstieg im Auflagehumus am höchsten. Die Änderungsraten des pH-Wertes gemessen in Wasser lagen bei 0,013 ( $\pm$  0,0014) pro Jahr im Auflagehumus und bei 0,011 ( $\pm$  0,0011) pro Jahr in 0 bis 5 cm Bodentiefe, gemessen in 1M Kaliumchlorid-Lösung bei 0,004 ( $\pm$  0,0014) pro Jahr und 0,002 ( $\pm$  0,0011) pro

Jahr. Die Änderung im Oberboden wurde vermutlich durch Kalkungsmaßnahmen hervorgerufen (WELLBROCK et al. 2016). Trotzdem dokumentiert nach (MEESENBURG et al. 2017) die zweite Bodenzustandserhebung wie schon die erste eine starke Versauerung vieler Waldböden in Deutschland. Etwa 40 % der Oberböden (0 bis 10 cm) befinden sich im Aluminium- (pH 3,8 bis 4,2) oder Aluminium-Eisen-Pufferbereich (pH 3,0 bis 3,8), wo das Risiko von Aluminiumtoxizität für Baumwurzeln und Bodenorganismen besteht. Nach ABEDI et al. 2013 begrenzt Aluminium auf sauren Böden das Pflanzenwachstum am stärksten. In Rheinland-Pfalz führten vermutlich großflächige Kalkungen zur Erhöhung der pH-Werte (besonders im Oberboden) ehemals stark versauerter Böden auf Sandstein oder Quarzit im Zeitraum von 1989/90 bis 2006/07 (BLOCK 2012).

Stickstoffeinträge in den Boden sind in Deutschland am höchsten im Nordwesten und in den Mittelgebirgen (SCHEUSCHNER & SCHLUTOW 2011). Im Jahr 1990 wurden die kritischen Eintragsraten für eutrophierenden Stickstoff an 77 % aller Inventurpunkte überschritten, 2007 waren es 59 % und 2015 nur noch 52 %. Der critical load für eutrophierenden Stickstoff wurde in allen drei Jahren stärker an den Erhebungspunkten der Bodenzustandserhebung mit Kiefer-Bestockung als bei anderen Bestockungen überschritten. Hier ist jedoch die Überschreitung auch stark zurückgegangen (WELLBROCK et al. 2016). Der critical load für Versauerung wurde in Deutschland im Jahr 2009 besonders im Nordwesten, in der Oberlausitz und in den östlichen Mittelgebirgen (Erzgebirge, Bayerischer Wald) überschritten (SCHAAP et al. 2015). Die Messungen der verschiedenen Autoren zeigen, dass der äußerste Norden und Osten Europas weniger stark von der Bodenversauerung bis in die 1980er Jahre betroffen waren als Mitteleuropa und speziell Deutschland. Vermutlich sind deshalb heutzutage in diesen Regionen noch Verjüngungen von Bärlappen über Sporen zu beobachten (RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2015, RIMGAILE-VOICIK & NAUJALIS 2016).

#### Alter von Individuen, Populationen und Standorten

Die untersuchten *Diphasiastrum*-Populationen in Deutschland bilden dichte Bestände und die Abstände zwischen zwei vertikalen Sprossen sind verglichen mit Populationen in anderen Regionen Europas eher gering (eigene Beobachtungen in Finnland und Beobachtungen von Prof. Martin Schnittler in Litauen). Bei den nordamerikanischen Arten *L. obscurum* und *L. flabelliforme* (= *D. digitatum* (DILLENIUS ex A. BRAUN)

Holub) lag der durchschnittliche Abstand zwischen zwei Sprossbüscheln bei 17,4 cm bzw. 4 cm. Jedoch wird nur letztere Art in die Gattung *Diphasiastrum* gestellt.

Der Durchmesser aller im Rahmen dieser Dissertation untersuchten Populationen (n = 60) war mit 4,2 (± 6,1) m eher gering. Für die große Standardabweichung waren die räumlich ausgedehnten Populationen von D. tristachyum (38 m und 16 m) und D. x zeilleri (24 m) in der Oberlausitz maßgebend. Dort befinden sich auch die wenigen Vorkommen von Flachbärlappen an naturnahen Standorten in Deutschland (Kiefernwälder). Außerhalb Deutschlands wird von deutlich größeren Populationen berichtet. OINONEN 1967 beobachtete Diphasiastrum-Klone mit einem Durchmesser von 250 m. Er war es auch, der erstmals einen mathematischen Zusammenhang zwischen dem Durchmesser eines Diphasiastrum-Klons und dessen Alter fand. Grundlage war das Alter der Standorte, die zum Beispiel nach Waldbränden entstanden sind. Demnach kann das Alter eines Klons bestimmt werden durch f(x) = 16,88 + 3,26x. Dabei ist 16,88 das Alter in Jahren, ab dem das vegetative Wachstum beginnt (Daten zu Waldbränden als Grundlage). Der größte während dieser Untersuchungen vermessene Klon von 250 m Durchmesser hatte somit ein Alter von ca. 832 Jahre. Der Radius der hexenringartig wachsenden Klone vergrößert sich demnach um 15,1 pro Jahr. Wie groß dann der jährliche Rhizomzuwachs ist, kann nicht daraus abgeleitet werden. Ein Zusammenhang wie bei OINONEN 1967 konnte bei den Populationen in Deutschland nicht festgestellt werden. Es konnten auch keine Hexenringe beobachtet werden und der jährliche Rhizomzuwachs ist mit 0,5 bis 13,3 cm je nach Art deutlich geringer (vgl. Kapitel 3.3.1). Altersbestimmungen nahmen auch andere Autoren vor. VAN SOEST 1964 ermittelte aus einem Hexenring-Zuwachs (Durchmesser) von ca. 25 cm pro Jahr bei D. tristachyum in den Niederlanden ein Alter von 108 Jahren. Die Zuwachsmessungen fanden zwischen 1947 und 1964 statt. WITTIG et al. 2007 fand einen Rhizomzuwachs für L. annotinum zwischen 1994 und 2003 von 20 cm pro Jahr. Daraus ermittelte er ein Alter von 90 (Radius = 18 m) bzw. 80 Jahren (Radius = 16 m) für zwei Populationen. STONE & THORP 1971 beobachteten eine Radiuszunahme von 20 cm bis 40 cm pro Jahr bei D. complanatum, D. tristachyum, L. clavatum und L. obscurum in Nordamerika. SPALDING et al. 1975 stellten eine Radiuszunahme von 20 cm bis 50 cm pro Jahr für D. tristachyum, D. complanatum und L. clavatum in Nordamerika fest. NAUERTZ & ZASADA 2001 geben für D. complanatum ein optimales laterales Sprosswachstum für das Entwicklungsjahr 1 bis 6 mit einer maximalen Ausdehnung von 4 bis 6 m an. Das sind

bis zu 100 cm pro Jahr. PRIMACK 1973 gibt für die nordamerikanischen Arten *L. obscurum* und *L. flabelliforme* einen jährlichen Rhizomzuwachs von 17 (13-21) cm bzw. 38 (26-50) cm an. Zusammenfassend ist bei einem hexenringförmigen Wuchs eine Vergrößerung des Durchmessers um mehr als 20 cm normal. Es gibt allerdings keine Aussage zu den Standorten. Eventuell sind diese nährstoffärmer als die in Deutschland. Die mitteleuropäischen *Diphasiastrum*-Arten bilden jährlich mehrere vertikale Sprosse. Die Ergebnisse der Zuwachsmessungen (Kapital 3.3.2) liegen dabei im Bereich der indirekten Bestimmung aus dem Alter des Standorts und der längsten Rhizomverbindung. Das sichert die Ergebnisse der relativ kleinen Stichprobe ab. PRIMACK 1973 gibt für *L. obscurum* einen gebildeten Sprossbüschel pro Jahr, 9,3 (7-13) für *L. flabelliforme* und 7,9 (7-9) für *L. annotinum* an. Bei letzterer Art fand CALLAGHAN 1980 jedoch heraus, dass der Abstand zwischen zwei vertikalen Sprossen einem Lebensjahr entspricht. Die Anzahl jährlich gebildeter vertikaler Sprosse wird wohl stark standort- und klimaabhängig sein.

In Deutschland kommt es kaum noch zur Verjüngung von Flachbärlapp-Populationen über Sporen. Lediglich HORN 2013 fand einen jungen Sporophyten von *D. alpinum* mit anhängendem Gametophyten im Bayerischen Wald. Das stellt ein großes Problem für Artenhilfsmaßnahmen in Deutschland dar. Arten der Gattung *Diphasiastrum* und *Lycopodium* bilden Jungpflanzen meist dort, wo es Störungen in den Wäldern gibt. In den untersuchten Gebieten Deutschlands siedeln die alten Sporophyten meist am Rand von Waldwegen oder kleinen Pfaden, aber auch Orte ehemaliger Waldbrände werden vermutet bzw. sind bestätigt worden (EAMES 1942, OINONEN 1968, MULLER et al. 2003, RUOKOLAINEN & SALO 2009). Solche Naturphänomene, die es während militärischer Übungen auch in Deutschland gab (mündliche Mitteilung ortsansässiger Naturschützer), könnten in den eutrophierten Wäldern Mitteleuropas wieder geeignetere Keimungs- und Entwicklungsbedingungen für Flachbärlappe und andere Arten nährstoffarmer, schwach saurer Waldstandorte schaffen.

## 5 Ausblick

Wie groß ist die genetische Diversität der *Diphasiastrum*-Arten außerhalb Deutschlands, Europas und in den nördlicheren Klimazonen? Diese Frage wird in naher Zukunft beantwortet werden können, da sich bereits Forschungsarbeiten damit befassen. Die AFLP-Methode ist zwar geeignet, um Individuen zu unterscheiden. Man kann damit jedoch keine Aussage über den Genotyp der Elternpflanzen treffen. Das ist aber wichtig, um deren Herkunft und damit die tatsächliche und effektive Sporenausbreitungsdistanz ermitteln zu können.

Auch wenn eine Fernausbreitung von Sporen nachgewiesen werden konnte, kann noch keine gesicherte Aussage über die maximal möglichen Ausbreitungsdistanzen getroffen werden. Hierzu ist ein komplexerer Versuchsaufbau mit integrierten regelmäßigen Windmessungen erforderlich. Die Komplexität ergibt sich unter anderem daraus, dass Sporen auf den Boden fallen, an Vegetationsteilen hängenbleiben, aber auch über weite Strecken durch die Luft horizontal und vertikal transportiert werden können. Dies erfordert eine Anpassung der Sporenfallen. Die Anzahl der landenden Sporen auf dem Boden in einer bestimmten Entfernung zu einer sporenbildenden Population ist neben der Sporenkeimung und der Wahrscheinlichkeit einer Befruchtung, wenn sexuelle Reproduktion vorausgesetzt wird, einer der kritischsten Parameter für eine Neubesiedlung von Standorten.

Nach wie vor besteht noch Forschungsbedarf zu den Keimungsbedingungen. Auch inwieweit und ab wann in der Entwicklung artspezifische Mykorrhiza-Pilze eine Rolle spielen, ist noch nicht geklärt. Sobald man mehr über die Mykorrhiza-Pilze der *Diphasiastrum*-Arten weiß, könnte man versuchen, diese auf Versuchsflächen in der Natur auszubringen, um so bestenfalls die Keimung zu beschleunigen. Über die Langlebigkeit von Sporen ist noch wenig bekannt. Eventuell gibt es keimfähige Sporen noch nach mehreren Jahrzehnten in Sporenbanken im Boden. Die Frage ist jedoch, welche Umweltbedingungen dafür vorherrschen müssen. In welchem Zustand müssen beispielsweise Sporen gesammelt werden, um damit erfolgreich Keimungsversuche durchführen zu können und wie müssen sie bis zu den Versuchen gelagert werden? Auch ist nichts darüber bekannt, wie weit Gameten transportiert werden können und wie lange sie lebensfähig sind.

Die insgesamt erfolgreich verlaufenen Sprossverpflanzungsversuche zeigen, dass dies eine Methode sein kann, um zumindest eine Verschlechterung des Erhaltungszustandes der in Deutschland rezenten *Diphasiastrum*-Populationen zu vermeiden.

Um ein effektives Artenhilfsprogramm entwickeln zu können, müssen auch die gesetzlichen Grundlagen passen. Waldbrände haben mir großer Wahrscheinlichkeit einen bedeutenden Einfluss auf die Entwicklung von *Diphasiastrum*-Arten. Jedoch ist das als Pflegemaßnahme nur in wenigen Gebieten Deutschlands durchführbar, da oft gesetzlich verboten. Eine Waldwirtschaft mit Entfernung von Baumstümpfen wie es das einst gab, kann sinnvoll sein, da dort Sporen einfacher in den Boden eingetragen werden können. Auch hier sind die Waldgesetze der einzelnen Bundesländer zu berücksichtigen. Eventuell sind aber Versuche auf Stiftungs- oder Privatwaldflächen möglich.

Abschließend sollte auch noch die Frage gestellt werden, ob eine bestimmte Populationsdichte für eine Neubesiedlung von Standorten über Sporen erforderlich ist. Auch wenn die Anzahl der gebildeten Sporen in einem Sporenstand sehr hoch ist, wird es doch entscheidender sein, wie viele dieser Sporen keimungsfähig sind, dann auch tatsächlich keimen und über ihre gebildeten Gametophyten Gameten freisetzen, die für eine Befruchtung die Voraussetzung sind und damit für die Entstehung neuer genetischer Sporophyten. All diese Daten werden für eine Modellierung benötigt, die die Wahrscheinlichkeit eines Etablierungsereignisses aus einer Spore beschreibt. Die vorliegende Arbeit liefert bereits entscheidende Daten für einzelne Parameter. So wurden bereits erste Daten zur Anzahl der gebildeten Sporen in den Sporenständen ermittelt, Außerdem liegen Daten zum Alter einzelner Klone und ihrer Standorte vor und der teilweise sehr niedrige pH-Wert konnte als eine wesentliche Gefährdungsursache neben der hohen Sukzessionsgeschwindigkeit und der langsamen Entwicklung der Arten bestimmt werden.

Das Ziel meiner Arbeit, die Lage, Beschaffenheit und das zeitliche Bestehen geeigneter Flächen in der Landschaft für die Flachbärlappe zu ermitteln, die für eine spontane Neuetablierung von Populationen über Sporen erforderlich sind, konnte in Ansätzen erreicht werden. Die effektive Fernausbreitung der Sporen spricht dafür, dass potentielle Neubesiedlungsflächen nicht nur im Bereich bestehender Populationen, sondern auch hunderte Meter entfernt sinnvoll sein können. Dies müssen jedoch Flächen mit Rohbodencharakter sein, da nur so ein Sporeneintrag mit hoher Wahrscheinlichkeit gewährleistet ist. Wichtig für folgende Forschungen ist es, Möglichkeiten des Nährstoffentzugs aus natürlicherweise sehr nährstoffarmen Standorten zu finden, da hohe Nährstoffgehalte des Bodens zu einer schneller ablaufenden Sukzession und damit zu einem engeren Zeitfenster für die Keimung bis hin zur Sporophytenentwicklung führen können.

Basierend aus den vorliegenden Daten meiner Arbeit und eventuell noch zusätzlichen zu erhebenden Daten möchte ich ein bundesweites Artenhilfsprogramm für die *Diphasiastrum*-Arten und für Arten mit ähnlicher Ökologie entwickeln, das Schutz, Pflege und Entwicklung von Populationen dauerhaft absichert, optimalerweise irgendwann ohne aktive menschliche Hilfe.

## Quellenverzeichnis

- AAGAARD, S. M. D., VOGEL, J. C., WIKSTRÖM, N. (2009): Resolving maternal relationships in the clubmoss genus *Diphasiastrum* (Lycopodiaceae). *Taxon* 58 (3), 835-848.
- ABEDI, M., BARTELHEIMER, M., POSCHLOD, P. (2013): Aluminium toxic effects on seedling root survival affect plant composition along soil reaction gradients a case study in dry sandy grasslands. *Journal of Vegetation Science* 24, 1074-1085.
- ALCAZAR, P., GALAN, C., CARINANOS, P. & DOMINGUEZ-VILCHES, E. (2003): A new adhesive for airborne pollen sampling in Spain. *Aerobiologia* **19**, 57-61.
- ASKEW, A. P., CORKER, D., HODKINSON, D. J., THOMPSON, K. (1997): A new apparatus to measure the rate of fall of seeds. *Functional Ecology* **11**, 121-125.
- BACKES, J. (1993): Aufbau eines Waldbodeninformationssystemes und Ergebnisse der saarländischen Waldbodeninventur. Saarbrücken.
- BARON, E. J. R., ROLLERI, C. H., PASSARELLI, L. M., MATIAS, S. E., TORRES G., A. M. (2014): Esporogénesis, esporodermo y ornamentación de esporas maduras en Lycopodiaceae. *Revista de biologia tropical* 62 (3), 1161-1195.
- BECK, G. (1880): Einige Bemerkungen über den Vorkeim von Lycopodium. Österreichische Botanische Zeitschrift **11** (30. Jahrgang), 341-344.
- BENCA, J. P. (2014): Cultivation techniques for terrestrial clubmosses (Lycopodiaceae): conservation, research, and horticultural opportunities for an early-diverging plant lineage. *American Fern Journal*, **104** (2), 25-48.
- BENNERT, H. W. et al. (2011): Flow cytometry confirms reticulate evolution and reveals triploidy in Central European *Diphasiastrum* taxa (Lycopodiaceae, Lycophyta). *Annals of Botany*, **108** (5), 867-876.
- BLOCK, J. (2012): Waldbodenzustand in Rheinland-Pfalz: Ergebnisse der zweiten landesweiten Bodenzustandserhebung BZE II. Mitteilungen aus der

Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz 70/12, 228 Seiten.

- BORRELL, J. S. (2012): Rapid assessment protocol for pollen settling velocity: implications for habitat fragmentation. *Bioscience Horizons* **5**.
- BOULLARD, B. (1979): Considerations sur la symbiose fongique chez les Pteridophytes. Nat. Mus. Can. Syllogeus. **19**.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1964): *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde.* Wien, New York: Springer Verlag.
- BROOKS, J. & ELSIK, W. C. (1974): Chemical oxidation (using ozone) of the spore wall of *Lycopodium clavatum. Grana* **14**, 85-91.
- BRUCE, J. G. (1979): Gametophyte of *Lycopodium digitatum*. *American Journal of Botany* **66** (10), 1138-1150.
- BRUCE, J. G, BEITEL, J. M. (1979): A community of Lycopodium gametophytes in Michigan. American Fern Journal 69 (2), 33-41.
- BRUCHMANN, H. (1898): Über die Prothallien und die Keimpflanzen mehrerer europäischer Lycopodien, und zwar über die von *Lycopodium clavatum*, *L. annotinum*, *L. complanatum* und *L. selago*. Perthes, Gotha.
- BRUCHMANN, H. (1910): Die Keimung der Sporen und die Entwicklung der Prothallien von *Lycopodium clavatum* L., *L. annotinum* L. und *L. selago* L. Flora 1, 220–267.
- BUTTLER, K. P. & HAND, R. (2008): Liste der Gefäßpflanzen Deutschlands. Kochia, Beiheft 1, 1-107.
- CALLAGHAN, T. V. (1980): Age-related patterns of nutrient allocation in *Lycopodium* annotinum from Swedish Lapland. Oikos **35**, 373-386.
- CALLAGHAN, T. V., EMANUELSSON, U. (1985): Population structure and processes of tundra plants and vegetation. In *Handbook of Vegetation Science* 3 (ed.: WHITE, J.), 399-439.

- CHAMBERLAIN, A. C. (1967): Transport of *Lycopodium* spores and other small particles to rough surfaces. *Proceedings of the Royal Society of London Series A*, *Mathematical and Physical Sciences* **296** (1444), 45-70.
- CHASE, M. W. & HILLS, H. H. (1991): Silica gel: An ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* **40**, 215-220.
- CHIRGWIN, J. M., PRZYBYLA, A. E., MACDONALD, R. J. & RUTTER, W. J. (1979): Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochemistry* **18** (24), 5294-5299.
- CHRISTENSEN, JONES, J. (1942): Long distance dissemination of plant pathogens. Aerobiology: Amer. Ass. Ado. Sci. Publ. no. 17, 78-87.
- DEGENER, O. (1924): Four New Stations of *Lycopodium* Prothallia. *Botanical Gazette* **77** (1), 89-95.
- DELLAPORTA, S. L., WOOD, J. & HICKS, J. B. (1983): A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* **1** (4).
- DI-GIOVANNI, F., KEVAN, P. G., NASR, M. E. (1995): The variability in settling velocities of some pollen and spores. *Grana* **34**, 39–44.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* **19**, 11-15.
- EAMES, A. J. (1942): Illustrations of some *Lycopodium* gametophytes. *American Fern Journal* **32** (1), 1-12.
- FERRANDINO, F. J., AYLOR, D. E. (1984): Settling speed of clusters of spores. *Phytopathology* **74**, 969-972.
- FISCHER M. A., WILLNER W., NIKLFELD H., GUTERMANN W. (Eds.) (ab 2007): Online-Flora von Österreich. <u>http://cvl.univie.ac.at/flora</u> (Zugriff: 28.02.2016).
- FREEBERG, J. A., WETMORE, R. H. (1957): Gametophytes of Lycopodium as grown in vitro. Phytomorphology 7, 204-217.

- GILMAN, A. V. (1994): A new tri-hybrid lycopod, *Diphasiastrum digitatum* x *sabinifolium*. *Rhodora* **96** (887), 287-293.
- GOMEZ-NOGUEZ, F., PEREZ-GARCIA, B., MENDOZA-RUIZ, A. & OROZCO-SEGOVIA, A. (2014): A pluviometric fern spore, fungal spore, and pollen trap. *American Fern Journal* 104 (1), 1-6.
- GREGORY, P. H. (1945): The dispersion of air-borne spores. *Transactions of the British Mycological Society* **28** (1-2), 26-72.
- GREGORY, P. H. (1951): Deposition of air-borne *Lycopodium* spores on cylinders. *Annals* of Applied Biology **38**, 357-376.
- GREGORY, P. H. & STEDMAN, O. J. (1953): Deposition of air-borne *Lycopodium* spores on plane surfaces. *Annals of Applied Biology* **40**, 651-674.
- GRINSHPUN, S. A., LIPATOV, G. N., SEMENYUK, T. J., YAKIMCHUK, V. I. (1991): Peculiarities of *Lycopodium* spores sampling from the ambient atmosphere: physical effects and problems of representativeness. *Grana* 30, 424-429.
- HANUSOVA, K. et al. (2014). Continuous morphological variation correlated with genome size indicates frequent introgressive hybridization among *Diphasiastrum* species (Lycopodiaceae) in Central Europe. *Plos One*, **9** (6).
- HEIJNE, B., van DAM, D., HEIL, D. W., BOBBINK, R. (1996): Acidification effects on vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) infection, growth and nutrient uptake of established heathland herb species. *Plant and Soil* 179, 197-206.
- HERSEY, R. E. & BRITTON, D. M. (1981): A cytological study of three species and a hybrid taxon of *Lycopodium* (sect. Complanata) in Ontario. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 23 (3), 497-504.
- HONRUBIA, M., DIAZ, G. (1996): Effect of simulated acid rain on mycorrhizae of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Miller) in calcareous soil. *Annals of Forest Science* 53, 947-954.

- HORN, K. (1997): Verbreitung, Ökologie und Gefährdung der Flachbärlappe (Diphasiastrum ssp., Lycopodiaceae, Pteridophyta) in Niedersachsen und Bremen. Naturschutz und Landschaftspflege in Niedersachsen 38, 1-83.
- HORN, K. (2006): Diphasiastrum Holub. Flachbärlapp. In: Flora von Thüringen. Die wildwachsenden Farn- und Blütenpflanzen Thüringens. Jena: Weissdorn-Verlag, 34-37.
- HORN, K., FRANKE, T., UNTERSEHER, M., SCHNITTLER, M., BEENKEN, L. (2013): Morphological and molecular analyses of fungal endophytes of achlorophyllous gametophytes of *Diphasiastrum alpinum* (Lycopodiaceae). *American Journal of Botany* 100, 2158-2174.
- HORNBECK, J. H., REYHER, D. J., SIEG, C., CROOK, R. W. (2003): Conservation Assessment for Groundcedar and Stiff Clubmoss in the Black Hills National Forest South Dakota and Wyoming. United States Department of Agriculture Forest Service Rocky Mountain Region Black Hills National Forest.
- JOHANSSON, V. A. & ERIKSSON, O., (2013). Recruitment limitation, germination of dust seeds, and early development of underground seedlings in six Pyroleae species. *Botany* 91, 17-24.
- JOHANSSON, V. A., MÜLLER, G. & ERIKSSON, O. (2014): Dust seed production and dispersal in Swedish Pyroleae species. *Nordic Journal of Botany* **32**, 209-214.
- JOHN, M. E. (1992): An efficient method for isolation of RNA and DNA from plants containing polyphenolics. *Nucleic Acids Research* **20** (9), 2381.
- JORGENSON, J. W. & LUKACS, K. D. (1981): Free-zone electrophoresis in glass capillaries. *Clinical Chemistry* **27** (9), 1551-1553.
- KAENE, K. D., MANNING, W. J. (1988): Effects of ozone and simulated acid rain on birch seedling growth and form of ectomycorrhiza. Environmental Pollution **52**, 55-65.
- KORNECK, D., SCHNITTLER, M. & VOLLMER, I. (1996): Rote Liste der Farn- und Blütenpflanzen (Pteridophyta et Spermatophyta) Deutschlands. Schriftenreihe für Vegetationskunde 28, 21-187.

- KUKKONEN, I. (1967): Studies on the variability of *Diphasium* (*Lycopodium*) *complanatum*. *Annales Botanici Fennici* **4**, 441-470.
- KUPARINEN, A. (2006): Mechanistic models for wind dispersal. *Trends in Plant Science* 11 (6), 296-301.
- LAKE, B. (2000): Acid soil management: Understanding soil pH (Broschüre). New South Wales Acid Soil Action Program, New South Wales Department of Agriculture, 4 Seiten.
- LANG, W. H. (1899): The prothallus of *Lycopodium clavatum*, L. Annals of Botany **13**, 279-317.
- LOUBET, B., JAROSZ, N., SAINT-JEAN, S., HUBER, L. (2007): A method for measuring the settling velocity distribution of large biotic particles. *Aerobiologia* **23**, 159-169.
- LÖNNELL, N., HYLANDER, K., JONSSON, B. G., SUNDBERG, S. (2012): The fate of the missing spores — patterns of realized dispersal beyond the closest vicinity of a sporulating moss. *PLoS ONE* 7 (7).
- LUDWIG, G., SCHNITTLER, M. (Red.) (1996): Rote Liste gefährdeter Pflanzen Deutschlands. Bundesamt f
  ür Naturschutz. Schriftenreihe f
  ür Vegetationskunde 28. Bonn.
- MAEHARA, N., KIKUCHI, J., FUTAI, K. (1993): Mycorrhizae of Japanese black pine (*Pinus thunbergia*): Protection of seedling from acid mist and effect of acid mist on mycorrhiza formation. *Canadian Journal of Botany* **71**, 1562-1567.
- MAJOR, A. & ODOR, P. (1999): Genet composition of *Diphasiastrum complanatum* in Western Hungary: a case study. *American Fern Journal*, **89** (2), 106-123.
- MAYRAND, P. E. et al. (1992): The use of fluorescence detection and internal lane standards to size PCR products automatically. *Applied and Theoretical Electrophoresis*, **3** (1), 1-11.
- McCUBBIN, W. A. (1918): Dispersal distance of urediniospores of *Cronartium ribicola* as indicated by their rate of fall in still air. *Phytopathology*, **VIII**, 35-36.

MEESENBURG, H., WELLBROCK, N., LAUER, A., EICKENSCHEIDT, N., HÖHLE, J., GRÜNEBERG, E., EVERS, J., AHRENDS, B., SCHIMMING, C. G., NAGEL, H. D., RIEK, W., MEIWES, K. J. (2017): Entwicklung der Versauerung von Waldböden in Deutschland. *Allgemeine Forstzeitschrift Wald* 72 (2), 18-20.

MITCHELL, A. (1979): Die Wald- und Parkbäume Europas. Paul Parey Verlag, 2. Auflage.

- MULLER, S., GEROME, C., HORN, K. (2003): Importance of secondary habitats and need for ecological management for the conservation of *Diphasiastrum tristachyum* (Lycopodiaceae, Pteridophyta) in the Vosges Mountains (France). *Biodiversity* and Conservation 12, 321-332.
- MULLIS, K. B., FALOONA, F. A., SCHARF, S., SAIKI, R., HORN, G., ERLICH, H. (1986):
   Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction.
   *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51, 263-273.
- NAUERTZ, E. A., ZASADA, J. C. (2001): Lycopodium: growth form, morphology, and sustainability of a non-timber forest product. In: Davidson-Hunt, Iain; Duchesne, Luc C.; Zasada, John C., eds. Forest communities in the third millennium: linking research, business, and policy toward a sustainable non-timber forest product sector, proceedings of the meeting; 1999 October 1-4; Kenora, Ontario, Canada. Gen. Tech. Rep. NC-217. St. Paul, MN: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, North Central Research Station: 110-115.
- NAUJALIS, J. R. (1995): Sporiniai induo<sup>\*</sup>ciai kaip augalu, bendriju, komponentai (Pteridophytes as components of plant communities. Vilnius.
- NIKLAS, K. J. (1985): The aerodynamics of wind pollination. *The Botanical Review* **51** (3), 328-386.
- OINONEN, E. (1967): Sporal regeneration of ground pine (*Lycopodium complanatum* L.) in southern Finland in the light of the dimensions and age of its clones. *Acta Forestalia Fennica* **83**, 1-85.
- OINONEN, E. (1968): The size of *Lycopodium clavatum* L. and *L. annotinum* L. stands as compared to that of *L. complanatum* L. and *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn stands,
the age of the tree stand and the dates of fire on the site. *Acta Forestalia Fennica* **87**, 1-53.

- OKUBO, T., KOKUFUTA; E., NAKAMURO, M., YOSHINAGA, K., MIZUTANI, M., TSUCHIDA, A. (2010): Drying dissipative structures of *Lycopodium* spore particles in aqueous dispersion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 80, 193-199.
- OLLGAARD, B. (1985): Observations on the ecology of hybridisation in the clubmosses (Lycopodiaceae). *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* **86**B, 245-251.
- PATERSON, A. H., BRUBAKER, C. L. & WENDEL, J. F. (1993): A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter* **11** (2), 122-127.
- PETROFF, A. (2005): Mechanistic study of aerosol dry deposition on vegetated canopies. *Radioprotection* (Suppl. 1) **40**, 443-450.
- PLOTNIKOV, V. V., (1977): Sporophyte ontogenesis of *Lycopodium annotinum* L. and its population structure. *Bot. Zh. SSSR* **62** (8), 1196–1200.
- PRIMACK, R. B. (1973): Growth patterns of five species of *Lycopodium*, *American Fern Journal* **63** (1), 3-7.
- RADKE, D. (o. J.): URL: http://www.eisenbahnen-in-mv.de/Seiten/GeschMeck.htm (Stand: 09.05.2017).
- RAMBERT, A., HUBER, L., GOUGAT, P. (1998): Laboratory study of fungal spore movement using Laser Doppler Velocimetry. Agricultural and Forest Meteorology 92, 43-53.
- RIMGAILE-VOICIK, R. & NAUJALIS, J. R. (2015): First findings of subterranean gametophytes of the genus *Diphasiastrum* in Lithuania. *Botanica Lithuanica* 21 (2), 133-135.
- RIMGAILE-VOICIK, R. & NAUJALIS, J. R. (2016): Presence of Juvenile Club Moss (Lycopodiaceae) Sporophytes and Gametophytes in Relation to Vegetation Cover in Dry Pine Forests. *American Fern Journal* **106** (4), 242-257.

- RUOKOLAINEN, L., SALO, K. (2009): The effect of fire intensity on vegetation succession on a sub-xeric heath during ten years after wildfire. *Annales Boanici Fennici* **46**, 30-42.
- SCHAAP, M., WICHINK KRUIT, R., BANZHAF, S., SCHEUSCHNER, T., HENDRIKS, C., KRANENBURG, R., SEGERS A., BUILTJES, P. (2015): Atmospheric deposition to German natural and semi-natural ecosystems during 2009. Umweltbundesamt, Dessau, 84 Seiten.
- SCHEUSCHNER, T., SCHLUTOW, A. (2011): Erfassung, Prognose und Bewertung von Stoffeinträgen und ihren Wirkungen in Deutschland. Umweltbundesamt-Texte 38/2011, 95 Seiten.
- SCHMID, E. & OBERWINKLER, F. (1993): Mycorrhiza-like interaction between the achlorophyllous gametophyte of *Lycopodium clavatum* L. and its fungal endophyte studied by light and electron microscopy. *New Phytologist* **124**, 69-81.
- SCHMIDT, W. (1925): Der Massenaustausch in freier Luft und verwandte Erscheinungen. Probleme der kosmischen Physik **VII**, 1-118.
- SCHNITTLER, M., KAUFMANN, R., HORN, K., BOG, M., RIMGALAITIS, R., KLAHR, A., BENNERT, W., FUCHS, J. (unveröffentlicht): Reproductive biology of the European species of the genus *Diphasiastrum* (Lycopsida).
- SHEAT, D. E. G., FLETCHER, B. H., STREET, H. E. (1959): Studies on the growth of excised roots. VIII. The growth of excised tomato roots supplied with various inorganic sources of nitrogen. *New Phytologist* 58, 128-141.
- SINGH, A., AGRAWAL, M. (2008): Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology* **29** (1), 15-24.
- SOLTIS, D. E., & SOLTIS, D. P. (1988): Estimated rates of intragametophytic selfing in lycopods. *American Journal of Botany* **75** (2), 248-256.
- SONNBERGER, B. (1995): Doppelte Sporenreife bei Lycopodium annotinum L. Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft 65, 93-94.

- SONNBERGER, B., SLIWINSKA-WYRZYCHOWSKA, A., BOGDANOVICZ, M. (2008): Wintersporen bei Lycopodium annotinum in ganz Europa? Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft **78**, 49-52.
- SPALDING, B., DUXBURY, J. M., STONE, E. L. (1975): Lycopodium fairy rings: effect on soil respiration and enzymatic activities. Soil Science Society of America Proceedings 39, 65-70.
- SPESSARD, E. A. (1917): Prothallia of *Lycopodium* in America. *Botanical Gazette* **63** (1), 66-76.
- SPESSARD, E. A. (1922): Prothallia of *Lycopodium* in America II. *Botanical Gazette* 74 (4), 392-413.
- SREERAMULU, T. & RAMALINGAM, A. (1961): Experiments on the dispersion of *Lycopodium* and *Podaxis* spores in the air. *Annals of Applied Biology* **49**, 659-670.
- STEPANOV, K. M. (1935): Dissemination of infective diseases of plants by air currents. Bull. Pl. Prot. Leningrad, Ser. 2, Phytopathology, no. 8, 1-68.
- STOKEY, A. G., STARR, A. M. (1924): *Lycopodium* Prothallia in Western Massachusetts. *Botanical Gazette* **77** (1), 80-88.
- STONE, E. L., THORP, L. (1971): Lycopodium fairy rings: effect on soil nutrient release. Soil Science Society of America Proceedings 35, 991-997.
- STOOR, A. M. et al. (1996): Diphasiastrum oellgaardii (Lycopodiaceae, Pteridophyta), a new lycopod species from Central Europe and France. Feddes Repertorium -Journal of Botanical Taxonomy and Geobotany 107 (3-4), 149-157.
- SUNDBERG (2005): Larger capsules enhance short-range spore dispersal in *Sphagnum*, but what happens further away? *Oikos* **108**, 115-124.
- SUNDBERG, S. and RYDIN, H. (1998): Spore number in *Sphagnum* and its dependence on spore and capsule size. *Journal of Bryology* **20**, 1-16.
- TACKENBERG, O. (2003): Modeling long-distance dispersal of plant diaspores by wind. *Ecological Monographs* **73** (2), 173-189.

- TACKENBERG, O., POSCHLOD, P., BONN, S. (2003a): Assessment of wind dispersal potential in plant species. *Ecological Monographs* **73** (2), 191-205.
- TACKENBERG, O., POSCHLOD, P., KAHMEN, S. (2003b): Dandelion seed dispersal: the horizontal wind speed does not matter for long-distance dispersal – it is updraft! *Plant Biology* 5, 451-454.
- TAMM, C. O., HALLBÄCKEN, L. (1988): Changes in soil acidity in two forest areas with different acid deposition: 1920s to 1980s. *Ambio* **17** (1), 56-61.
- TESMER, J. & SCHNITTLER, M. (2007): Sedimentation velocity of myxomycete spores. Mycological Progress 6 (4), 229-234.
- THOMAS, D. W. (1975): Wild gametophytes of *Diphasium alpinum* (L.) Rothm. in North Wales. *Watsonia* **10** (3), 277-279.
- TREU, R., LAURSEN, G. A., STEPHENSON, S. L., LANDOLT, J. C., DENSMORE, R. (1996): Mycorrhizae from Denali National Park and Preserve, Alaska. *Mycorrhiza* 6, 21-29.
- ULRICH, B. (1981): Ökologische Gruppierung von Böden nach ihrem chemischen Bodenzustand. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 144 (3), 289-305.
- van SOEST, J. L. (1964): Estimation of the age of a fairy circle (*Lycopodium complanatum* L. var. *chamaecyparissus* (A. Br.) Döll). *Acta Botanica Neerlandica* **13**, 623.
- VOGEL, S. I., PIATKOWSKI, B. T., DOOLEY Jr., A. C. & POLI, D. (2011): The effects of fire on *Lycopodium digitatum* strobili. *Jeffersoniana* **27**, 1-9.
- Vos, P. et al. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23 (21), 4407-4414.
- WAGNER, J. & MACHER, J. (2012): Automated spore measurements using microscopy, image analysis, and peak recognition of near-monodisperse aerosols. *Aerosol Science and Technology* 46, 862-873.

- WAGNER, F. S. (1992): Cytological problems in Lycopodium sens. lat. Annals of the Missouri Botanical Garden **79** (3), 718-729.
- WAGNER Jr., W. H. & BEITEL, J. M. (1993): Lycopodiaceae Mirbel . In: Flora of North America Editorial Committee, eds. 1993+. Flora of North America North of Mexico. 16+ vols. Vol. 2. New York, Oxford: Oxford University Press, 18-37.
- WAGNER Jr., W. H., WAGNER, F. S., BEITEL, J. M. (1985): Evidence for interspecific hybridisation in pteridophytes with subterranean mycoparasitic gametophytes. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 86B, 273-281.
- WANNER, S. C., PUSCH, M. (2000): Use of fluorescently labeled Lycopodium spores as a tracer for suspended particles in a lowland river. Journal of the North American Benthological Society 19 (4), 648-658.
- WELLBROCK, N., BOLTE, A., FLESSA, H. (eds) (2016): Dynamik und räumliche Muster forstlicher Standorte in Deutschland: Ergebnisse der Bodenzustandserhebung im Wald 2006 bis 2008. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, *Thünen Report* 43, 550 Seiten.
- WHITTIER, D. P. (1964): The effect of sucrose on apogamy in *Cyrtomium falcatum* PRESL. *American Fern Journal* **54** (1), 20-25.
- WHITTIER, D. P. (1973): The effect of light and other factors on spore germination in Botrychium dissectum. Canadian Journal of Botany 51, 1791-1794.
- WHITTIER, D. P. (1977): Gametophytes of *Lycopodium obscurum* as grown in axenic culture. *Canadian Journal of Botany* **55**, 563-567.
- WHITTIER, D. P. (1981): Gametophytes of *Lycopodium digitatum* (formerly *L. complanatum* var. *flabelliforme*) as grown in axenic culture. *Botanical Gazette* 142 (4), 519-524.
- WHITTIER, D. P. (1998): Germination of spores of the Lycopodiaceae in axenic culture. *American Fern Journal* **88**, 106-113.
- WHITTIER, D. P. (2003): The gametophyte of *Diphasiastrum sitchense*. American Fern Journal **93**, 20-24.

- WHITTIER, D. P. (2008): Red Light Inhibition of Spore Germination in Lycopodium clavatum. American Fern Journal **98** (4), 194-198.
- WHITTIER, D. P. (2015): Delayed growth in mycoheterotrophic gametophytes of seedless vascular plants. *American Fern Journal* **105** (1), 1-10.
- WHITTIER, D. P. & BRITTON, D. M. (1995): Gametophytes of *Diphasiastrum* x *habereri*. *American Fern Journal* **85** (3), 89-94.
- WHITTIER, D. P. & STEEVES, T. A. (1960): The induction of apogamy in the bracken fern. *Canadian Journal of Botany* **38**, 925-930.
- WHITTIER, D. P. & WEBSTER, T. R. (1986): Gametophytes of *Lycopodium lucidulum* from axenic culture. *American Fern Journal* **76**, 48-55.
- WIKSTRÖM, N., KENRICK, P. (2000): Relationships of *Lycopodium* and *Lycopodiella* based on combined plastid rbcL gene and trnL intron sequence data. *Systematic Botany* **25** (3), 495-510.
- WINTHER, J. L. & FRIEDMAN, W. E. (2008): Arbuscular mycorrhizal associations in Lycopodiaceae. *New Phytologist* **177**, 790-801.
- WITTIG, R., JUNGMANN, R., BALLACH, H.-J. (2007): The extent of clonality in large stands of *Lycopodium annotinum* L. *Flora* **202**, 98-105.
- WOLFF B. & RIEK, W. (1997): Deutscher Waldbodenbericht 1996 Ergebnisse der bundesweiten Bodenzustandserhebung im Wald von 1987 – 1993 (BZE).
  Bundesministerium f
  ür Ern
  ährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn, 2 B
  ände, Stand 2007.
- XU, Y., DAI, X., CAO, J., WANG, Q. (2013): Spore Morphology of Pteridophytes from China XII. Lycopodiaceae. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica 33 (3), 501-506.
- YIN, X., MEICENHEIMER, R. D. (2017): The ontogeny, phyllotactic diversity, and discontinuous transitions of *Diphasiastrum digitatum* (Lycopodiaceae). *American Journal of Botany* **104** (1), 8-23.

- ZELENY, J. & MCKEEHAN, L. W. (1910): The terminal velocity of fall of small spheres in air. *The Physical Review* **30** (5), 535-560.
- ZHAO, Z. (2000): The arbuscular mycorrhizas of pteridophytes in Yunnan, southwest China: evolutionary interpretations. *Mycorrhiza* **10**, 145-149.
- ZIVCOVA, Z., GREGOROVA, E., PABST, W. (2007): Porous alumina ceramics produced with *Lycopodium* spores as pore-forming agents. *Journal of Materials Science* **42**, 8760-8764.

## Danksagung

Vor etwa drei Jahren begann ich meine Promotion am Botanischen Institut der Ernst-Moritz-Arndt-Universität in Greifswald unter fachlicher Betreuung durch Prof. Martin Schnittler. Er war es auch, der mich zu der Artengruppe der Flachbärlappe führte, mit der ich mich beginnend mit meiner Diplomarbeit beschäftigt habe. Außerdem bekräftigte er mich, eine Bewerbung um ein 36-monatiges Promotionsstipendium bei der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) zu unternehmen. Dieses Stipendium erhielt ich schließlich und konnte so, finanziell abgesichert, promovieren.

Dank gilt also erstmal meinem Betreuer Prof. Martin Schnittler, der sich immer viel Zeit für mich und meine fachlichen Fragestellungen nahm und mich so optimal durch die Promotionszeit begleitete. Auch in Fragen außerhalb der Promotion stand er mir immer hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite. Ebenso möchte ich mích bei Karsten Horn für das Sammeln und Bestimmen von Flachbärlappen bedanken, das ohne ihn als Experten dieser Artengruppe nicht in diesem Umfang möglich gewesen wäre.

Bedanken möchte ich mich ebenso bei meiner Betreuerin der DBU, Frau Dr. Hedda-Schlegel-Starmann. Sie hat durch die Kontrolle meiner jährlich anzufertigenden Berichte und die Betreuung von Seminaren, an denen ich teilnahm, den Stand und die Qualität meiner Arbeit überprüft und gab oft Tipps und Verbesserungsvorschläge.

Dank gilt ebenso den Vertretern der verschiedenen Naturschutz- und Forstbehörden Deutschlands, die mir unentgeltlich Ausnahmegehmigungen ausstellten und immer sehr interessiert an dem Fortschritt meiner Arbeit waren. Folgende Landkreise sollen stellvertretend genannt werden: GRZ, SLF (inkl. Landesforst), SON, SM, GR, BZ, VG, MSP. Außerdem unterstützte mich die Bundesforst auf einer meiner Versuchsflächen (GRZ). Auch den biologischen Stationen in Nordrhein-Westfalen gilt mein Dank, insbesondere für die Bereitstellung von Fundortdaten.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Studierenden, die mich bei meinen umfangreicheren Arbeiten im Gelände und Labor unterstützten und mir zum Teil auch Verbesserungsvorschläge lieferten. Dank gilt außerdem den Arbeitsgruppen um Frau Prof. Gabriele Uhl (Zoologie) und Frau Prof. Christine Stöhr (Pflanzenphysiologie) für die Vorstellung für mich neuer Methoden und die Bereitstellung von Geräten und Chemikalien. Bedanken möchte ich mich schließlich auch bei meiner Familie und meinen Freunden, die mich auch in schwierigeren Phasen gut unterstützt haben.

## A Probenverzeichnis

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
96	I1	х	D. issleri	17.09.2014	Thür. Schiefergeb.	westl. Ortsrand von Neuhaus a. R.	R. Kaufmann
97	I1	х	D. issleri	17.09.2014	Thür. Schiefergeb.	westl. Ortsrand von Neuhaus a. R.	R. Kaufmann
108	I2	х	D. issleri	18.09.2014	Thür. Schiefergeb.	500 m W Schieferbruch Lehesten	R. Kaufmann
109	I2	х	D. issleri	18.09.2014	Thür. Schiefergeb.	500 m W Schieferbruch Lehesten	R. Kaufmann
112	A1	х	D. alpinum	17.09.2014	Thür. Wald	2 km NW Schmiedefeld a. R.	R. Kaufmann
113	A1	х	D. alpinum	17.09.2014	Thür. Wald	2 km NW Schmiedefeld a. R.	R. Kaufmann
116		x	D. issleri	21.09.2014	Bay. Wald	1.4 km SW Haidmühle	K. Horn
117	I3	х	D. issleri	22.09.2014	Bay. Wald	Hirschenstein 4.5 km N Böbrach	K. Horn
118		х	D. issleri	23.09.2014	Bay. Wald	Mitterbach-Höhe Buchenau	K. Horn
119		x	D. issleri	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
120		x	D. issleri	23.09.2014	Bay. Wald	3 km SSW Schachenhaus	K. Horn
121		х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
122		х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
123	I4	х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
124		х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	S-Ufer Talsperre Frauenau	K. Horn
125		х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	O Schachtenhaus	K. Horn
126		х	D. issleri	25.09.2014	Bay. Wald	1.8 km WSW Gr. Rachel	K. Horn
127		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	3.1 km NNW Finsterau	K. Horn
128		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	2.1 km W Finsterau	K. Horn
129		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	Rindel-Berg 6 km WSW Finsterau	K. Horn
130	I5	х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	oberhalb Waldhäuser, östl. Ortsrand	K. Horn
131		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	1 km SW Altschönau	K. Horn
133		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NNW Neünschönau	K. Horn
134		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	1 km NNW Altschönau	K. Horn
135		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
136	I5	х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	oberhalb Waldhäuser, östl. Ortsrand	K. Horn
137		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	1 km SW Altschönau	K. Horn
138	I3	х	D. issleri	22.09.2014	Bay. Wald	Hirschenstein 4.5 km N Böbrach	K. Horn
139	I4	х	D. issleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
140		х	D. alpinum	22.09.2014	Bay. Wald	1.45 km NW Phillipsreuth	K. Horn
141	A2	х	D. alpinum	22.09.2014	Bay. Wald	Hirschenstein 4.5 km N Böbrach	K. Horn
142	A3	х	D. alpinum	23.09.2014	Bay. Wald	Gfälleiruck	K. Horn
143		х	D. alpinum	23.09.2014	Bay. Wald	1.3 km N Schachtenhaus	K. Horn
144	A4	х	D. alpinum	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
145		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	ca. 4 km N Schachten-Diensthütte	K. Horn
146	A5	х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	östl. Ende Talsperre Frauenau	K. Horn
147		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
148		x	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
149		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
150		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	S-Ufer Talsperre Frauenau	K. Horn
151		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	O Schachtenhaus	K. Horn
152		х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	600 m NO Enzianfilz	K. Horn
153		х	D. alpinum	25.09.2014	Bay. Wald	300 m WSW Ruckenwies, N Gr.	K. Horn
154		x	D. alpinum	25.09.2014	Bay. Wald	300 m WSW Ruckenwies, N Gr.	K. Horn
155		х	D. alpinum	25.09.2014	Bay. Wald	1 km N Ruckenwies, N Gr. Falkenstein	K. Horn
156		x	D. alpinum	25.09.2014	Bay. Wald	1.3 km NW Althütte, S Frauenau	K. Horn
157		х	D. alpinum	25.09.2014	Bay. Wald	1.3 km NW Althütte, S Frauenau	K. Horn
158		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	3.1 km NNW Finsterau	K. Horn
159		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	2.1 km W Finsterau	K. Horn
160	A2	х	D. alpinum	22.09.2014	Bay. Wald	Hirschenstein 4.5 km N Böbrach	K. Horn
161	A3	х	D. alpinum	23.09.2014	Bay. Wald	Gfälleiruck	K. Horn
162	A4	х	D. alpinum	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
163	A5	х	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	östl. Ende Talsperre Frauenau	K. Horn
164		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	1.1 km WSW Mauth	K. Horn
165		x	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	1 km SW Altschönau	K. Horn
166		x	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NNW Neünschönau	K. Horn
167		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	1 km NNW Altschönau	K. Horn
168		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
169		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
170		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	750 m S Rachelsee	K. Horn
171		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	600 m NNO Neuhütte, N Spiegelau	K. Horn
172		х	D. alpinum	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand Spiegelau	K. Horn
173	A6	х	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gipfel des Gr. Arber	K. Horn
174		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
175	A7	х	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 100 m W Zwieseler Hütte	K. Horn
176		х	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 200 m SW Zwieseler	K. Horn
177	A8	x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 200 m SW Zwieseler	K. Horn
178		x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, Drosselhänge	K. Horn
179		x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 500 m S Talstation Skilift	K. Horn
180		х	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Drosselhänge, ca. 120 m S Talstation	K. Horn
181	A9	x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Drosselhänge, ca. 120 m S Talstation	K. Horn
182		x	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NE Riedlhütte	K. Horn
183		х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	1.2 km N Riedlhütte	K. Horn
184	A6	x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gipfel des Gr. Arber	K. Horn
185	A7	х	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 100 m W Zwieseler Hütte	K. Horn
186	A8	x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Gr. Arber, 200 m SW Zwieseler	K. Horn
187	A9	x	D. alpinum	28.09.2014	Bay. Wald	Drosselhänge, 120 m S Talstation Skilift	K. Horn
188	I6	х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	600 m NNO Neuhütte, N Spiegelau	K. Horn
189	I6	х	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	600 m NNO Neuhütte, N Spiegelau	K. Horn
190		x	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand von Spiegelau	K. Horn
191		x	D. issleri	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand Spiegelau	K. Horn
192	I7	x	D. issleri	17.09.2014	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	<u>R. Kaufmann</u>
193	I7	х	D. issleri	17.09.2014	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann
196		x	D. alpinum	17.09.2014	Thür. Schiefergeb.	westl. Ortsrand von Neuhaus a. R.	R. Kaufmann
197		x	D. alpinum	17.09.2014	Thür. Schiefergeb.	1 km S Pumpspeicherwerk Goldisthal	R. Kaufmann
200	C1	x	D. complanatum	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
201	C1	x	D. complanatum	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
202		x	D. complanatum	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
203		x	D. complanatum	24.09.2014	Bay. Wald	O Schachtenhaus	K. Horn
204		x	D. complanatum	23.09.2014	Bay. Wald	500 m OSO Spiegelhütte	K. Horn
205		х	D. complanatum	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
206	01	x	D. oellgaardii	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
207	01	x	D. oellgaardii	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K. Horn
208		x	D. oellgaardii	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand von Spiegelau	K. Horn
209		x	D. oellgaardii	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
210		x	D. oellgaardii	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
211		x	D. oellgaardii	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NO Riedlhütte	K. Horn
212	T1	x	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	1 km SW Altschönau	K. Horn
213	T1	x	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	1 km SW Altschönau	K. Horn
214		x	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	2.1 km W Finsterau	K. Horn
215	ļ	х	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand von Spiegelau	K. Horn
216		x	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NE Riedlhütte	K. Horn
217		x	D. tristachyum	26.09.2014	Bay. Wald	nördl. Ortsrand Spiegelau	K. Horn
218	Zl	x	D. zeilleri	26.09.2014	Bay. Wald	2.1 km W Finsterau	K. Horn
219	Z1	x	D. zeilleri	26.09.2014	Bay. Wald	2.1 km W Finsterau	K. Horn
220		x	D. zeilleri	26.09.2014	Bay. Wald	nordi. Ortsrand Spiegelau	K. Horn
221		x	D. zeilleri	26.09.2014	Bay. Wald	INLY-Zentrum Bay, Wald	K. Horn
222		x	D. zeuteri	20.09.2014	Bay Wald	nördl Orterand von Spiegelen	K Horn
223	C2	A V	D. complanatur	11 10 2015	Thiir Schiefergeb	1 km NO Lichtenhain	R Kaufmann
	L C2	^	D. computatium	11.10.2013	rnar. Semerergeb.	· an ito Liendinani	is. isaumann

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
225	C2	х	D. complanatum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
226	T2	х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
227	T2	х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
228		х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
229		х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1,1 km SW Brennersgrün	R. Kaufmann
230	T3	х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1,1 km SW Brennersgrün	R. Kaufmann
231	T3	х	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1,1 km SW Brennersgrün	R. Kaufmann
232		x	D. tristachyum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	1,1 km SW Brennersgrün	R. Kaufmann
233	A10	х	D. alpinum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	800 m SW Brennersgrün	R. Kaufmann
234	A10	x	D. alpinum	11.10.2015	Thür. Schiefergeb.	800 m SW Brennersgrün	R. Kaufmann
235	A11	x	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	600 m NO Enzianfilz	K. Horn
236	A11	x	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	600 m NO Enzianfilz	K. Horn
237	A12	x	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	4 km N Schachten-Diensthütte	K. Horn
238	A12	x	D. alpinum	24.09.2014	Bay. Wald	4 km N Schachten-Diensthütte	K. Horn
239	A13	х	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
240	A13	х	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
241	A14	х	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
242	A14	x	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
243	<u> </u>	х	D. alpinum	10.10.2015	Harz	Brocken NW Schierke	K. Horn
244		x	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Kleiner Brocken NW Schierke	K. Horn
245		x	D. alpinum	08.10.2015	Harz	Kleiner Brocken NW Schierke	K. Horn
246		x	D. alpinum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
247		x	D. alpinum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
248		x	D. alpinum	11.10.2015	Thür, Schiefergeb.	800 m SW Brennersgrün	R. Kaufmann
249		x	D. alpinum	11.10.2015	Thür, Schiefergeb.	800 m SW Brennersgrün	R. Kaufmann
250	C3	x	D complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
251	C3	x	D. complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
251	C4	x	D. complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
253	C4	x	D. complanatum	09.10.2015	Thür, Schiefergeb.	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R. Kaufmann
254	0.	x	D. complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
255		x	D. complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
256		x	D complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
257	C5	x	D complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
258	C5	x	D complanatum	09.10.2015	Thür Schiefergeb	Pöllwitzer Wald 1 km NW Wellsdorf	R Kaufmann
259	A15	x	D alpinum	10 10 2015	Harz	Brocken NW Schierke	K Horn
260	A15	x	D. alpinum	10.10.2015	Harz	Brocken NW Schierke	K. Horn
261		x	D. alpinum	10 10 2015	Harz	Großer Winterberg WSW Schierke	K Horn
262		x	D complanatum	08 10 2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasherg	K Horn
262		x	D. complanatum	08 10 2015	Harz	SSW Schierke	K Horn
264		x	D. complanatum	10 10 2015	Harz	Renneckenberg	K Horn
265	C6	x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
266	C6	x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
267		x	D, complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
268		x	D, complanatum	10.10.2015	Harz	Renneckenberg	K. Horn
269		x	D, complanatum	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasherg	K. Horn
270	1	x	D, complanatum	08.10.2015	Harz	O Eckerstausee SSE Bad Harzburg	K. Horn
271	1	x	D. complanatum	07 10 2015	Harz	NVA-Schießplatz Tanne	K. Horn
272	C7	x	D. complanatum	25 09 2014	Bay Wald	1.3 km NW Althütte S Frauenau	K. Horn
273	C7	x	D. complanatum	25.09.2014	Bay Wald	1.3 km NW Althütte S Frauenau	K. Horn
274		x	D. AAC	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NO Riedlhütte	K. Horn
275	02	v	D collogardii	26.09.2014	Bay Wald	2.1 km W Finsterau	K Horn
275	02	A V	D. oellaardii	26.09.2014	Bay Wald	2.1 km W Finsterau 600 m	K Horn
270	72	x	D. zoillori	26.09.2014	Bay. Wald	4 km NW Altschönau	K Horn
278	72	v	D zoillori	26.09.2014	Bay Wald	4 km NW Altschönau	K Horn
279		A X	D complanatum	26.09.2014	Bay Wald	2.1 km W Finsterau	K Horn
280		x	D. complanatum	26.09.2014	Bay. Wald	2 km NE Riedlhütte	K. Horn
281	73	x	D zeilleri	26.09.2014	Bay Wald	2 km NE Riedlhütte	K. Horn
201	73	v	D zeilleri	26.09.2014	Bay Wold	2 km NE Riedlhütte	K Horn
202	23	^	D. Someri	20.07.2014	Day. Wald	2 ALL TAL RECONDUCE	<u>11. 110111</u>

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
283		х	D. zeilleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
284		х	D. zeilleri	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
285		х	D. tristachyum	24.09.2014	Bay. Wald	Trinkwasserspeicher Frauenau, S-Ufer	K. Horn
286	Z4	х	D. zeilleri	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
287	Z4	х	D. zeilleri	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
288		х	D. zeilleri	21.09.2014	Bay. Wald	800 m NO Maign, bei Eging a. See	K. Horn
289	T4	х	D. tristachyum	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
290	T4	х	D. tristachyum	23.09.2014	Bay. Wald	2.1 km SSW Schachtenhaus	K. Horn
291	A16	х	D. alpinum	05.07.2014	Österreich / Dtl.	Kleinwalsertal, 500 m N Fellhorn	M. Schnittler
292	A16	х	D. alpinum	05.07.2014	Österreich / Dtl.	Kleinwalsertal, 500 m N Fellhorn	M. Schnittler
293		х	D. alpinum	06.07.2014	Österreich	Kleinwalsertal, 1 km S Starzeljoch	K. Horn
294		х	D. complanatum	07.10.1015	Harz	N Schierke	K. Horn
295		х	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
296	18	х	D. issleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
297	18	х	D. issleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
298		х	D. issleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
299		х	D. issleri	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
300		х	D. issleri	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
301		х	D. oellgaardii	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
302		х	D. alpinum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
303		х	D. alpinum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
304		х	D. alpinum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
305		х	D. alpinum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
306		х	D. alpinum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
307		х	D. alpinum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
308		х	D. alpinum	04.09.2015	Österreich	Mittleres Rofental SW Vent	K. Horn
309		х	D. alpinum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
310		х	D. alpinum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
311		х	D. alpinum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
312	C8	x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
313	C8	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
314	C9	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
315	C9	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
316	C10	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
317	C10	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
318		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
319		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
320		х	D. alpinum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
321		х	D. alpinum	04.09.2015	Österreich	Mittleres Rofental SW Vent	K. Horn
322	C11	х	D. complanatum	07.10.1015	Harz	N Schierke	K. Horn
323	C11	х	D. complanatum	07.10.1015	Harz	N Schierke	K. Horn
324		х	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
325		х	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
326	A17	х	D. alpinum	08.11.2015	Bay. Wald	nördlich Weidhütte	K. Horn
327	A17	х	D. alpinum	08.11.2015	Bay. Wald	nördlich Weidhütte	K. Horn
328		х	D. issleri	08.11.2015	Bay. Wald	Mitter-Berg NO Neuschönau	K. Horn
329	C12	х	D. complanatum	08.10.2015	Harz	Kleiner Brocken NW Schierke	K. Horn
330	C12	х	D. complanatum	08.10.2015	Harz	Kleiner Brocken NW Schierke	K. Horn
331		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	Renneckenberg	K. Horn
332		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
333		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
334	<i>a</i> :2	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	Großer Winterberg WSW Schierke	K. Horn
335	C13	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
336	C13	x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
35/		x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Honnekopi NW Drei Annen Hohne	K. Horn
338		x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Amer Hohne	K. Horn
240		X	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Honnekopi NW Drei Annen Honne	K. Horn
540	1	х	D. complanatum	09.10.2015	Harz	HOMMEKOPT IN W LITEL ANNEN HOMME	K. Horn

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
341		x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
342		х	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
343		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
344		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
345	C14	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
346	C14	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
347		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
348	C15	х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
349	C15	x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
350		х	D. zeilleri	10.10.2015	Harz	WNW Schierke	K. Horn
351	Z5	х	D. zeilleri	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
352	Z5	х	D. zeilleri	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
353		х	D. zeilleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
354	Z6	х	D. zeilleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
355	Z6	х	D. zeilleri	08.10.2015	Harz	Gr. Sonnen-Berg N St. Andreasberg	K. Horn
356	T5	х	D. tristachyum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
357	T5	х	D. tristachyum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
358		х	D. tristachyum	08.10.2015	Harz	SSW Schierke	K. Horn
359		x	D. tristachyum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
360		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
361		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
362		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
363		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
364		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
365		x	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
366		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
367		х	D. complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
368		x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
369	C16	x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
370	C16	x	D. complanatum	09.10.2015	Harz	Hohnekopf NW Drei Annen Hohne	K. Horn
371	C17	х	D. complanatum	08.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
372	C17	x	D. complanatum	08.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
373		x	D. complanatum	08.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
374		x	D. complanatum	08.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
375		x	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
376		x	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
377		x	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
378		x	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
379		x	D. complanatum	07.10.2015	Harz	NW Schierke	K. Horn
478	C18	x	D.complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
479	C18	x	D.complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
480	C19	x	D.complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
481	C19	х	D.complanatum	10.10.2015	Harz	NW des Wurmbergs W Schierke	K. Horn
482	C20	х	D.complanatum	17.08.2016	Süd-Finnland	Somerniemi	R. Kaufmann
483	C20	x	D.complanatum	17.08.2016	Süd-Finnland	Somerniemi	R. Kaufmann
484	C21	x	D.complanatum	16.08.2016	Süd-Finnland	Jämijärvi	R. Kaufmann
485	C21	х	D.complanatum	16.08.2016	Süd-Finnland	Jämijärvi	R. Kaufmann
486			D. tristachyum	16.08.2016	Süd-Finnland	Jämijärvi	R. Kaufmann
487			D. zeilleri	14.08.2016	Süd-Finnland	Ilosjoki	R. Kaufmann
488			D. complanatum	14.08.2016	Süd-Finnland	Petäjäkylä	R. Kaufmann
489		x	D. issleri	<u>13.11.2016</u>	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
490		x	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
491	19	x	D. issleri	<u>13.11.2016</u>	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
492	I10	х	D. issleri	<u>13.11.2016</u>	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
493	I11	х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	K. Kautmann
494		х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	K. Kautmann
495	1	х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	<u>R. Kaufmann</u>

Labor- Nr.	Wdh.	AFLP- Profil	Art (wiss.)	Sammeldatum	Region	Fundort	l <u>eg./det.</u>
496		х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
497			D. alpinum	23.09.2016	Thür. Wald	2 km NW Schmiedefeld a. R.	R. Kaufmann
498			D. complanatum	23.09.2016	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann
499			D. alpinum	23.09.2016	Thür. Wald	2 km NW Schmiedefeld a. R.	R. Kaufmann
500			D. tristachyum	23.09.2016	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann
501			D. tristachyum	23.09.2016	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann
502	19	х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
503	19	x	D. issleri	<u>13.11.2016</u>	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
504	I10	х	D. issleri	<u>13.11.2016</u>	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
505	I11	х	D. issleri	13.11.2016	Thür. Schiefergebirge	Steinheid	R. Kaufmann
506		x	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
507		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
508		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
509		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
510		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
511		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
512		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
513		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
514		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
515		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
516		x	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
517		х	D. zeilleri	24.10.2016	Norddt. Tiefland	Wokuhl	R. Kaufmann
518			D. zeilleri	<u>11.10.2015</u>	Thür. Schiefergebirge	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
519			D. zeilleri	<u>11.10.2015</u>	Thür. Schiefergebirge	1 km NO Lichtenhain	R. Kaufmann
520			D. tristachyum	14.08.2016	Litauen		K. Horn
521			D. tristachyum	14.08.2016	Litauen		K. Horn
522			D. tristachyum	14.08.2016	Litauen		K. Horn
523			D. tristachyum	14.08.2016	Litauen		K. Horn
524			D. complanatum	23.09.2016	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann
525			D. complanatum	23.09.2016	Thür. Wald	1,5 km SW Oberhof	R. Kaufmann

## B Geräte und Software

Gerät	Hersteller
ABI Prism 310 Genetic Analyzer	ABI
Autoklav VWR Vapourline 80	VWR International GmbH
Brenner	
Consort E385 300V-500mA Electrophoresis Power Supply	Consort
Dunkelhaube: Biostep DH-30/32	Biostep
Feinwaage Sartorius TE 313 S	Sartorius
Kammer für die Gelelektrophorese	Thermo Fisher
GPS-Gerät Garmin etrex 10	Garmin
Heizblock VLM LS 1	VLM
Heizplatte yellow line MSH basic	yellow line
Kamera Canon PowerShot SX500 IS	Canon
Kamera Olympus NOC-5050 Zoom	Olympus
Mikrowelle Sharp R-234	Sharp
Mini-Vortexer Vortex Genie 2	Scientific Industries
ThermoCell Mixing Block MB 102	Alpha Laboratories
pH-Meter	Schott
pH-Meter WTW pH315i	Zeller
Schüttler Edmund Bühler KM-2	Edmund Bühler
Schwingmühle Retsch MM 301	Retsch
Sicherheitswerkbank	
Stereomikroskop Stemi SV6	Carl Zeiss
Thermocycler "Mastercycler"	Eppendorf
Transilluminator White Light WST-30-8P	BioView

Gerät	Hersteller
Vakuum-Zentrifuge CHRIST RVC 2-18	Martin Christ
Waage GT-KSg-04	Globatronics
Zentrifuge "Biofuge Pico"	Heraeus
Zentrifuge 5417 C	Eppendorf
Zentrifuge 5417 R	Eppendorf

Software	Hersteller
Argus X1 V.2	Argus
GeneMapper 5.0	Life Technologies
Microsoft Office 2010	Microsoft
Software für ABI Prism 310 Genetic Analyzer	GeneScan

# C Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Agar	
Agarose	AppliChem
Ammoniumchlorid	
ATP (10mM)	NEB
Blaupuffer (2x) aus Xylencyanol und Bromphenolblau	Merck bzw. AppliChem
Borsäure	
Calciumchlorid	
Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)	AppliChem
Chloroform/Isoamylalkohol (24:1)	AppliChem
Cobaltsulfatheptahydrat	
dd H <sub>2</sub> O	AppliChem
Dikaliumhydrogenphosphat	
dNTPs (10mM)	Bioline
EcoRI (20 U/µl)	Microsynth
EcoRI-Adaptor (5 µM)	Microsynth
EcoRI-Primer	Microsynth
Eisen-EDTA	
Ethanol (70%)	Roth
Ethidiumbromid	
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Acros Organics
Gene Scan 500-LIZ Size Standard	Applied Biosystems
Glucose	
Hi-Di Formamid	Fermentas

Chemikalie	Hersteller
Isopropanol	Roth
Kaliumchlorid (KCl)	Roth
Kupfersulfat	
Magnesiumsulfat (MgSO <sub>4</sub> 25mM)	Roth
Magnesiumsulfatheptahydrat	
Manganchloridtetrahydrat	
Mercaptoethanol	Merck
Natriumchlorid (NaCl)	Roth
12% Natriumhypochlorit-Lösung	
Natriummolybdat	
NH <sub>4</sub> Cl-Puffer (10x) aus NH <sub>4</sub> Cl und Tris	Roth bzw. AppliChem
Phenol	
Polymer POP4 (für ABI Prism 310))	Life Technologies
Polysorbat (Tween) 20	
Polyvinvlpyrrolidon (PVP)	AppliChem
RNase (20mg/ml)	AppliChem
Salzsäure (HCl 33%)	Roth
T4-Ligase (200 CEU/µl)	Fermentas
T4-Ligase-Puffer (10x)	Fermentas
TAE-Puffer	
Tango-Puffer (10x)	Fermentas
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl)	Molzym
TE-Puffer	
Tris(hydroxylmethyl)-aminomethan (TRIS)	AppliChem

Chemikalie	Hersteller
VspI (10 U/µl)	Fermentas
VspI-Adaptor (50µM)	Microsynth
VspI-Primer	Microsynth
Zinksulfatheptahydrat	
λHindIII-Standard	Fermentas