Genetische und morphologische Differenzierung der endemischen Grasart *Deschampsia littoralis* (GAUDIN) REUT. – Wie verschieden sind die Populationen am Bodensee und am Lac de Joux im Vergleich zu *D. cespitosa* (L.) P. BEAUV.?

Markus Peintinger, Nils Arrigo, Sabine Brodbeck, Andreas Koller, Martina Imsand
und Rolf Holderegger

November 2010

Autoren

Dr. Markus Peintinger

Arbeitsgruppe Bodenseeufer (AGBU)

Güttinger Strasse 8/1

D-78315 Radolfzell

E-mail: peinti@t-online.de

Dr. Nils Arrigo

Institut de Botanique, Université de Neuchâtel

Rue-Emilie-Argand 11

CH-2009 Neuchâtel

E-mail: nils.arrigo@unine.ch

Sabine Brodbeck, Andreas Koller, Martina Imsand und Prof. Dr. Rolf Holderegger

WSL Eidgenössische Forschungsanstalt

Zücherstrasse 111

CH-8903 Birmensdorf

E-mail: rolf.holderegger@wsl.ch

Titelfoto: *Deschampsia littoralis*, Bodensee-Obersee, Landschlacht 25.6.2003 (M. Dienst)

mit finanzieller Unterstützung

vom Amt für Raumplanung des Kantons Thurgau, Frauenfeld

Inhalt

0 Kurzfassung 5

1 Einleitung 8

2 Deschampsia cespitosa-Gruppe.....9

3 Material und Methode 10

3.1 Probenahme im Gelände 10

3.2 Genetische Untersuchungen (AFLPs) 11

3.3 Morphologische Untersuchungen 11

4 Ergebnisse 12

4.1 Genetische Untersuchungen (AFLPs)..... 12

4.2 Morphologie..... 12

5 Diskussion.....13

5.1 Variabilität innerhalb der Arten 14

5.2 Naturschutz-Aspekte 15

6 Dank 15

7 Literatur.....16

8 Anhang (Tabellen und Abbildungen) 19

Abbildungen

Abbildung 1. *Deschampsia littoralis* mit pseudoviviparer Rispe (Foto: M. Dienst, Bodensee, Konstanz-Hörnle, 16. Juli 2006). 7

Abbildung 2. Wuchsort von *Deschampsia littoralis* am Westufer des Lac de Joux (Les Esserts-de-Rive, 31.8.2010) und östlich Konstanz (Bodensee-Überlinger See, 8.9.2005, Fotos: M. Dienst). 22

Abbildung 3. Differenzierung der drei untersuchten Taxa entlang der ersten drei Achsen der Hauptkoordinaten-Analyse (PCO). Quadrate: *Deschampsia cespitosa*; Kreise: *D. littoralis* Bodensee; Dreiecke: *D. littoralis* Lac de Joux and Lac de Brenet. 23

Abbildung 4. Blattquerschnitt von *Deschampsia littoralis* (Lac de Brenet, Handschnitt). Deutlich erkennbar sind die Papillen auf der Blattoberseite (durch Pfeil gekennzeichnet). 24

Abbildung 5. Rasterelektronen-Bilder (aus ZILTENER 1998) von Deschampsia littoralis (Bodensee-Reichenau: oben links: Blattunterseite oben rechts Blattoberseite mit Papillen), von D. cespitosa (Allensbach: mittlere Reihe: Blattunterseite mit Stachelhaaren) und D. littoralis (Lac de Joux, Herbar-Material Z/ZT: unten links: Blattunterseite mit einzelnen Stachelhaare, unten rechts: Blattoberseite mit Papillen). Die fädigen Strukturen bei den Pflanzen von Lac de Joux sind Verunreinigungen der Herbarpflanzen. 25

Tabellen

Tabelle 1. Chromosomenzahlen von *Deschampsia littoralis*. 19

Tabelle 2. Merkmale zur Unterscheidung von *Deschampsia littoralis* und *D. cespitosa* (nach CONERT 1998). 19

Tabelle 3. Nummer, Sammelort und Anzahl beprobter Pflanzen (N) der untersuchten Populationen von *Deschampsia littoralis* und *D. cespitosa*. 20

Tabelle 4. Für die selektive PCR verwendete Primer. Die drei zusätzlichen Basen des selektiven PCRs sind in fett-kursiver Schrift angegeben. 21

Tabelle 5. Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) der AFLP-Daten mit zwei hierarchischen Ebenen: zwischen und innerhalb der drei Taxa (*D. littoralis* Bodensee, *D. littoralis* Lac de Joux und Lac de Brenet und *D. cespitosa*). 21

0 Kurzfassung

Die Gattung *Deschampsia* ist aufgrund fehlender diagnostischer Merkmale eine systematisch schwierige Pflanzen-Gattung; besonders in der *D. cespitosa*-Gruppe ist die Abgrenzung der Arten schwierig. Neben der weit verbreiteten diploiden Rasen-Schmiele (*Deschampsia cespitosa*) sind an den Ufern von Voralpen-Seen weitere Sippen beschrieben. Diese sind – soweit bekannt – tetraploid und neben *D. alpina*, die in Nordeuropa verbreitet ist, die einzigen Sippen mit diesem Chromosomensatz. Die Sippe vom Genfer See wurde als *Deschampsia littoralis*, die vom Bodensee später als *D. rhenana* beschrieben. *Deschampsia littoralis* ist am Genfer See wahrscheinlich seit der Wasserstands-Regulierung ausgestorben und kommt heute noch an den Seen im Schweizer Jura vor (Vallée de Joux: Lac de Joux und Lac Brenet). *Deschampsia rhenana* ist gekennzeichnet durch die pseudoviviparen Blütenstände. Pseudoviviparie ist eine spezielle Form der vegetativen Vermehrung, bei der die Ährchenachse zu eigenständigen Pfanzen auswachsen („Vergrünung"). Diese fallen auf den Boden, wurzeln und wachsen zu eigenständigen Pflanzen heran.

In neuer Zeit wurde *D. rhenana* als Synonym von *D. littoralis* aufgefasst, weil sich beide Taxa bezüglich Blattanatomie und -morphologie kaum unterscheiden und Pseudoviviparie als Unterscheidungsmerkmal wenig geeignet erscheint. Der Anteil pseudoviviparer Pflanzen kann, wie das Beispiel des Alpen-Rispengrases (*Poa alpina*) zeigt, stark zwischen den Populationen variieren und hängt zudem von den herrschenden Umweltbedingungen ab.

In dieser Arbeit benutzen wir molekularbiologische Methoden, um die Verwandtschaft der einzelnen Sippen näher zu klären. Ergänzend wurde die Blattanatomie untersucht, um die in der Literatur beschriebenen und diagnostisch wertvollen Merkmale zu überprüfen. Insbesondere gingen wir der Frage nach, wie stark *Deschampsia littoralis* und *D. cespitosa* differenziert sind, und ob die Pflanzen von *D. littoralis* am Lac de Joux und Lac de Brenet tatsächlich zur selben Art gehören wie die Pflanzen vom Bodensee.

Insgesamt wurden 102 Pflanzen aus zehn Populationen untersucht. Dabei wurden drei Gruppen unterschieden: 1. *Deschampsia littoralis* vom Bodensee (drei Populationen), 2. *Deschampsia littoralis* vom Lac de Joux (vier Populationen vom Lac de Joux inkl. eine vom Lac Brenet) und 3. *D. cespitosa* (drei Populationen in Kantonen Zürich, Jura und Waadt).

Es wurden AFLP-Fingerprintings (Amplified Fragment Length Polymorphism) erstellt, um die Arten molekulargenetisch zu untersuchen. Diese Methode hat den Vorteil, dass unspezifische, aber sehr variable Marker benutzt werden. Das Sequenzieren der Kern- und

Chloroplasten-DNA, führt hingegen bei nah verwandeten Arten nicht zu befriedigendenen Ergebnissen, weil die Marker deutlich weniger variabel sind.
Anhand der Bandenmuster, die durch die AFLPs erhalten wurden, liessen sich Ähnlichkeiten zwischen untersuchten Pflanzen berechnen. Mit Hilfe der Molekularen Varianzanalyse wurde analysiert, wieviel der gesamten gefundenen genetischen Variabilität durch die drei taxonomischen Gruppen bzw. auf Variabilität auf der Individiuen-Ebene erklärt werden kann. Zusätzlich wurden in der Hauptkorrelationsanalyse (PCO) die einzelnen Individuen in einer grafischen Darstellung nach Ähnlichkeit in einem dreidimensionalen Raum angeordnet, um eine genetische Differenzierung erkennen zu können. Ergänzend wurden die Blattanatomie und -morphologie untersucht (Blattquerschnitte von Hand und Epidermis-Abzüge).
Von den 102 untersuchten Pflanzen war keine genetisch identisch mit einer anderen, d.h. keine der gesammelten Pflanzen ging aus vegetativer Vermehrung einer anderen Pflanzenprobe hervor. Pseudoviviparie hat also am Bodensee nicht zu einem höheren Grad an Klonalität geführt, wie dies beim Vorherrschen dieser Form der vegetativen Vermehrung zu erwarten wäre. Die Analyse der Molekularen Varianz (AMOVA) hat gezeigt, dass nur 14 % der insgesamt festgestellten genetischen Varianz auf Unterschiede zwischen den drei untersuchten taxonomischen Gruppen beruhten. Dies belegt die nahe Verwandtschaft der Taxa. Die PCO zeigte, *dass D. littoralis* am Bodensee und *D. cespitosa* gut getrennte Gruppen waren, auch wenn einzelne Pflanzen der beiden Taxa sich genetisch recht ähnlich waren. Die Pflanzen von *D. littoralis* vom Lac de Joux standen zwischen *D. cespitosa* und *D. littoralis* vom Bodensee.
Die genetische Vielfalt (mittlere Anzahl Banden alle Marker) der tetraploiden Art *D. littoralis* war ähnlich hoch wie die von der diploiden *D. cespitosa*.
Morphologisch war *Deschampsia littoralis* gekennzeichnet durch Papillen auf der Blattoberseite und das Fehlen von Stachelhaaren auf der Blattunterseite. Im Gegensatz wies *D. cespitosa* keine Papillen auf der Oberseite, aber dafür viele Stachelhaare auf der Blattunterseite auf. Die Pflanzen von *D. littoralis* von Lac de Joux standen in der Blattanatomie dazwischen, d.h. auf der Blattoberseite befanden sich Papillen und auf der Unterseite Stachelhaare, jedoch deutlich weniger als bei *D. cespitosa*.
Für die genetische wie morphologisch intermediäre Stellung von *D. littoralis* vom Lac de Joux zwischen *D. littoralis* vom Bodensee und *D. cespitosa* gibt es zwei mögliche Erklärungen.

1. Die tetraploiden Pflanzen am Lac de Joux sind unabhängig voneinander durch Polyploidisieren entstanden, d.h. beide Sippen sind nicht monophyletisch (lassen sich also nicht aus einen gemeinsamen Vorfahren zurückführen).

2. Die *Deschampsia littoralis*-Pflanzen vom Lac de Joux und vom Bodensee gehörten ursprünglich zur selben Art. Durch postglaziale Introgression (Einkreuzung von Genen aus ursrpünglich getrennten Arten) oder durch aktuelle Hybridisierung mit *D. cespitosa* entstanden dann später intermediäre Formen.

Die Untersuchung hat gezeigt, dass die Pflanzen von *D. littoralis* vom Bodensee genetisch eine gewisse „Eigenständigkeit" aufweisen, was auch durch das Auftreten von Pseudoviviparie zum Ausdruck kommt. *D. littoralis* vom Lac de Joux hingegen ist unabhängig von ihrer Entstehung eine evolutionsbiologisch interessante Sippe, die es zum Schutz der genetischen Vielfalt zu erhalten gilt.

Abbildung 1. *Deschampsia littoralis* mit pseudoviviparer Rispe (Foto: M. Dienst, Bodensee, Konstanz-Hörnle, 16. Juli 2006).

1 Einleitung

Die Gattung *Deschampsia* ist weitgehend holarktisch-zirkumpolar verbreitet und umfasst weltweit rund 40 Arten (CHIAPELLA 2000). Dazu gehört mit *D. antartica* E. DESV. auch die einzige in der Antarktis vorkommende Grasart. Das Areal einiger Arten reicht in der Nordhemisphäre jedoch bis in mediterrane Regionen.

Die Systematik der Gattung *Deschampsia* bereitet Schwierigkeiten, weil einerseits die Abgrenzung der Gattung selbst umstritten ist, andererseits viele Sippen morphologisch wenig differenziert sind. Molekular-systematische und karyologische Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass *D. flexuosa* (L.) TRIN und nah verwandte Arten besser als eigene Gattung *Avenella* gefasst werden und die Gattung *Deschampsia* damit enger umgrenzt wird (GARCIA-SUAREZ et al. 1997; CHIAPELLA 2007). Für viele Sippen – vor allem aus der *D. cespitosa*-Gruppe – ist eine Abgrenzung der Arten aber nach wie vor schwierig (CHIAPELLA 2000; CHIAPELLA & PROBATOV 2003).

Innerhalb der Gattung überwiegen diploide Sippen (aktuelle Zusammenstellung der Chromosomenzahlen in CARDONE et al. 2009). Tetraploide Sippen sind jedoch auch bekannt, in Europa vor allem in der *D. cespitosa*-Gruppe (NYGREN 1949; HEDBERG, 1958; ALBERS 1980a,b). Sie sind oft pseudovivipar, d.h. die Ährchenachse der Blütenstände wächst zu einer eigenständigen Pflanze aus (BELL 1991). Diese Form der vegetativen Vermehrung wird häufig als Anpassung an harte Umweltbedingungen angesehen (LEE & HARMER 1980). Aus den Alpen sind zwei tetraploide Sippen beschrieben, die an präalpinen Seen nördlich der Alpen vorkommen. GAUDIN (1828) hat erstmals *D. littoralis* als *Aira cespitosa* β *littoralis* vom Genfer See beschrieben. GREMLI (1874) erhebt die Sippe vom Bodensee in den Artrang und beschreibt sie als *D. rhenana*, bei der auch triploide und aneuploide Chromosomenzahlen gefunden worden (ALBERS 1978; Tab. 1). Ein Kennzeichen der Bodensee-Sippe ist das Auftreten von Pseudoviviparie (Abb. 1), was am Genfersee nie beobachtet wurde. HESS et al. (1967) und später CONERT (1998) vereinigten die Sippen schliesslich wieder zu *D. littoralis*, was von den späteren Floren oder Checklisten übernommen wurde (LAUBER & WAGNER 1996; WISSKIRCHEN & SCHÖNFELDER 1998; FISCHER et al. 2005). CONERT (1998) begründet dies mit fehlenden Unterschieden in der Blattanatomie und der Tatsache, dass pseudovivipare und nicht pseudovivipare Pflanzen in anderen Gattungen wie *Poa* innerhalb einer Art vorkommen, was auch neuere populationsgenetische Untersuchungen bestätigen (RUDMANN-

MAURER et al. 2007). Zudem ist der Grad der Pseudoviviparie von abiotischen Faktoren abhängig (z.B. PIERCE et al. 2003).

Deschampsia littoralis (s.l.) ist aufgrund des kleinen Verbreitungsgebiets und der starken menschlichen Nutzung der Seeufer hochgradig gefährdet. Am Genfersee ist die Art ausgestorben, wahrscheinlich seit der Regulation des Wasserstandregimes. Aktuelle Vorkommen sind von Seen aus dem Schweizer Jura bekannt (in einer Höhe von rund 1000 m). Während CONERT (1998) die Art für den Lac de Joux (siehe auch ALBERS 1978) nennt, fanden sie DELARZE et al. (2004) auch am benachbarten Lac de Brenet. DELARZE et al. (2004) haben darauf hingewiesen, dass *D. littoralis* dort nur schwer von *D. cespitosa* zu trennen ist und vielleicht mit dieser Art hybridisiert.

In dieser Studie benutzen wir molekulargenetische Methoden (AFLPs) und blattanatomische Untersuchungen, um der Frage nachzugehen, wie stark sich *D. littoralis* von *D. cespitosa* unterscheidet und ob die Pflanzen von *D. littoralis* am Lac de Joux und Lac de Brenet tatsächlich zur selben Art gehören wie die Pflanzen am Bodensee.

2 Deschampsia cespitosa-Gruppe

In Europa werden fünf nah verwandte Arten unterschieden, die manchmal auch als Unterarten geführt werden (CHIAPELLA 2000). *Deschampsia cespitosa* ist diploid (2n = 26) und weit verbreitet. Ausserhalb Europas wurden aber auch aneuploide Pflanzen mit 2n = 16-26 festgestellt (NKONGOLO et al. 2001). Frühere Angaben zur Chromosomenzahl (2n =28) dürften nach ALBERS (1972) auf B-Chromosomen zurückzuführen sein, die in dieser Gruppe häufig sind. *Deschampsia cespitosa* wird in weitere Unterarten aufgetrennt (CONERT 1998; CHIAPELLA 2000), deren Berechtigung jedoch fraglich ist, da sie sich meist auf rein quantitative Merkmale beziehen. Endemische diploide Sippen sind *D. wibeliana* (SOND.) PARL. an den Ufern von Elbe, Eider und Weser und *D. bottnica* TRIN. an der nördlichen Ostsee und dem Bottnischen Busen (WEIHE & REESE 1968; ALBERS 1972; CONERT 1998).

Neben diploiden Pflanzen gibt es in Europa auch tetraploide Pflanzen mit 2n = 52, bzw. aneuploiden Chromosomenzahlen (2n = 48, 49). Diese erhalten bei den meisten Autoren Artrang und zeichnen sich oft durch Pseudoviviparie aus. Im Norden Europas kommt die pseudovivipare und tetraploide *D. alpina* (L.) ROEM. & SCHULT. vor. In Grossbritannien sind tetraploide Pflanzen sogar häufiger als diploide (ROTHERA & DAVY 1986). Auch in Skandinavien

und Island dürften diese häufig sein (NYGREN 1949; HEDBERG 1958). Zusätzlich wurden auch triploide Pflanzen gefunden, die auf Hybridisierung zurückzuführen sein dürften (HEDBERG 1958). In Mitteleuropa kommen tetraploide Pflanzen nur im nördlichen Voralpengebiet vor (*D. littoralis*). Hier sind nur die Populationen vom Bodensee pseudovivipar (CONERT 1998). Diese auffällige arktisch-alpine Disjunktion wirft die Frage der Artenstehung auf. Entweder handelt sich um eine allopatrische Artbildung aufgrund postglazialer Isolierung oder um eine unabhängig voneinander erfolgte Polyploidisierung (und Entwicklung der Pseudoviviparie). *Deschampsia alpina* kommt nicht in den Alpen vor. Frühere Angaben von *D. cespitosa* var. *alpina* Gaudin (OBERDORFER 1979) beruhen auf nomenklatorischen Verwechslungen mit *D. cespitosa* subsp. *gaudinii* Richt. (CONERT 1998; OBERDORFER 2001).
Nach CONERT (1998) lassen sich *D. littoralis* und *D. cespitosa* vor allem an Hand von blattanatomischen und -morphologischen Merkmalen unterscheiden. *Deschampsia littoralis* ist gekennzeichnet durch ein kurzes Blatthäutchen, durch Papillen auf der Blattoberseite und dem Fehlen der Stachelhaare auf der Blattunterseite (Tab. 2). Zudem sollen Spaltöffnungen auf der Blattunterseite von *D. littoralis* fehlen und die Epidermiszellen stark gewellte Wände aufweisen.

3 Material und Methode

3.1 Probenahme im Gelände

Insgesamt wurden 10 Populationen untersucht (Tab. 3, Abb. 2), davon drei von *D. cespitosa*, sieben Population von *D. littoralis* (drei am Bodensee, drei am Lac de Joux und eine am Lac de Brenet). Da die Populationen des Lac de Joux und des Lac de Brenet geografisch direkt benachbart sind, werden sie im Folgenden der Einfachheit halber als "Lac de Joux“ zusammen gefasst. Die Populationen vom Bodensee sind von diesen rund 400 km entfernt. Pro Population wurden zwischen zwei und 30 Pflanzen gesammelt. Die einzelnen Pflanzen waren mindestens 2 m voneinander getrennt. Es wurden nur ein bis drei vegetative Sprosse von grösseren Pflanzen entnommen, um Schädigungen der beprobten Populationen zu vermeiden. Die Populationen am Lac de Joux sind klein, weswegen nur wenige Pflanzen in die Untersuchung einbezogen werden konnten. Von jeder Population am Lac de Joux wurden die Blattsprosse von 1-2 Pflanzen in einem Garten in Radolfzell kultiviert.

3.2 Genetische Untersuchungen (AFLPs)

Frische Blätter von *D. littoralis* und *D. cespitosa* wurden während des Sammelns direkt in Silicagel getrocknet und bei Raumtemperatur gelagert. Die DNA wurde mit DNeasy Kits (Qiagen) in Einzel- oder 96er Extraktionen extrahiert. Genetische Fingerprints wurden mit AFLPs gemäss der Methoden in GUGERLI et al. (2008) mit den Restriktionsenzymen EcoRI und MseI, der Ligation mit EcoRI- und MseI-Adaptoren, präselektiver PCR mit zusätzlichem A (EcoRI) und zusätzlichem C (MseI) und selektiver PCR mit drei zusätzlichen Basen für EcoRI und MseI (Tab. 4) hergestellt. Sämtliche selektiven PCRs wurden doppelt durchgeführt und analysiert. Folgende AFLP-Primerkombinationen wurden amplifiziert: EAGC-MCTT, EACA-MCTT und EAGC-MCAG (HOLDEREGGER et al. 2003; VAN DE WOUW et al. 2008). Die Fragmentlängen-Analyse erfolgte auf einem ABI3130 Sequenzierer (Applied Biosystems). Die Daten wurden mit PEAKSCANNER 1.0 (Applied Biosystems) ausgewertet und mit RAWGENO 1.10 (ARRIGO et al. 2009) einer Qualitätskontrolle unterzogen, reproduzierbare genetische Marker automatisch ausgewählt und zu einem Datensatz zusammen gestellt. Dieser genetische Datensatz enthielt 102 Pflanzen (48 Individuen von *D. cespitosa* und 54 von *D. littoralis*) und 153 AFLP-Marker.

Um sowohl die genetische Verwandtschaft der Pflanzen von *D. littoralis* aus verschiedenen Populationen vom Bodensee und aus dem Westschweizer Jura als auch deren genetische Verwandtschaft zu verschiedenen Populationen von *D. cespitosa* zu vergleichen, wurden eine PCO-Ordination und eine Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) in GENALEX 6.3 (PEAKALL & SMOUSE 2006) durchgeführt. Mit demselben Programm wurde auch die Klonalität (Auftreten gleicher Genotypen in verschiedenen Proben der gleichen Population) untersucht.

3.3 Morphologische Untersuchungen

Um die Blattmorphologie der Pflanzen von Lac de Joux und Lac de Brenet zu untersuchen, wurde die Blattmorphologie einiger kultivierter Pflanzen mit jener von Pflanzen von *D. littoralis* (Bodensee) und *D. cespitosa* (Umgebung des Bodensees) verglichen. Hierzu wurden mit der Hand Präparate unter dem Binokular angefertigt und bei 100 oder 400facher Vergrösserung mit dem Lichtmikroskop untersucht. Dauerpräparate wurden mit Euparal angefertigt. Epidermisabzüge sowohl der Blattunter- als auch der -oberseite wurden mit einer spitzen Pinzette unter dem Bionokular erstellt. Während Präparate der Blattunterseite

einfach zu fertigen waren, sind sie für die Oberseite aufgrund der dreikantigen Rippe schwerer herzustellen. Dazu mussten die Rippen einzeln freipräpariert und dann die Epidermis einer Rippenseite abgezogen werden. Die Präparate wurden ebenfalls in Euparal eingebettet.

4 Ergebnisse

4.1 Genetische Untersuchungen (AFLPs)

Insgesamt wurden 102 Pflanzen genetisch untersucht und insgesamt 153 polymorphe AFLP Marker gefunden. Keine der beprobten Pflanzen erwies sich als genetisch identisch mit einer anderen untersuchten Pflanze. Lediglich ein Probenpaar von *D. littoralis* erwies sich bis auf drei Marker als identisch. Interessanterweise stammen diese beiden Pflanzen aus unterschiedlichen, wenn auch geographisch nicht weit entfernten Populationen (Wallhausen, Konstanz-Hörnle).

Die Analyse der Molekularen-Varianz (AMOVA) zeigte (Tab. 5), dass 86 % der molekularen Varianz innerhalb der Taxa zu finden sind. Nur 14 % der Varianz ist zwischen den Taxa (*D. cespitosa*, *D. littoralis* Bodensee, *D. littoralis* Lac de Joux) zu finden, was auf eine enge Verwandtschaft untereinander schliessen lässt.

Die ersten drei Achsen der PCO erklären zusammen 65 % der AFLP-Bandenmuster (1. Achse: 33 %; 2. Achse: 16,4 %; 3. Achse: 15,4 %). *Deschampsia cespitosa* und *D. littoralis* vom Bodensee bildeten getrennte genetische Gruppen, wenngleich ein ganz schmaler Überlappungsbereich bestand (Abb. 3). Die Pflanzen vom Lac de Joux standen zwischen den beiden genannten Gruppen, jedoch näher bei den *D. cespitosa* als bei *D. littoralis* vom Bodensee. Die durchschnittliche Anzahl der Banden pro Pflanze der drei Taxa war nahezu identisch (*D. littoralis* vom Bodensee: 114,7; *D. littoralis* vom Lac de Joux: 111,1; *D. cespitosa*: 118,2).

4.2 Morphologie

Die Untersuchung der Blattanatomie ergab, dass die Pflanzen der vier Fundorte vom Lac de Joux den Pflanzen von *D. littoralis* am Bodensee ähneln. Die Blattoberseite weist zahlreiche

Papillen auf (Abb. 4, 5). Auf der Blattunterseite sind nur wenige Borstenhaare. Diese befinden sich meistens auf den Costalfeldern, während die Intercostalfelder meist nur Kurzzellen aufweisen. *Deschampsia cespitosa* hingegen bildet nach jeder oder jeder zweiten Epidermiszelle ein Borstenhaar, auch in den Intercostalfeldern. Spaltöffnungen wurden auf der Blattunterseite der Pflanzen vom Lac de Joux nicht gefunden. Ob dieses Merkmal wirklich diagnostisch wertvoll ist, müsste in einer umfassenderen Untersuchung der Blattmorphologie zuerst untersucht werden. Auffällig ist auch, dass der Blattrand bei *D. littoralis* (Bodensee und Lac de Joux) deutlich weniger Zähne aufweist als bei *D. cespitosa*. Die Pflanzen von Lac de Joux wiesen alle drei, manchmal sogar vier Leitbündel pro Blattrippe auf.

5 Diskussion

Die molekulargenetischen Untersuchungen mit AFLPs haben gezeigt, dass die genetische Differenzierung der drei untersuchten Taxa eher gering war. Lediglich 14 % der molekularen Varianz wurde durch sie erklärt. Bezüglich der AFLP-Bandenmuster bildeten Pflanzen von *D. littoralis* am Bodensee und *D. cespitosa* zwei getrennte Gruppen, einzelne Pflanzen überlappten jedoch im PCO-Diagramm. *Deschampsia littoralis* vom Lac de Joux und Lac Brenet standen *D. cespitosa* näher als *D. littoralis* vom Bodensee. Dies könnte zwei Gründe haben.

(1) Die polyploiden Pflanzen vom Lac de Joux sind unabhängig von den Pflanzen am Bodensee aus *D. cespitosa* entstanden, d.h. *D. littoralis* ist paraphyletisch. Die Duplikation des Chromosomensatzes innerhalb der *D. cespitosa*-Gruppe wurde mehrfach nachgewiesen (JOHNSON & PACKER 1968; BUSH & BARRETT 1993; PURDY & BAYER 1995) und dürfte unabhängig voneinander stattgefunden haben. KAWANO (1962) bezeichnet sogar kanadische Pflanzen mit einem Chromosomensatz von 2n = 49 als subsp. *littoralis*, was aber eher unwahrscheinlich erscheint.

(2) *Deschampsia littoralis* ist tatsächlich monophyletisch, aber Introgression oder aktuelle Hybridisierung mit *D. cespitosa* haben dazu geführt, dass die Pflanzen am Lac de Joux genetisch *D. cespitosa* näher stehen als *D. littoralis* vom Bodensee. Eventuell war *D. littoralis* im Spätglazial und Postglazial weiter verbreitet, wie dies LANG (1967) beispielsweise für *Armeria purpurea* anhand subfossiler Pollenfunde nachweisen konnte. Das Fehlen der Pseudoviviparie am Lac de Joux (und früher am Genfersee) könnte auf den Einfluss von *D.*

cespitosa zurückzuführen sein. Bereits BAUMANN (1911) hat vermutet, dass die Pflanzen vom Genfersee deswegen sexuell sind, weil die Wasserstandsschwankungen dort schon vor der Wasserstandsregulierung nicht so extrem waren wie am Bodensee.
Für die zweite Hypothese spricht, dass Pflanzen vom Lac de Joux in der PCO nicht zufällig innerhalb von *D. cespitosa* gruppiert sind, sondern deutlich im Überlappungsbereich mit *D littoralis* vom Bodensee. Für eine Hybridisierung mit *D. cespitosa* spricht auch, dass die Populationen am Lac de Joux sowohl Merkmale von *D. littoralis* vom Bodensee (Pupillen auf Blattoberseite) als auch von *D. cespitosa* (Stachelhaare auf Blattunterseite) aufweisen. Allerdings ist das Auftreten von Papillen weiter verbreitet und kommt gelegentlich auch bei *D. cespitosa* nahe des Bodensees vor (ZILTENER 1998). Die "Zuverlässigkeit“ dieser Merkmale müsste in einer breiter angelegten Studie überprüft werden. Für viele Gräser-Gattungen (Poaceae) sind Merkmale der Blattmorphologie diagnostisch allerdings äusserst wichtig (z.B. *Festuca*, *Brachypodium*). Unklar bleibt, wie die karyologisch nicht bestätigten Funde von *D. littoralis* in der Literatur einzuordnen sind. CONERT (1998) nennt Funde vom Sempacher See, Silsersee, Poschiavosee, Neuenburger See, von der Saane und der Rhone. ZILTENER (1998) fand morphologisch ähnliche Pflanzen am Pillersee (Österreich) und dem Lago Maggiore (Ascona).

5.1 Variabilität innerhalb der Arten

Wir haben keine Klone aufgefunden und die hohe molekulare Variabilität innerhalb der Taxa von 86 % weist auf beträchtlichen Genaustausch hin, was für windbestäubte Pflanzen nicht erstaunlich ist, zumal *D. cespitosa* selbst-inkompatibel ist (DAVY 1980). Das bestätigen auch frühere Untersuchungen mit Isozymen für *D. cespitosa* (PRUDY & BAYER et al. 1995; NKONGOLO et al. 2001). Erstaunlich ist aber, dass *D. littoralis* eine ähnlich hohe Varianz aufweist wie *D. cespitosa*. Die durchschnittliche Zahl der Banden ist fast identisch mit jener von *D. cespitosa*. Einerseits könnte zwar eine tetraploide Pflanze eine höhere genetische Variabilität aufweisen, andererseits sind die Pflanzen von *D. littoralis* am Bodensee überwiegend pseudovivipar und die Populationen sind sehr klein. Eine geringere genetische Variabilität fanden hingegen PURDY & BAYER (1995) bei einer endemischen tetraploiden *Deschampsia*-Art in Canada (*D. mackenzieana* RAUP.) im Vergleich zu *D. cespitosa*. Eine relativ hohe Variabilität hat auch ZILTENER (1998) bei Isozym-Analyse bei *D. littoralis* am Bodensee gefunden, allerdings mit einer beschränkten Anzahl Proben.

5.2 Naturschutz-Aspekte

Die Populationen von *D. littoralis* am Lac de Joux and Lac Brenet sind klein und dadurch potenziell gefährdet. Zwar sind die Pflanzen nicht identisch mit den Pflanzen am Bodensee, doch zeigen die Tetraploidie und die Unterschiede in der Blattanatomie, dass es sich nicht einfach um eine Standortsmodifikation von *D. cespitosa* handelt. Evolutionsbiologisch sind die Pflanzen interessant, weil sie Aufschluss über die Artentstehung von präalpinen Endemiten geben können. Nach der Biodiversitäts-Konvention ist neben dem Erhalt der Arten- und Landschaftsvielfalt auch der Erhalt von genetischer Diversität als Ziel formuliert. Die Untersuchung zeigte aber auch, dass *Deschampsia littoralis* am Bodensee (früher als eigene Sippe *D. rhenana* gefasst) sich durch die AFLPs und das Auftreten der Pseudoviviparie deutlich von *D. littoralis* am Lac de Joux and Lac Brenet unterscheiden. Der Schutz dieses Art am Bodensee ist deshalb wichtig, weil *D. littoralis* im Gegensatz zu anderen Strandrasen-Arten wie dem Bodensee-Vergissmeinnicht (*Myosotis rehsteineri)* in den letzten zwei Jahrzehnten kaum von den günstigen Umweltbedingungen profitieren konnte (Dienst et al. 2004, Peintinger et al. 2010). Eine geringe Belastung durch Algen und Schwemmgut infolge der Re-Oligotrophierung des Bodensees und die niedrigen Wasserstände ab 2003 ermöglichten eine seewärtige Ausbreitung der Strandrasen-Arten. Hess et al. (1967) und Conert (1998) nennen weitere Fundorte von *D. littoralis* an Rhone, Saane, Sempacher See, Silsersee und Poschiavosee. Aus Sicht des Artenschutzes wäre es daher dringend nötig, diese Funde zu überprüfen und hinsichtlich Blattanatomie, Karylogie und Genetik zu untersuchen.

6 Dank

Gregor Schmitz vom Botanischen Garten der Universität Konstanz stellte uns in dankenswerter Weise Pflanzen aus der Erhaltungskultur für Voruntersuchungen im Labor zur Verfügung. Eveline Pfeifer, Regina Ziltener und Rolf Rutishauser danken wir für die Anfertigung bzw. Bereitstellung der REM- und Lichtmikroskop-Bilder. Für Hinweise und Kritik danken wir Michael Dienst und Irene Strang. Nicht zuletzt danken wir dem Amt für Raumplanung des Kantons Thurgau für die finanzielle Unterstützung.

7 Literatur

ALBERS, F. (1972): Cytotaxonomie und B-Chromosomen bei *Deschampsia caespitosa* (L.) P.B. und verwandten Arten. – Beitr. Biol. Pflanzen 48: 1-62.

ALBERS, F. (1975): Pollenmorphologie und Chromosomenzahlen der Poaceen-Subtribus Deschampsiinae Holub. – Grana 15: 7-17.

ALBERS, F. (1978): Beitrag zur Taxonomie, Systematik und Evolution der Subtriben *Aristaveninae* und *Airinae* (*Gramineae-Aveneae*). – Habil.-Schr. Fachber. Math.-Naturwiss., Universität Kiel.

ALBERS, F. (1980): Karyogeobotanik der Gräser-Subtriben *Aristaveninae* und *Airinae* (*Aveneae*). – Flora 169: 150-167.

ARRIGO, N., TUSZYNSKI, J.W., EHRICH, D., GERDES, T. & ALVAREZ, N. (2009): Evaluating the impact of scoring parameters on the structure of intra-specific genetic variation using RAWGENO, an R package for automating AFLP scoring. – BMC Bioinformatics 10: 33.

BAUMANN, E. (1911): Die Vegetation des Untersees (Bodensee). – Arch. Hydrobiol. Suppl. 1: 1-554.

BELL, A.D. (1991): Plant form. An illustrated guide to flowering plant morphology. – University Press, Oxford.

BUSH, E.J. & Barrett, S.C.H. (1993): Genetic of mine invasions by *Deschampsia cespitosa* (Poaceae). – Can. J. Bot. 71: 1336-1348.

CARDONE, S., SAWATANI, P., RUSH, P., GARCÍA, A.M., POGGIO, L. & SCHRAUF, G. (2009): Karyological studies in *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). – Polar Biology 32: 427-433.

CHIAPELLA, J. (2000): The *Deschampsia cespitosa* complex in central and northern Europe: a morphological analysis. – Bot. J. Linn. Soc. 134: 495-512.

CHIAPELLA, J. (2007): A molecular phylogenetic study of *Dschampsia* (Poaceae: Aveneae) inferred from molecular ITS and plastid *trnL* sequence data: support for the recognition of *Avenella* and *Vahlodea*. – Taxon 56: 55-64.

CHIAPELLA, J. & PROBATOVA, N.S. (2003): The *Deschampsia cespitosa* complex (Poaceae: Aveneae) with special reference to Russia. – Bot. J. Linn. Soc. 142: 213-228.

CONERT, H.J. (1998): Hegi`s Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Angiospermae: Monocotyledones 1 (2) Poaceae (Echte Gräser oder Süßgräser). – Paul Parey, Berlin.

DAVY, A.J. (1980): Biological Flora of the British Isles: *Deschampsia caespitosa* (L.) Beauv. – J. Ecol. 68: 1075-1096.

DELARZE, R., DRUART, PH., KOZLOWSKI, G., MORET, J.-L., PRUNIER, P. & GMÜR, PH. (2004): *Arenaria gothica* et autres plantes rares des rives lacustres de la Vallée de Joux (Vaud, Suisse). Quelques observations recentes et premières données autécologiques. – Bull. Soc. Vaud. Sc. Nat. 89: 1-11.

DIENST, M., STRANG, I. & PEINTINGER, M. (2004): Entdeckung und Verlust botanischer Raritäten am Bodenseeufer – das Leiner-Herbar und die Strandrasen. – Ber. Bot. Arbeitsgem. Südwestdeutschland Beiheft 1: 209-230.

FERNANDEZ SOUTO, D.P., CATALANO, S.A., TOSTO, D., BERNASCONI, P., SALA, A. WAGNER, M. & CORACH, D. (2006): Phylogenetic relationships of *Deschampsia antarctica* (Poaceae): insights from nuclear ribosomal ITS. – Plant Syst. Evol. 261: 1-9.

FISCHER, A., ADLER, W. & OSWALD, K. (2005): Exkursionsflora für Österreich, Lichtenstein und Südtirol. – Oberösterreichisches Landesmuseum, Linz.

GARCIA-SUAREZ, R., ALONSO-BLANCO, C., FERNANDEZ-CARVAJAL, M.C., FERNANDEZ-PRIETO, J.A., ROCA, A. & GIRALDEZ, R. (1997): Diversity and systematics of *Deschampsia* sensu lato (Poaceae), inferred from karyotypes, protein electrophoresis, total genomic DNA hybridization and chloroplast DNA analysis. – Plant Syst. Evol. 205: 99-110.

GAUDIN, J. (1828): Flora Helvetica, Band 1. – Orell Füssli, Zürich.

GREMLI, A. (1874): Excursionsflora der Schweiz. – Christen, Aarau.

GUGERLI, F., ENGLISCH, T., NIKLFELD, H., TRIBSCH, A., MIREK, Z., RONIKIER, M., ZIMMERMANN, N.E., HOLDEREGGER, R., TABERLET, P. & INTRABIODIV CONSORTIUM (2008): Relationships among levels of biodiversity and the relevance of intraspecific diversity in conservation – a project synopsis. – Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 10: 259-281.

HEDBERG, O. (1958): Cyto-taxonomic studies in Scottish mountain plants, notably *Deschampsia caespitosa* (L.) PB., s.str. – Svensk Bot. Tidskrift 52: 37-46.

HESS, H.E., LANDOLT, E. & HIRZEL, R. (1967): Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete. Band 1: Pteridophyta bis Caryophyllaceae. – Birkhäuser, Basel.

HOLDEREGGER, R., STEHLIK, I., LEWIS SMITH, R.I. & ABBOTT, R.J. (2003): Populations of Antarctic Hairgrass (*Deschampsia antarctica*) show low genetic diversity. – Arct. Antarct. Alp. Res. 35: 214-217.

JOHNSON, AW. & PACKER, J.G. (1968): Chromosome numbers in the Flora of Ogotoruk Creek, N.W. Alaska. – Bot. Notiser 121: 403-456.

KAWANO, S. (1962): Cytogeography and evolution of the *Deschampsia cespitosa* complex. – Can. J. Bot. 41: 719-742.

LANG, G. (1962): Vegetations- und Standortsuntersuchungen in der Grenzzone des Bodenseeufers. – Ber. Dtsch. Bot. Ges. 75: 366-377.

LAUBER, K. & WAGNER, G. (1996): Flora Helvetica. – Haupt, Bern.

LEE, J.A. & HARMER, R. (1980): Vivipary, a reproductive strategy in response to environmental stress? – Oikos 35: 254-265.

NKONGOLO, K.K., DECK, A. & MICHAEL P. (2001): Molecular and cytological analyses of *Deschampsia cespitosa* populations from Northern Ontario (Canada). – Genome 44: 818-825.

NYGREN, A. (1949): Studies on vivipary in the genus *Deschampsia*. – Hereditas 35: 27-32.

OBERDORFER, E. (1979): Pflanzensoziolgische Exkursionsflora. – Ulmer, Stuttgart.

OBERDORFER, E. (2001): Pflanzensoziolgische Exkursionsflora. – Ulmer, Stuttgart.

PEAKALL, R. & SMOUSE P.E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in EXCEL. Population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes 6: 288-295.

PEINTINGER, M., STRANG, I., MILLER, I. & DIENST, M. (2010): Monitoring in einem FFH-Lebensraum: Bestandsentwicklung von Strandrasen-Arten am Bodensee 1987-2006. – Natur und Landschaft 85: 470-477.

PIERCE, S., STIRLING, C.M. & BAXTER, R. (1995): Pseudoviviparous reproduction of *Poa alpina* var. *vivipara* L. (Poaceae) during long-term exposure to elevated atmospheric CO_2. – Ann. Bot. 91: 613-622.

PURDY, B.G. & BAYER, R.J. (1995): Genetic diversity in the tetraploid sand dune endemic *Deschampsia mackenzieana* and its widespread progenitor *D. cespitosa* (Poaceae). – Am. J. Bot. 82: 121-130.

ROTHERA, S.L. & DAVY, A.J. (1986): Polyploidy and habitat differentiation in *Deschampsia cespitosa*. – New Phytol. 102: 449-467.

RUDMANN-MAURER, K., WEYAND, A., FISCHER, M. & STÖCKLIN J. (2007): Microsatellite diversity of the agriculturally important alpine grass *Poa alpina* in relation to land use and natural environment. – Ann. Bot. 100: 1249-1258

VAN DE WOUW, M., VAN DIJK, P. & HUISKES, A.H.L. (2008): Regional genetic diversity patterns in Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica* Desv.). – J. Biogeogr. 35: 365-376.

WISSKIRCHEN, R. & HAEUPLER, H. (1998): Standardliste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands. – Ulmer, Stuttgart.

ZILTENER, R. (1998): Morphologie, Populationsstruktur und Populationsgenetik von *Deschampsia littoralis* am Bodensee. – unveröff. Diplomarbeit, Institut für Systematische Botanik, Universität Zürich.

8 Anhang (Tabellen und Abbildungen)

Tabelle 1. Chromosomenzahlen von *Deschampsia littoralis*.

Ort	N	Chromosomenzahl	Quelle
„Bodensee“	„Einige Pflanzen“	2n = 56	L. STANGE in LANG (1962)
Reichenau-Bibershof / Ufer des Gnadensees [1]	3	2n = 39, 52(+ 2B), 49	ALBERS (1978) [2]
Le Sentier / SW Ufer des Lac de Joux	6	2n = 52 (+0-2B)	ALBERS (1978) [2]

[1] Von ALBERS (1978) irrtümlich als Biberdorf bezeichnet
[2] Beinhaltet auch Zählungen von ALBERS (1975).

Tabelle 2. Merkmale zur Unterscheidung von *Deschampsia littoralis* und *D. cespitosa* (nach CONERT 1998).

Merkmal	*D. littoralis*	*D. cespitosa*
Blattanatomie/-morphologie		
Anzahl Blattrippen	7	7
Leitbündel pro Rippe	1	2-3
Blattrand	Zähne dicht stehend	Zahnreihe mit Lücken
Adaxiale Blattseite (Blattoberseite)	Epidermiszellen mit vielen kleinen Papillen	Epidermiszellen ohne Papillen, nach ZILTENER (1998) einzelne Pflanzen auch mit Papillen
Abaxiale Blattseite (Blattunterseite)	ohne Stachelhaare, ohne Spaltöffnungen	einige Stachelhaare, einzelne Spaltöffnungen
Länge der Ligula (Blatthäutchen)	kurz (2-5 mm)	lang (6-8 mm)
Generative Merkmale		
Länge der Ährchen	5-7 mm	(3-) 4-5 (-6 mm)
Form der Hüllspelze (ausgebreitet)	lang- und schmal-lanzettlich	breit-lanzettlich bis einförmig-lanzettlich
Länge der oberen Hüllspelze	4,5-6 mm	(2-) 3-4mm
Rispenäste	glatt	rau

Tabelle 3. Nummer, Sammelort und Anzahl beprobter Pflanzen (N) der untersuchten Populationen von *Deschampsia littoralis* und *D. cespitosa*.

Nr.	Population	Datum	Region	N	Koordinaten (CH)
Deschampsia littoralis – Bodensee					
1	Konstanz-Hörnle	16.5.2008	D Obersee (BW)	30	733.480 / 281.350
2	Wallhausen	16.5.2008	D Überlinger See (BW)	11	727.826 / 289.933
3	Reichenau-Mutschellern	16.5.2008	D Untersee (BW)	6	720.490 / 284.844
Deschampsia littoralis – Lac de Joux/Brenet					
4	Lac Brenet, Nordufer	19.6.2008	CH Jura (VD)	2	515.101 / 170.364
5	Pont	19.6.2008	CH Jura (VD)	3	514.770 / 169.055
6	Sentier	19.6.2008	CH Jura (VD)	4	508.567 / 162.750
7	Bioux	19.6.2008	CH Jura (VD)	2	510.310 / 164.049
Deschampsia cespitosa					
8	Bachlauf Tägerst	18.5.2009	CH Stallikon (ZH)	20	679.327 / 239.166
9	Sous le Chateau, Ufer	1.6.2009	CH Goumois (JU)	19	562.760 / 233.689
10	Combe de la Valouse, feuchte Weide	30.5.2009	CH Bassins (VD)	21	503.016 / 150.211

Tabelle 4. Für die selektive PCR verwendete Primer. Die drei zusätzlichen Basen des selektiven PCRs sind in fett-kursiver Schrift angegeben.

Name	Sequenz
EcoRI-AGC (EAGC)	5’ GAC TGC GTA CCA ATT C***AG C*** 3’
EcoRI-ACA (EACA)	5’ GAC TGC GTA CCA ATT C***AC A*** 3’
MseI-CTT (MCTT)	5’ GAT GAG TCC TGA GTA A***CT T*** 3’
MseI-CAG (MCAG)	5’ GAT GAG TCC TGA GTA A***CA G*** 3’

Tabelle 5. Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) der AFLP-Daten mit zwei hierarchischen Ebenen: zwischen und innerhalb der drei Taxa (*D. littoralis* Bodensee, *D. littoralis* Lac de Joux und Lac de Brenet und *D. cespitosa*).

Varianzquelle	df	SS	Variation
Zwischen Taxa	2	164.627	14 %
Innerhalb Taxa	99	1346.932	86 %
Gesamt	101	1511.559	100 %

Phi $_{ST}$ = 0.144, P < 0,001

Abbildung 2. Wuchsort von *Deschampsia littoralis* am Westufer des Lac de Joux (Les Esserts-de-Rive, 31.8.2010) und östlich Konstanz (Bodensee-Überlinger See, 8.9.2005, Fotos: M. Dienst).

Abbildung 3. Differenzierung der drei untersuchten Taxa entlang der ersten drei Achsen der Hauptkoordinaten-Analyse (PCO). Quadrate: *Deschampsia cespitosa*; Kreise: *D. littoralis* Bodensee; Dreiecke: *D. littoralis* Lac de Joux and Lac de Brenet.

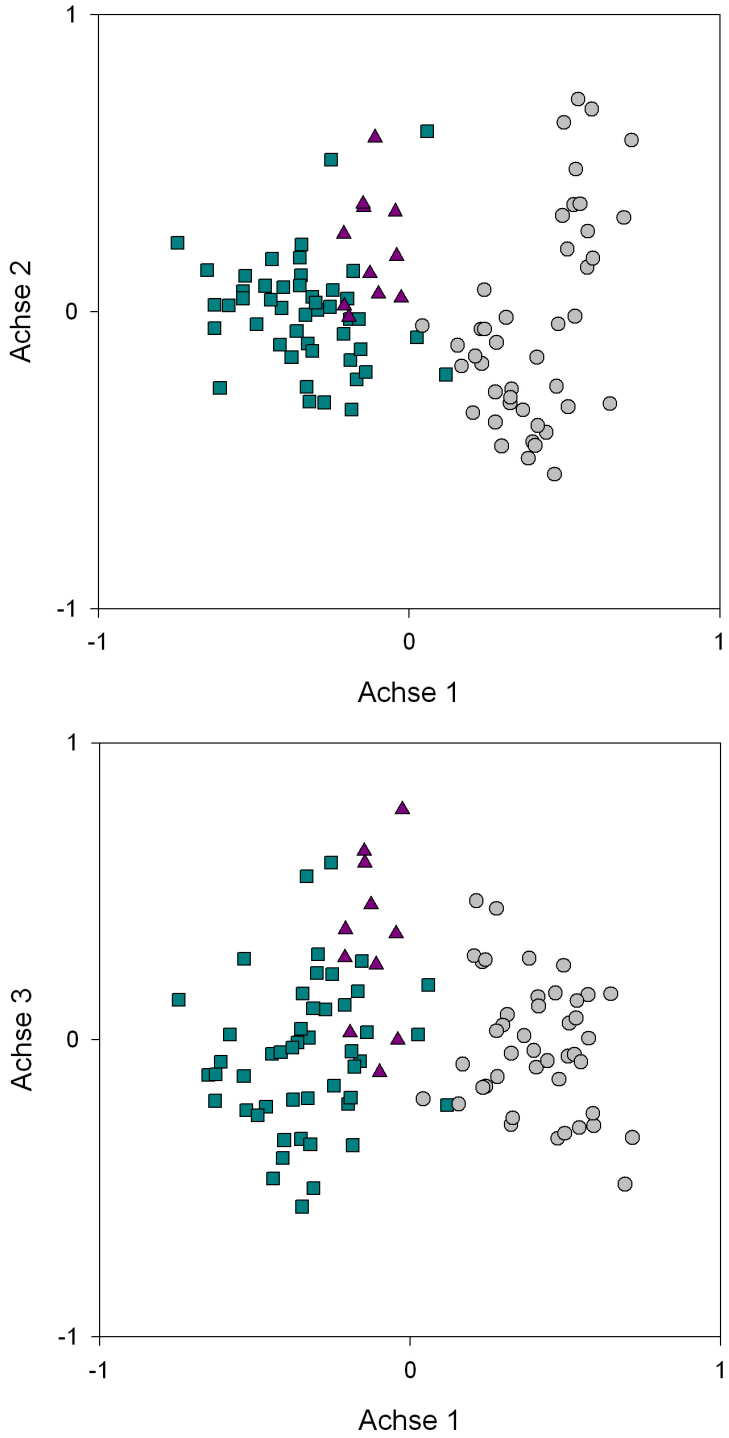

Abbildung 4. Blattquerschnitt von *Deschampsia littoralis* (Lac de Brenet, Handschnitt). Deutlich erkennbar sind die Papillen auf der Blattoberseite (durch Pfeil gekennzeichnet).

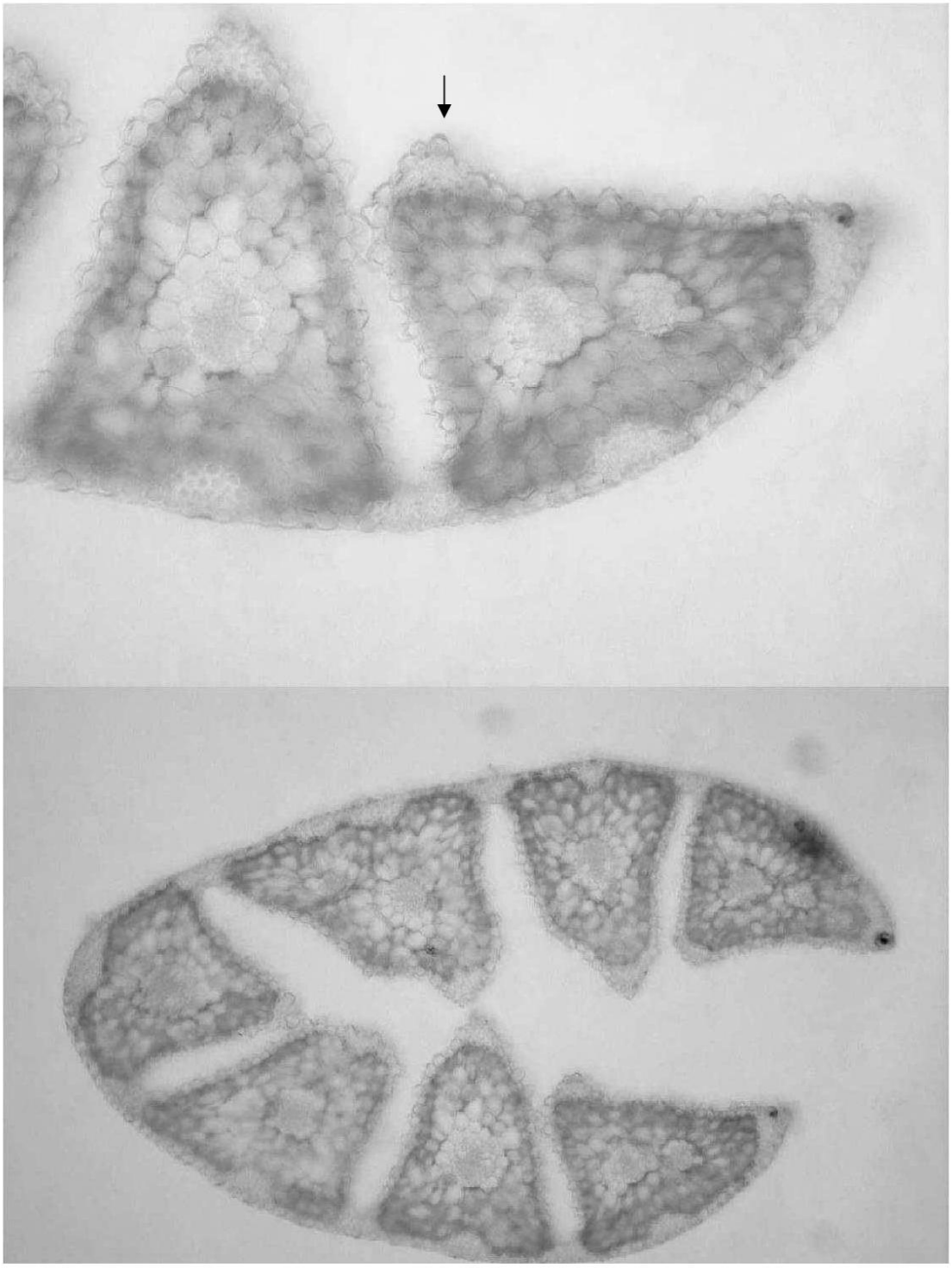
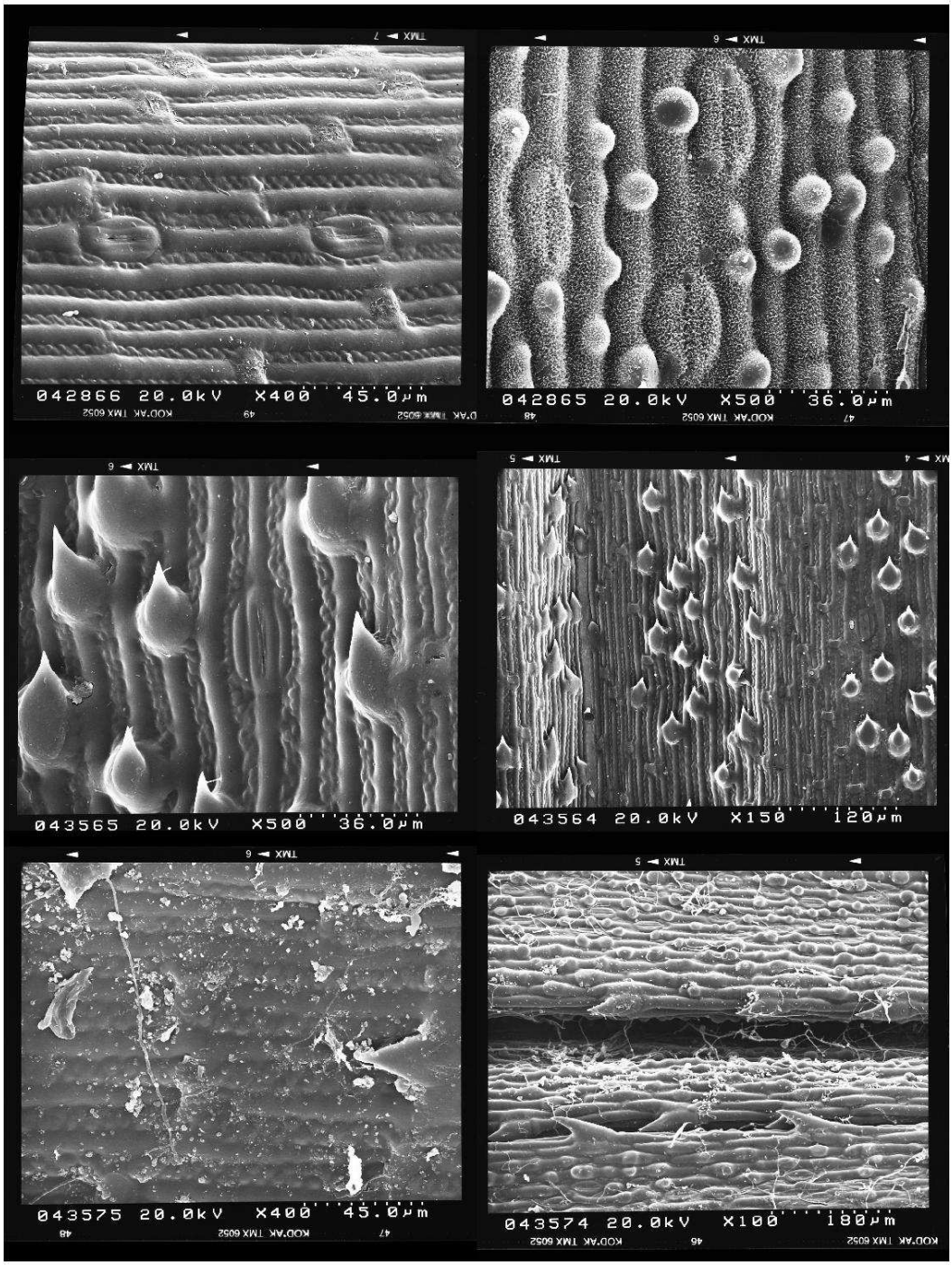
Abbildung 5. Rasterelektronen-Bilder (aus ZILTENER 1998) von *Deschampsia littoralis* (Bodensee-Reichenau: oben links: Blattunterseite oben rechts Blattoberseite mit Papillen), von *D. cespitosa* (Allensbach: mittlere Reihe: Blattunterseite mit Stachelhaaren) und D. littoralis (Lac de Joux, Herbar-Material Z/ZT: unten links: Blattunterseite mit einzelnen Stachelhaare, unten rechts: Blattoberseite mit Papillen). Die fädigen Strukturen bei den Pflanzen von Lac de Joux sind Verunreinigungen der Herbarpflanzen.