



universität
wien

Diplomarbeit

Titel der Diplomarbeit

Senecio carniolicus als Modellorganismus für Arten
mit sympatrisch verbreiteten Zytotypen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Verfasserin:	Sara Fössinger
Studienrichtung:	Ökologie (A 444)
Matrikelnummer:	0208451
Betreuer:	PD Dr. Peter Schönswetter

Wien, am 20. März 2010

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Betreuern dieser Arbeit, Dr. Karl Hülber und Dr. Peter Schönswetter, für ihren fachlichen Rat und die tatkräftige Unterstützung bedanken. Ohne ihre Geduld und Ausdauer wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Dank gebührt auch meiner Kollegin Ruth Flatscher und Susanne Scheffknecht für wertvolle Informationen und Tipps, Dr. Jan Suda und Dr. Pavel Trávníček für die Durchführung der Durchflusszytometrie, Dr. Hanna Weiss-Schneeweiss für die fachkundige Hilfe im Labor und Dr. Benno Baumgartner für die unentbehrlichen Informationen zur Geologie der Sammelgebiete. Ein herzliches Dankeschön auch allen hier nicht namentlich genannten Personen und Institutionen, die das Gelingen meiner Arbeit maßgeblich beeinflusst haben.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
2. Das Untersuchungsgebiet	3
2.2 Der Boden	4
2.3 Das Klima	6
2.4 Turracher Höhe	7
2.5 Plose	9
2.6 Stilfser Joch.....	11
2.7 Versuchsgarten: Meran	13
3. Untersuchungsschwerpunkte.....	14
3.1 Polyploidie	14
3.2 Selbstinkompatibilität	18
4. Versuchspflanze: <i>Senecio carniolicus</i>	20
5. Methodik.....	24
5.1 Probennahme.....	24
5.2 Ermittlung des Zytotyps.....	25
5.3 Bestäubungsexperiment	26
5.4 Arbeiten im Labor.....	27
5.5 Analysen und Statistik	30
6. Ergebnisse	32
6.1 Pollenkorngröße	34
6.2 Anzahl Pollenkörner	40
6.3 unreduzierte Pollenkörner	43
6.4 Höhenverteilung der Zytotypen	45

7. Diskussion	47
7.1 Probleme bei der Versuchsdurchführung und mögliche Ursachen.....	47
7.2 Diskussion der Ergebnisse	49
7.2.1 Vermeidung von Kreuzungen zwischen unterschiedlichen Zytotypen	49
7.2.2 Höhenverteilung der Zytotypen in gemischten Populationen.....	50
7.2.3 Die Pollengröße variiert je nach Zytotyp.....	52
7.2.4 Pollen/Ovule-Ratio.....	53
7.2.5 Anzahl der unreduzierten Pollenkörner	54
8. Zusammenfassung.....	55
9 Abstract.....	57
10. Anhang	58
11 Literaturliste.....	62

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Alpen.....	3
Abbildung 2: Die Punkte kennzeichnen die Sammelgebiete.....	7
Abbildung 3: Geologische Landkarte der Umgebung der Plose.	9
Abbildung 4: Die Geologie rund um das Stilfser Joch.....	12
Abbildung 5: Entstehung diploider Zellen	14
Abbildung 6: Entstehung triploider Zellen	14
Abbildung 7: Verbreitung der Hauptzytotypen von <i>Senecio carniolicus</i>	22
Abbildung 8: Verwandte Arten von <i>S. carniolicus</i>	23
Abbildung 9: Vergleich der Größe gesunder und offensichtlich degenerierter Pollenkörner	34
Abbildung 10: Übersicht der Pollenkorngrößen aller Individuen.	35
Abbildung 11: Pollenkorngrößen der drei Hauptzytotypen (2x, 4x, 6x) zusammengefasst für alle Sammelgebiete.	36

Abbildung 12: Vergleich der Pollenkorngröße von Individuen des gleichen Zytotyps zwischen den Sammelgebieten.	37
Abbildung 13: Vergleich der Pollenkorngrößen hexaploider Individuen von 3 Gruppen unterschiedlicher Meereshöhe.....	39
Abbildung 14: Übersicht der Anzahl an Pollenkörnern pro Anthere aller Individuen	40
Abbildung 15: Die Pollenkornanzahl pro Anthere der 3 Zytotypen zusammengefasst für alle 3 Sammelgebiete.	41
Abbildung 16: Die Anzahl der Pollenkörner pro Anthere der hexaploiden Individuen der 3 Populationen.	42
Abbildung 17: Größenverteilung der Pollenkörner di-, tetra- und hexaploider Individuen.	44
Abbildung 18: Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf der Turracher Höhe	45
Abbildung 19: Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf dem Stilfser Joch.	45
Abbildung 20: Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf der Plose	46
Abbildung 21: Vergleich zwischen einer Pflanze der Tallagen und einer Gebirgspflanze.	47
Abbildung 22a: Käfig	58
Abbildung 22b: Käfig.....	58
Abbildung 23: Kennzeichnung	58
Abbildung 24: Teefilter	58
Abbildung 25: Pflanzen im Versuchsgarten	59
Abbildung 26: Pflanzen in Blüte	59
Abbildung 27: <i>S. carniolicus</i>	60
Abbildung 28: Knospe	60
Abbildung 29: Blüte	60
Abbildung 30: Pollenkörner	61
Abbildung 31: Pollenkörner	61

1. Einleitung

Warum bilden sich unterschiedliche Zytotypen? Wie schaffen es verschiedene Zytotypen nebeneinander zu bestehen? Ab wann kann oder muss man von zwei verschiedenen Arten sprechen? Welche Fortpflanzungsbarrieren kommen zwischen den unterschiedlichen Zytotypen zum Tragen? All dies sind Fragen die das Thema Polyploidie tangieren und immer noch in großen Teilen unbeantwortet sind.

Polyploidie (Körperzellen besitzen mehr als zwei identische Gene pro Zelle) ist ein weit verbreitetes Phänomen und spielt vor allem in der Entwicklungsgeschichte eine wichtige Rolle (Soltis & Soltis, 1999; Otto & Whitton, 2000). Besitzt der Kern einer Zelle zwei Genkopien (wie die Körperzellen des Menschen), nennt man diese Zellen diploid. Kommt oder kam es jedoch aus verschiedenen Gründen zur Vervielfachung dieser Gene, so spricht man, abhängig von der Anzahl der Gen-Kopien, von triploiden (3), tetraploiden (4), pentaploiden (5), hexaploiden (6)... Zellen und Individuen. Diese Gruppen mit unterschiedlicher Anzahl an Genkopien innerhalb einer Art werden Zytotypen genannt (z.B. alle tetraploiden Individuen einer Art zusammengenommen = Zytotyp).

In dieser Arbeit wird versucht anhand des Modellorganismus *Senecio carniolicus* einige Antworten auf die vielen offenen Fragen zu liefern. *Senecio carniolicus* ist eine perenne alpine Asteraceae. Seit kurzem (Suda et al., 2007) ist bekannt, dass in den Alpen drei unterschiedliche Hauptzytotypen (2x, 4x, 6x) auftreten, welche gemischte (sympatrische) Populationen bilden. Zusätzlich ist es eine weit verbreitete Pflanze, die nicht unter Naturschutz steht und dadurch einen idealen Modellorganismus für unsere Versuche darstellt. Für die vorliegende Arbeit wurden Populationen auf der Turracher Höhe, auf der Plose und auf dem Stilfser Joch besammelt. Dabei handelt es sich jeweils um sympatrische Populationen, welche auf der Plose aus diploiden (2x) und hexaploiden (6x), am Stilfser Joch und auf der Turracher Höhe aus tetraploiden (4x) und hexaploiden (6x) Individuen zusammengesetzt sind. Die Pflanzen wurden in einen Versuchsgarten nach Meran (Südtirol - Italien) gebracht. Um den Zytotyp der einzelnen

Individuen zu ermitteln wurde von jeder Pflanze ein Blatt zur durchflusszytometrischen Untersuchung nach Tschechien geschickt.

Anfänglich sollten Pollenproben vermessen und ausgezählt und mit den gesammelten reifen Samen verglichen werden. Leider lief bei der Versuchsdurchführung nicht alles nach Plan, da die Pflanzen weniger robust waren als angenommen und das Ausstechen, Transport und anschließendes Einpflanzen im Versuchsgarten nicht unbeschadet überstanden haben. Die Bestäubungsversuche waren zwar teilweise durchführbar, konnten aber nicht ausreichend Datenmaterial liefern. Das ursprüngliche Forschungsziel musste revidiert werden, weil der schlechte Allgemeinzustand der Pflanzen die Samenreife stark beeinträchtigte. Alternativ dazu wurde versucht anhand des Pollen/Ovule-Verhältnisses, in Anlehnung an Cruden (1976), Aussagen über Fortpflanzungssystem und Sukzessionsstand der einzelnen Zytotypen zu treffen. Es konnte eine relativ klare Habitatsaufteilung innerhalb der einzelnen Zytotypen in sympatrischen Populationen entlang des Höhengradienten festgestellt werden. Unklar ist jedoch, ob die Einnischung nur anhand der Höhe erfolgt oder auch andere Faktoren eine Rolle spielen, welche möglicherweise mit der Höhe korrelieren. In solchen gemischten Populationen ist auffällig, dass kaum Kreuzungen der zwei vorkommenden Zytotypen zu finden sind, was wiederum darauf schließen lässt, dass verschiedene Isolierungsmechanismen ganz gezielt die Kreuzung der unterschiedlichen Zytotypen verhindern.

2. Das Untersuchungsgebiet

Die drei ausgewählten Sammelgebiete liegen mitten in den Ostalpen. Die Alpen erstrecken sich in einem 1.200 km langen und 150-250 km breiten Bogen vom Golf von Genua bis an das Pannonische Becken (siehe Abb.1). Sie bilden eine wichtige Klima- und Wasserscheide für Europa und können in zentrale, äußere (Norden bzw. Westen) und innere (Süden) Alpen gegliedert werden. Weiters können sie in Ost und Westalpen gegliedert werden, die Grenze wird von der Linie Bodensee – Rhein – Splügenpass – Lago di Como gebildet. Die Westalpen sind durch kühles, feucht-ozeanisches Klima, starke Vergletscherung während der letzten Eiszeit und höhere Gipfel charakterisiert. Die Ostalpen besitzen hingegen ein eher wärmeres, trockenes, subkontinentales Klima, die eiszeitliche Vergletscherung war weniger ausgeprägt und die Berge sind weniger hoch. (Fischer et al., 2005).



Abbildung 1: Die Alpen

(http://www.juergen-gotterbarm.de/cms/picture/upload/image/gr_alpen.gif, 20. März 2010)

2.1 Die Geologie

Die Alpen entstanden durch die Kollision der afrikanischen und europäisch-asiatischen Kontinentalplatte, weshalb diese Gebirgsform auch als Kollisionsgebirge bezeichnet wird. Die Deckenüberschiebung erfolgte in der Regel von Afrika in Richtung Eurasien (d.h. von SO nach NW) (Wüthrich et al., 2001). In Südtirol (Stilfser Joch und Plose) ebenso wie in Kärnten/Steiermark (Turracher Höhe) findet man Gesteinselemente sowohl afrikanischen als auch europäischen Ursprungs.

Die detaillierte Geologie des Alpenraumes erweist sich als umfassendes Forschungsgebiet, da durch konstante Auffaltung und Erosion ein komplexes und schwer überschaubares Mosaik an unterschiedlichen Gesteinen entstanden ist.

2.2 Der Boden

Je nach Klima und Muttergestein entstehen unterschiedliche Bodentypen mit spezifischen Eigenschaften, welche großen Einfluss auf die Vegetationszusammensetzung haben (Wüthrich et al., 2001). Verwittert kalkhaltiges Muttergestein, entstehen in höheren Schichten meist basische Böden mit hohem pH-Wert. Ist das Muttergestein silikatreich entstehen saure Böden (Wüthrich et al., 2001). Die Bodenbildung läuft in der alpinen Zone wegen der geringen Biomasseproduktion der Pflanzengesellschaften nur langsam ab (Ellenberg, 1996).

Die Spannweite alpiner Böden reicht von pH 3 bis pH 8 (Reisigl & Keller, 1994). Auf Kalk können nur Spezialisten gedeihen, welche mit dem Überschuss an Ca^{2+} -Ionen fertig werden. Die Nährstoffe sind fester gebunden und daher von der Pflanze schwerer aufnehmbar, aber dadurch auch vor Auswaschungen sicher.

Bei stark saurer Bodenreaktion sind zwar die wichtigsten Mineralstoffe (K, P, Fe) als Ionen in Lösung und daher gut aufnehmbar, sie werden aber auch leicht durch Sickerwasser in die Tiefe transportiert. Die Aufnahme von N_2 ist in stark sauren

Böden behindert. Klar scheint, dass jede Pflanzenart ihre besonderen Bodenansprüche und Stoffwechselreaktionen besitzt (Reisigl & Keller, 1994). In der alpinen Stufe ist auf sauren Böden die Krummsegge (*Carex curvula*) dominierend. Solche *Curvuleten* (pH 3,2-6,5) kann man schon von weitem an der grau-braunen Farbe der abgestorbenen Blattspitzen erkennen (Reisigl & Keller, 1994). In dieser Pflanzengesellschaft gedeiht unsere Versuchsart *Senecio carniolicus* (Abb 27), weiters findet man *Senecio* auch in steinigere Gebieten wo nur mehr wenige andere Pflanzenarten gedeihen (Huelber et al., 2009).

2.3 Das Klima

Wirkung des alpinen Klimas auf die Pflanzen:

1. Die Pflanze ist am Hochgebirgsstandort häufigem und teils schroffem **Wechsel der klimatischen Faktoren** ausgesetzt. Der Übergang der Jahreszeiten vollzieht sich sehr schnell. Die Vegetationszeit wird mit zunehmender Meereshöhe immer kürzer (1 Woche/100m). Die auffallendste Vegetationsgrenze im Gebirge ist die Obergrenze des Waldes, sie liegt dort wo an mindestens 100 Tagen das Tagesmittel über 5°C liegt.
2. **Strahlung:** Die Einstrahlung bei Tag und die nächtliche Ausstrahlung sind im Hochgebirge bei klarem Himmel deutlich stärker als in Tallagen. Die Strahlungssumme in dem für die Photosynthese nutzbaren Spektralbereich (phAR) ist jedoch ähnlich. Im Gebirge tritt eine größere Bewölkungshäufigkeit auf.
3. Die **Temperatur** von Luft und tieferen Bodenschichten nimmt mit der Meereshöhe ab (Mittel um 0,6°C/100m). Häufigkeit, Dauer und Stärke von Frost nehmen zu. Große Temperaturunterschiede zwischen Tag und Nacht sind möglich (-10° Nacht/40°C Tag).
4. **Wasserhaushalt:** Gesamtniederschläge und der Anteil an Schnee nehmen mit der Höhe zu, ebenso die Bewölkung im Gipfelbereich: dies führt zu Lichtminderung und Temperatenausgleich
5. Die **Abnahme des Luftdrucks** mit der Meereshöhe wirkt sich v.a. über die Abnahme des CO₂-Partialdrucks auf die Stoffproduktion der Pflanzen aus.
6. **Wind:** Häufigkeit und Stärke nehmen mit der Höhe zu. Der Wind verteilt den Winterschnee im Geländere relief. Diese Schneeverteilung spiegelt sich im Muster der Vegetation wider.
7. **Exposition** (Nordseite/Südseite): Verschiedene Einstrahlungswinkel der Sonne bedingen einen unterschiedlichen Wärmegenuss. Mit der Meereshöhe wird die Differenz zwischen Nord und Südseite immer größer. Das Mikroklima kann den Einfluss vom Großklima und Meereshöhe überdecken.
8. **Boden und Ernährung:** Bei den relativ tiefen Bodentemperaturen im Gebirge ist die Aktivität der Mikroorganismen herabgesetzt, der Abbau der Pflanzenstreu gehemmt und damit die Nachlieferung mineralischer Grundnährstoffe (N, P) verzögert. Die Symbiose der Wurzeln der meisten Gebirgspflanzen mit Pilzen verbessert v.a. die N-Versorgung.

(nach Reisingl & Keller, 1994, verändert)

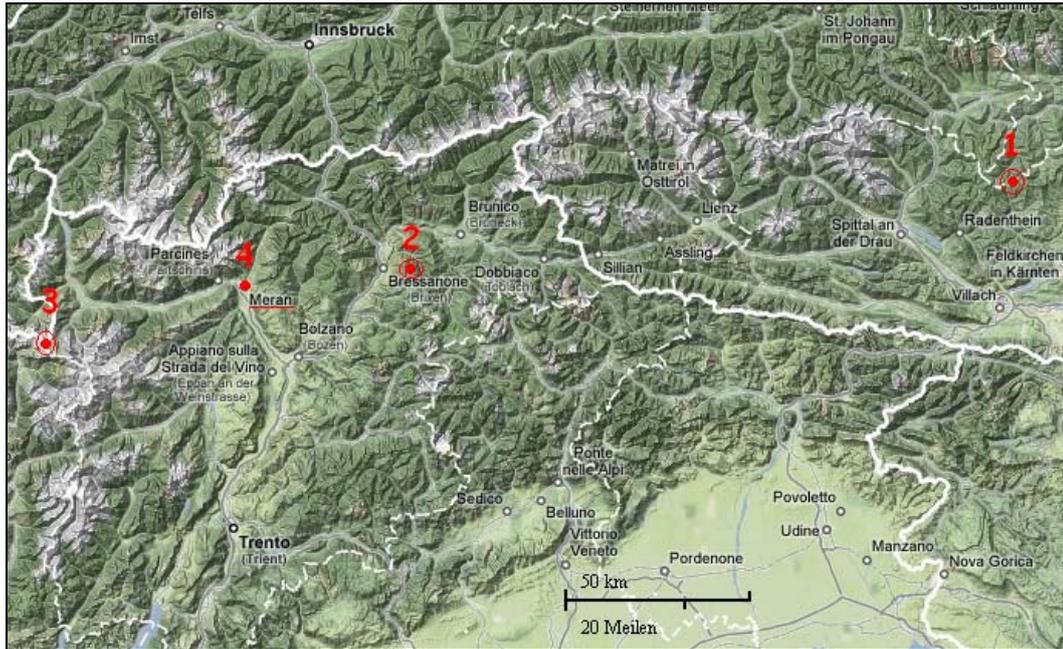


Abbildung 2: Die Punkte kennzeichnen die Sammelgebiete: 1)Turracher Höhe, 2) Plose, 3) Stilfser Joch, 4) Versuchsgarten, Meran (Google maps, verändert)

2.4 Turracher Höhe

Die Turracher Höhe befindet sich in den Nockbergen, einem Teil der Gurktaler Alpen im Grenzgebiet zwischen Steiermark und Kärnten auf 1763m (Abb.2). Westlich davon schließt der Nationalpark Nockberge an. Die Nockberge sind von rundlichen Bergen geprägt (deshalb auch der Name Nocke), bei denen nur selten der nackte Fels zutage tritt. Eine Legende besagt, dass die drei Seen der Turracher Höhe (Turracher See, Schwarzsee, Grünsee), Freudentränen Gottes sind, die er beim betrachten der gelungenen Schöpfung der Nockberge vergoss (Maierbrugger, 1978). Heute liegen die zwei kleineren Seen im Landschaftsschutzgebiet, der dritte und größte (19,4 ha, Turracher See) wird zur Erzeugung von Kunstschnee verwendet, wodurch der Wasserspiegel erheblich schwankt.

Der Übergang über die Turrach wurde erstmals 1382 urkundlich erwähnt, seit 1256 ist ein Eisenerzlager im Dorf Turrach bekannt. Zwischen 1658 und 1919 wurde das Eisenerz abgebaut und verhüttet (Maierbrugger, 1978). Im 19. Jahrhundert entstanden die ersten Behausungen auf der Passhöhe am Turracher

See für Holzfäller und Steinmetze, kurz vor dem ersten Weltkrieg begann langsam der Skitourismus und es eröffneten nach und nach Hotels. 1946 wurde der erste Schlepplift in Betrieb genommen, heute sind insgesamt 13 Liftanlagen in Betrieb (www.turrach-ferienhaus.at, Mai 2009).

Die Geologie der Gegend um die Turracher Höhe ist dominiert von Eisenhutschiefer und Gurktaler Quarzphyllit, dieser entsteht aus tonigen Sedimenten, welche durch Gebirgsbildung (Metamorphes Gestein) in Phyllit umgewandelt werden. Daneben findet man Amphibolite, Glimmerschiefer und Paragneise (Altkristallin) und kleine Bereiche aus Dolomit und Kalkstein (Dr. Benno Baumgartner, mündlich, Jänner 2009).

2.5 Plose

Der in Südtirol, östlich von Brixen zwischen Eisacktal, Aferertal und Lüsneral gelegene Plosestock (Abb.2) setzt sich aus mehreren Gipfeln zusammen (Telegraph, 2.487m ü M.; Gabler, 2.576 m ü M; und Pfannspitze, 2.542m ü M). Das Gebiet ist ähnlich der Turracher Höhe ein beliebtes Ski und Ausflugsziel (mit 11 Aufstiegsanlagen), durch diesen starken anthropogenen Einfluss ist die Natur teilweise ziemlich in Mitleidenschaft gezogen, dennoch konnten in unberührteren Zonen abseits von Pisten und Wanderwege *Senecio carniolicus* gefunden werden.

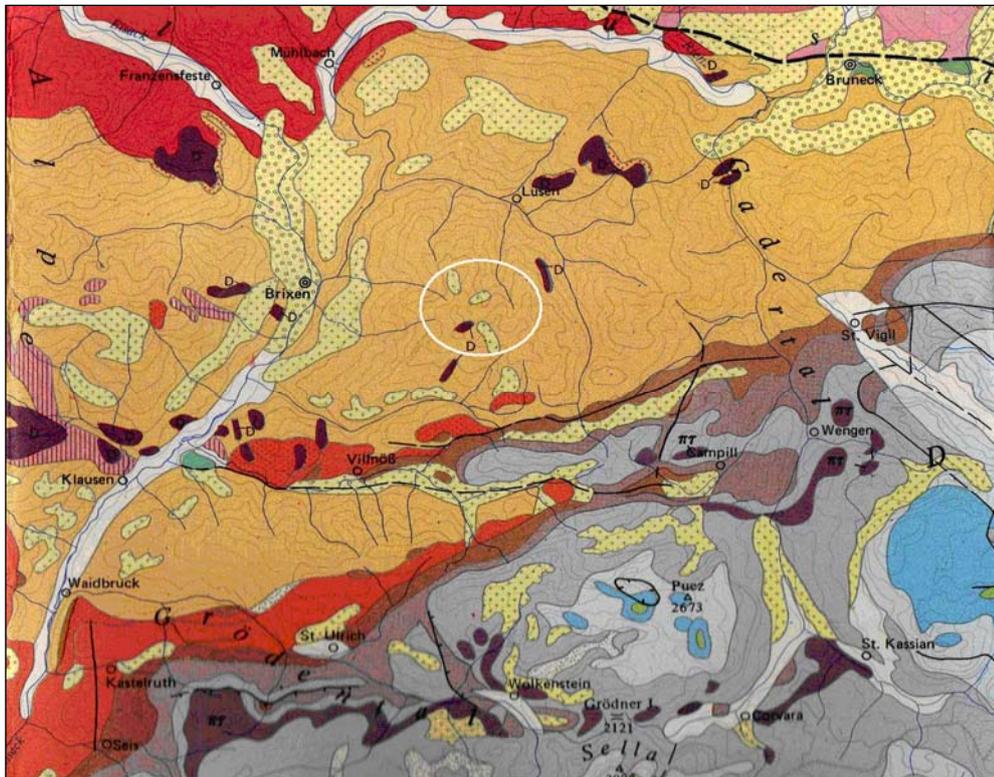
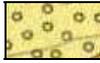


Abbildung 3: Geologische Landkarte der Umgebung der Plose, mit weißem Kreis gekennzeichnet (aus Tirol-Atlas, Geologie mit Tektonik, 1980).

	Diurit		Moränen, Wallformen, Drumlins
	Schotter		Bozner Quarzporphyr
	Quarzphyllit		Brixner Granit, Granodiorit

Geologisch betrachtet liegt die Plose inmitten einer Zone von Brixner Quarzphyllit, einem relativ weichen, leicht verwitternden Gestein, dadurch lassen sich auch die weiten Becken und runden Hänge im Brixner Raum erklären. Richtung Norden schließt weitaus härterer Granit an, im Süden der Quarzporphyr. Kleinräumig kommen Diurit Einlagerungen vor, welche für einen besonders sauren Boden verantwortlich sind. Durch Materialverschiebungen aus dem Pustertal kam heterogenes, fruchtbares Material in Form von glazialen Ablagerungen hinzu (Dr. Benno Baumgartner, mündlich, Jänner 2009).

2.6 Stilfser Joch

Das Sammelgebiet Stilfser Joch liegt im gleichnamigen Nationalpark (Abb. 2). Dieses 1935 gegründete Schutzgebiet erstreckt sich über 134.620 ha in den Zentralalpen über das Gebiet der Provinzen Sondrio, Brescia, Trient und Bozen. Es schließt das gesamte Gebirgsmassiv Ortler-Cevedale mit seinen Nebentälern ein (<http://www.parks.it/parco.nazionale.stelvio/Gpar.html>, Mai 2009). Trotz des Schutzstatus befindet sich im Nationalparkgebiet ein Sommerskigebiet.

In weiten Teilen des Nationalparks finden sich hauptsächlich metamorphe Gesteinsformationen unterschiedlicher Herkunft, die von Naturkräften in der Tiefe – enorme Hitze und Druck – geformt wurden, beispielsweise die Schiefer im Vinschgau oder der Laaser Marmor. Es gibt auch noch andere Gesteinsformationen, so die Gneise vom Tonalepass mit interessanten Einsprengseln oder den Marmor vom Canètal. Weiters finden wir Felsen, die überwiegend aus Kalk und Dolomit bestehen; sie liegen über den Schieferschichten und formen beispielsweise den Gipfelaufbau des Ortlers. Schließlich lässt sich auch das Vorkommen von Quarzphyllit beobachten, so auf den Bergen zwischen dem Ulten- und dem Martelltal oder am Cevedale (<http://www.parks.it/parco.nazionale.stelvio/Gpar.html>, Mai 2009).

Die meisten Versuchspflanzen wurden an den Hängen der Dreisprachenspitze (ital. Cima Garibaldi, 2845m) in Richtung Rötelspitze (3026 m) gesammelt. Diese sind vom Parkplatz am Joch leicht zu erreichen und boten eine große Menge an *Senecio carniolicus*. Dieses Gebiet um die Rötelspitze und Dreisprachenspitze ist geologisch vor allem durch Glimmerschiefer und Gneise geprägt (Dr. Benno Baumgartner, mündlich, Jänner 2009).

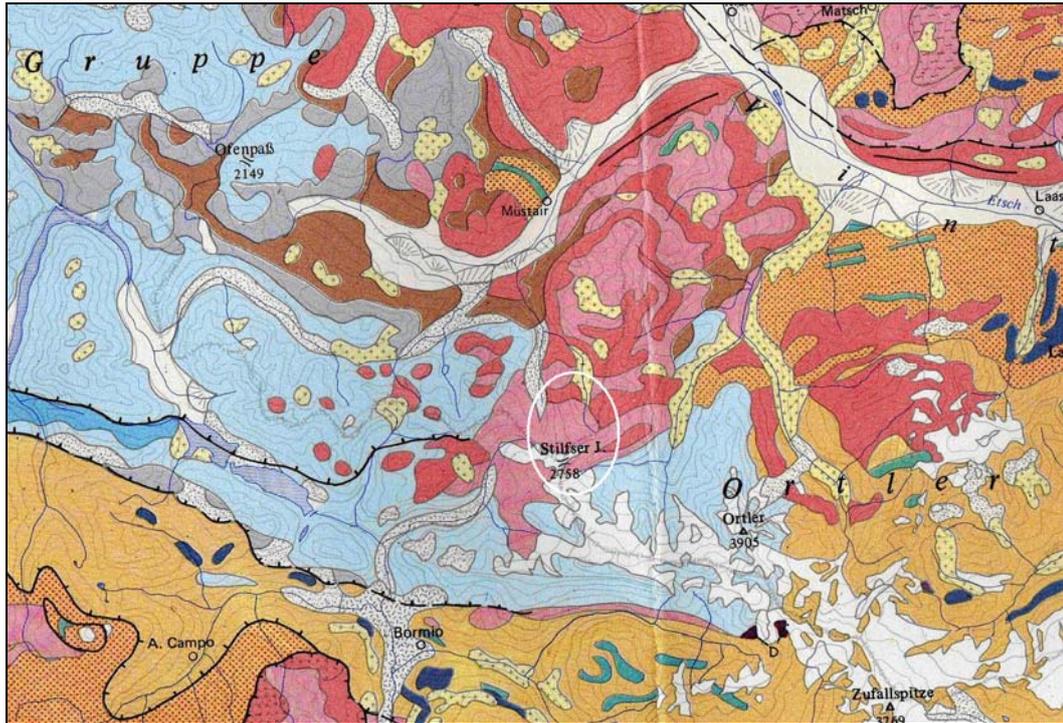
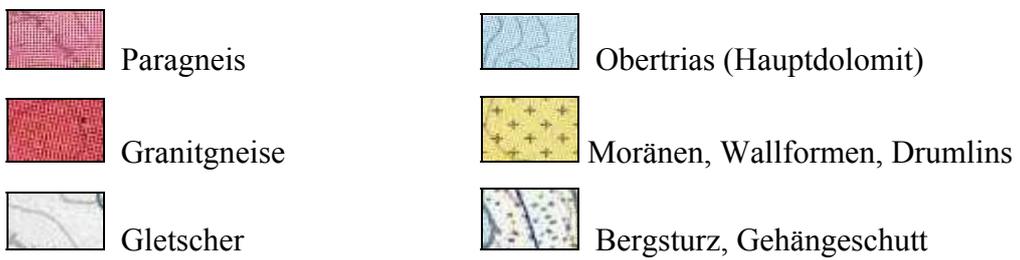


Abbildung 4 Die Geologie rund um das Stilsfer Joch, mit weißem Kreis gekennzeichnet (aus Tirol-Atlas, Geologie mit Tektonik, 1980).



2.7 Versuchsgarten: Meran

Im Versuchsgarten von Meran spielt die Geologie für die Pflanzen natürlich keine Rolle, da sie in Substrat vom jeweiligen Fundort gepflanzt wurden. Das Klima spielt jedoch sehr wohl eine Rolle, da es sich ziemlich stark von der natürlichen Umgebung der Pflanzen im Hochgebirge unterscheidet. Meran liegt auf 350 m und ist weithin als Alpenstadt mit mediterranem Klima bekannt (Karte Abb. 2). Die Temperaturen erreichten in den Sommermonaten Juli und August (während der Versuchsdurchführung) tagsüber manchmal sogar 40°C. Die Durchschnittstemperatur im Juli liegt bei 21,7°C und im August bei 21°C. Die durchschnittliche Niederschlagsmenge im Juli beträgt 77,0 mm und 83,3 mm im August (Mittelwerte seit Aufzeichnungsbeginn, Hydrographisches Amt, Provinz Bozen, Juni 2009).

3. Untersuchungsschwerpunkte

3.1 Polyploidie

Die meisten Zellen besitzen einen diploiden Chromosomensatz, jede Erbinformation liegt zweimal vor (Abb.5A). Während der Meiose wird dieser diploide Chromosomensatz geteilt um haploide (Chromosomensatz in einfacher Ausführung) Gameten entstehen zu lassen (Abb. 5B), welche nach der Verschmelzung mit einer weiteren haploiden Gamete zu einer neuen diploiden Zelle führt (Abb 5C).

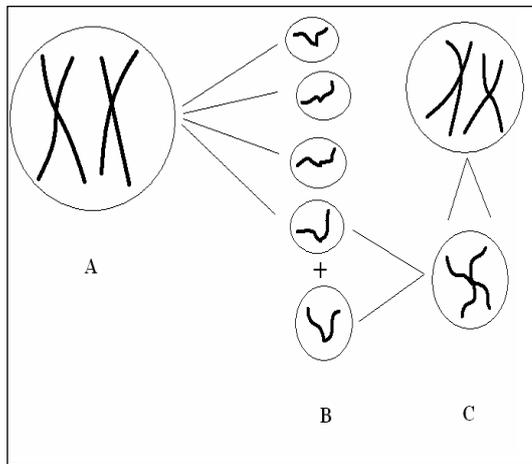


Abbildung 5: Entstehung diploider Zellen

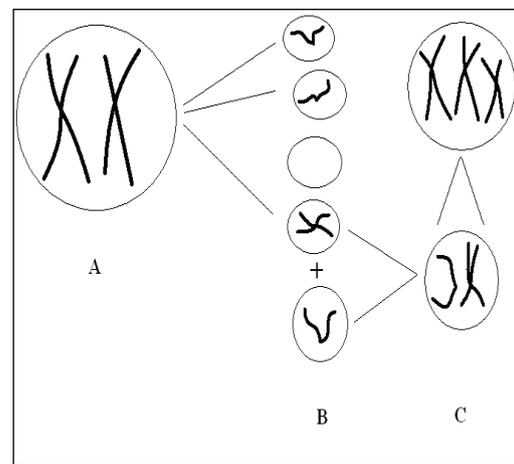


Abbildung 6: Entstehung triploider Zellen

Polyploide Zellen besitzen im Gegensatz dazu einen Zellkern, der mehr als zwei homologe Chromosomensätze besitzt. Polyploide Nachkommen entstehen, wenn während der Meiose ein Fehler passiert und nicht reduzierte, also diploide Gameten entstehen, die denselben Chromosomensatz wie eine somatische Zelle der Elternpflanze haben. Verschmelzt ein diploider Gamet mit einem haploiden Gamet entsteht eine triploide Zelle (Abb.6 BC). Triploide Individuen sind in der Regel nicht lebensfähig oder zumindest nicht fertil, da ihre Chromosomen während der Meiose nicht gleichmäßig auf die Tochterzellen verteilt werden können. Die Voraussetzungen für sexuelle Fortpflanzung und Bildung von stabilen Populationen besitzen folglich nur jene Pflanzen, bei denen die Gameten

nach der Verschmelzung Zygoten mit geradem Chromosomensatz entstehen lassen.

Bei Höheren Pflanzen ist Polyploidie ein weit verbreitetes Phänomen. So durchliefen 70% der Gefäßpflanzen und 95% der Farnarten während ihrer Entwicklungsgeschichte zumindest einmal eine Polyploidisierung (Soltis & Soltis, 1999; Otto & Whitton, 2000).

Entstehen polyploide Individuen innerhalb der Artgrenze spricht man von Autopolyploidie. Von Allopolyploidie spricht man dann, wenn die Polyploidisierung der Kreuzung zweier Arten folgt.

Polyploidisierung kann zu morphologischen und physiologischen Unterschieden führen, wodurch jeder Zytotyp (ein Zytotyp gibt Auskunft über die vorhandene Anzahl der Chromosomensätze des Individuums oder der Individuengruppe/Sippe) andere Ansprüche an die Umwelt stellen kann, was wiederum zu ökologischer Einnischung führt (Mable, 2003). Es wird angenommen, dass polyploide Individuen zumeist eine weitere ökologische Toleranz aufweisen als ihre diploiden Vorfahren, da sie die Elterngene kombinieren (Brochmann et al., 2004). Die Polyploidisierung wurde früher als „dead end“ (Stebbins, 1971) der Evolution angesehen, heute sieht man darin ein großes Potential (Soltis & Soltis, 1995).

Gebiete wo mehrere Zytotypen gemeinsam vorkommen, kann man je nach ihrer Entstehung einteilen in:

Primäre Hybridzone:

Polyploide Individuen entstehen rezent **innerhalb** einer diploiden Population (sympatrisch), wodurch nahe verwandte Individuen verschiedener Ploidiestufen im selben Gebiet vorkommen.

Sekundäre Hybridzone:

Populationen unterschiedlicher Ploidiestufen gewinnen nach einer längeren Zeit der Trennung (allopatrische Phase) wieder Kontakt. Die genetischen Unterschiede zwischen Individuen verschiedener Zytotypen sind daher größer als bei primären Hybridzonen. Bestehende Hybridzonen werden größtenteils als sekundäre Hybridzonen angesehen (Petit et al., 1999).

Die Koexistenz verschiedener Zytotypen kann temporär sein, weil ein Zytotyp aufgrund seiner Häufigkeit (in primären Hybridzonen sind dies immer die diploiden Individuen) oder Konkurrenzstärke den anderen verdrängt. Der seltenere Zytotyp erhält dabei überproportional viele Pollen des häufigeren Zytotyps. Die Nachkommen besitzen in der Folge einen ungeraden Chromosomensatz und können nicht zum Erhalt des Zytotyps beitragen. Die Populationsgröße des selteneren Zytotyps nimmt folglich ständig bis zum Verschwinden ab (Levin, 1975).

Kreuzungsbarrieren ermöglichen eine dauerhafte Koexistenz mehrerer Zytotypen. Solche Barrieren müssen auch bei *S. carniolicus* zum Tragen kommen, da trotz zahlreicher Hybridzonen und umfangreicher Untersuchungen nur sehr wenige Individuen mit ungeradem Zytotyp gefunden wurden (Suda et al., 2007).

Im Verlauf des Reproduktionszyklus gibt es verschiedene Möglichkeiten der reproduktiven Trennung von Zytotypen in Hybridzonen:

- Ökologische Faktoren

Unterschiede im **Blühzeitraum** können eine direkte oder indirekte Konsequenz der Polyploidisierung sein (Lumaret et al., 1987; Felber, 1998; van Dijk et al., 1992). Dabei kann eine Verschiebung des Blühzeitpunktes von verschiedenen Faktoren gesteuert werden. Einnischung durch unterschiedliche **Umweltansprüche** (z.B. Kältetoleranz), welche im Besiedlungsmuster erkennbar ist. Unterschiedliche Zytotypen können sich das Habitat aufteilen und bilden so ein Mosaik (Mosaikbesiedlung) welches die Umweltansprüche der verschiedenen Zytotypen und die unterschiedlichen Mikroklimata des Geländes widerspiegelt.

- Steigerung der Selbstbefruchtung der Polyploiden im Vergleich zu den Diploiden (Stebbins, 1950). Durch die Vervielfachung der Chromosomensätze werden, einigen Studien zufolge auch die Selfincompatibility-Systeme geschwächt bzw. ausgeschalten (Stone, 2002; Charlesworth & Charlesworth, 1987). Mable (2004) hingegen findet keinen Zusammenhang zwischen Polyploidie und Selbstinkompatibilität.

- Gametenselektion ist eine Fortpflanzungsbarriere, die zwischen Bestäubung und Befruchtung wirkt. Sie entsteht durch verminderte Keimfähigkeit des Pollens auf der Narbe, langsames Pollenschlauchwachstum oder eingeschränkte Befruchtungsfähigkeit des Pollens anderer Zytotypen (Chapman et al., 2005). Bei *Chamaerion angustifolium* z.B. wurde gezeigt, dass sich Pollenkonkurrenz innerhalb weniger Generationen bilden kann und somit ein geeignetes Mittel zur Minimierung von Hybridisierungen zwischen Ploidiestufen darstellt. (Husband et al., 2002).
- Verminderte Vitalität hybridogener Nachkommen /postzygotische Selektion
 Hierbei handelt es sich um Isolationsmechanismen, welche erst nach der Befruchtung zu tragen kommen und zu reduzierter Fitness der entstehenden Hybride führen. Auch dieses Phänomen scheint in Hybridzonen relativ häufig vorzukommen (Pannell et al., 2004)

3.2 Selbstinkompatibilität

Selbstkompatible Pflanzen (SC) können sich selbst befruchten und fruchtbare Nachkommen produzieren. Im Gegensatz dazu beschreibt die Selbstinkompatibilität (engl. self-incompatibility, SI) die Fähigkeit von Pflanzen, eine Befruchtung durch den eigenen Pollen oder durch Pollen mit denselben inkompatiblen Allelen zu verhindern. Dabei ermöglicht der polymorphe S-Genlocus die Pollen-Narben Erkennung. Selbstinkompatibilität verhindert Nachteile durch Verlust der genetischen Vielfalt und die Ausbildung rezessiver Merkmale bei homozygoten Nachkommen. Die Verringerung genetischer Vielfalt beeinträchtigt die Anpassungsfähigkeit der Nachkommen (Lloyd, 1992). Selbstinkompatibilität ist ein weit verbreiteter Mechanismus und kommt bei ca. 60% aller Höheren Pflanzen vor (Hiscock & Kües, 1999).

Es werden mehrere SI Formen unterschieden, die zwei wichtigsten sind die gametophytische SI (**GSI**) und die sporophytische SI (**SSI**).

Bei der GSI exprimiert die Narbe beide Allele des s-Locus, während im (haploiden) Pollen nur ein Allel exprimiert wird. In einer Population kann es viele verschiedene S-Allele geben, welche als S_1 , S_2 , S_3 , usw. bezeichnet werden. Stimmt das S-Allel des Pollens mit einem der beiden weiblichen überein, wird eine Befruchtung verhindert (Kearns & Inouye, 1993). Daraus folgt, dass 2 Individuen voll kompatibel sein können, wenn keine Übereinstimmung (z.B. ♀ S_1, S_2 x ♂ S_3, S_4) der S-Allele vorliegt, dann sind alle Pollen zur Befruchtung fähig. 2 Individuen können semikompatibel sein, dabei besitzt die Hälfte der Pollen dasselbe S-Allel wie die weibliche Pflanze (♀ S_1, S_2 x ♂ S_1, S_3), nur für 50% der Pollen (S_3) ist eine Befruchtung möglich. Die letzte Möglichkeit ist eine totale Unfruchtbarkeit zwischen zwei Bestäubungspartnern, wenn beide S-Allele übereinstimmen (♀ S_1, S_2 x ♂ S_1, S_2) (Richards, 1986).

Bei der SSI werden die Substanzen von der Anthere auf die Pollen übertragen, dadurch zeigen alle Pollenkörner einer Pflanze denselben Phenotyp. Die Proteine werden in der Exine, zwischen Exine und Intine oder in eigenen Lücken in der Exine eingebaut und mit Lipoproteinen in Stellung gehalten (Richards, 1986). Die SI der Asteraceae wird durch SSI gewährleistet (Hiscock & McInnis, 2003).

Eine weitere Möglichkeit die Selbstbefruchtung zu erschweren, stellt die kryptische SI dar (Kearns & Inouyne, 1993). Dabei handelt es sich um selbstkompatible Pflanzen, welche in der Lage sind, den Pollenschlauch des eigenen Pollens langsamer wachsen zu lassen als jenen der fremden Pflanzen.

Einige Pflanzen bilden unterschiedliche Blütenmorphen aus, sog. heteromorphe SI. Die Befruchtung kann bei geeignetem Bestäuber nur zwischen zwei unterschiedlichen Blütenmorphen ablaufen (Kearns & Inouye, 1993).

Andere Mechanismen zur Verhinderung überlebensfähiger Nachkommen durch Selbstbefruchtung, z.B. durch Letal-Gene, kommen auch bei Niederen Pflanzen wie Farnen und Gymnospermen vor. Ob nach erfolgter Selbstbefruchtung noch von SI gesprochen werden kann, ist umstritten

Baker (1955, 1967) stellte die Hypothese auf, dass die Neubesiedelung von Inseln überwiegend durch selbstkompatible Arten erfolgt (Baker's rule). Tatsächlich besitzen viele Erstbesiedler hohe Selbstbefruchtungsraten (Pannel & Barrett, 1998).

In letzter Zeit kommt man immer mehr von der Vorstellung ab, dass Pflanzen mit SI 100% fremdbestäubt sind (Stephenson et al. 2000). Beobachtungen zeigen, dass auch SI-Arten eine Selbstbefruchtungsrate von bis zu 29% aufweisen können (Lande & Schemske, 1985). Es wurde die Wichtigkeit der Flexibilität in SI-Populationen hervorgehoben, welche durch die latente Fähigkeit zur Selbstbefruchtung gewährleistet ist (Levin, 1996; Hiscock, 2000). So haben auch SI-Arten die Fähigkeit der Neubesiedelung von Gebieten.

Stebbins (1950) zeigte, dass Selbstkompatibilität bei Polyploiden häufiger als bei diploiden Individuen auftritt. Er vermutet weiter, dass junge polyploide Sippen nur auf diese Weise genügend Kreuzungspartner finden. Lande und Schemske (1985) ergänzen, dass nachteilige Effekte der Inzucht bei Polyploiden durch mehrere Genkopien abgeschwächt werden. Im Gegensatz dazu kann Mable (2004) keinen Zusammenhang zwischen SI-Verlust und Polyploidie feststellen. Stone et al. (2006) entdeckte, dass durch Verdoppelung des S-Locus im Zuge der Polyploidisierung das Pollen SI-System unterdrückt wird.

4. Versuchspflanze: *Senecio carniolicus*

Senecio carniolicus Willd. (Krainer Greiskraut, Gelber Speik) ist eine Asteraceae und gehört zur Sektion Jacobaea. Diese Art ist in den Ostalpen (östliche Schweiz, Italien, Österreich, Slowenien) und den Karpaten (Polen, Slowakei, Rumänien) heimisch (Suda et al., 2007). Es ist eine alpin bis subnival verbreitete, acidophile, perenne Pflanze, welche häufig in Rasen, Moränen, Felsspalten, Heiden und Schuttflächen (Fischer et al., 2005) bis zu einer Meereshöhe von 3300m (Reisigl & Pitschmann, 1958) vorkommt. Die Blätter der Grundrosette dieses Hemikryptophyten sind gelappt und mit einem mehr oder weniger dichten Graufilz bedeckt, können jedoch auch fast kahl sein (Charter & Walters, 1976) (Abb.27). Der Blühtrieb von *S. carniolicus* erreicht eine Höhe von 5 bis 20 cm und trägt meist 3-12 Körbe, welche zwischen Juni und September lebhaft dottergelbe Blüten hervorbringen (Fischer et al., 2005) (Abb.28 & 29). Die Achänen von *S. carniolicus* sind nicht behaart (Charter & Walters, 1976). Einen Überblick über nah verwandte Arten von *S. carniolicus* liefert Abb.8.

S. carniolicus wurde häufig als Unterart von *Senecio incanus* L., welcher in den Westalpen und im Nordapennin vorkommt, aufgefasst. Die beiden Sippen sind allerdings hinsichtlich ihrer Morphologie, Zytologie und Molekularstruktur (DNA-Sequenzen und AFLPs) (Hess et al., 1980; Schönswetter et al., unpubliziert) deutlich verschieden. Typische Individuen von *S. incanus* haben stärker gelappte Blätter mit dichter seidiger Behaarung, die dichter ist als jene von *S. carniolicus* und die Achänen sind behaart.

Früher wurde angenommen, dass alle Individuen der Art *Senecio carniolicus* hexaploid sind (Favarger, 1964). Ausführliche neuere Studien zeigten jedoch, dass drei Hauptzytotypen – diploide (2x), tetraploide (4x) und hexaploide (6x) Individuen – vorkommen (Suda et al., 2007). Die Tetra- und Hexaploiden sind vermutlich durch Autopolyploidisierung aus den Diploiden entstanden (Suda et al., 2007). Neben diesen Hauptzytotypen kommen auch Individuen mit ungeraden Ploidiestufen (5x, 7x) mit einer Häufigkeit von <1,3% vor (Suda et al. 2007).

Während in den Karpaten ausschließlich hexaploide Individuen gefunden wurden, erweist sich die Zytotypenverteilung in den Alpen als komplex. Diploide sind in den Ostalpen weit verbreitet, in der Mehrzahl der Populationen kommen diese zusammen mit Polyploidien vor, meist zusammen mit Hexaploidien. Populationen mit ausschließlich diploiden Individuen sind im Wesentlichen auf die Alpi Lepontine und westliche Teile der Alpi Bergamasche, die östlichen Hohen Tauern und die Karawanken beschränkt. Tetraploide kommen in zwei disjunkten Gebieten vor, welche sich auf die eisfreien Rückzugsgebiete für silikatische Alpenpflanzen während des Pleistozän beschränken. Hexaploide und Diploide waren hingegen bei der Wiederbesiedlung ehemals vereister Gebiete erfolgreicher (Suda et al., 2007). In zentralen, besonders stark vergletscherten Teilen des Verbreitungsgebiets ist der hexaploide Zytotyp besonders häufig. Nähere Informationen zu Vorkommen und Verbreitung der einzelnen Zytotypen finden sich in Abb.7. Sympatrische Populationen, das sind Populationen, die sich aus zumindest zwei Zytotypen zusammensetzen, sind dabei mit 28,6% im Vergleich mit bisher untersuchten Arten/Polyploidiekomplexen sehr häufig (Suda et al., 2007).

Schönswetter et al. (2007) konnte zeigen, dass in sympatrischen Populationen die Zytotypen unterschiedliche ökologische Nischen besetzen. Während sich Hexaploide auf die alpine Zone beschränken, kommen Diploide auch in höheren Lagen vor. Hingegen scheinen hexaploide Individuen in Populationen mit ausschließlich einem Zytotyp die gesamte Höhenamplitude der Art zu besiedeln, also auch jene höheren Lagen, welche bei gemischten Populationen ausschließlich von diploiden Individuen besetzt sind (Schönswetter et al. unpubl.). In Populationen mit allen Haupt-Zytotypen besiedeln die Tetraploidien die unteren Zonen und den oberen Bereich teilen sich Diploide und Hexaploide. (Suda et al., 2007).

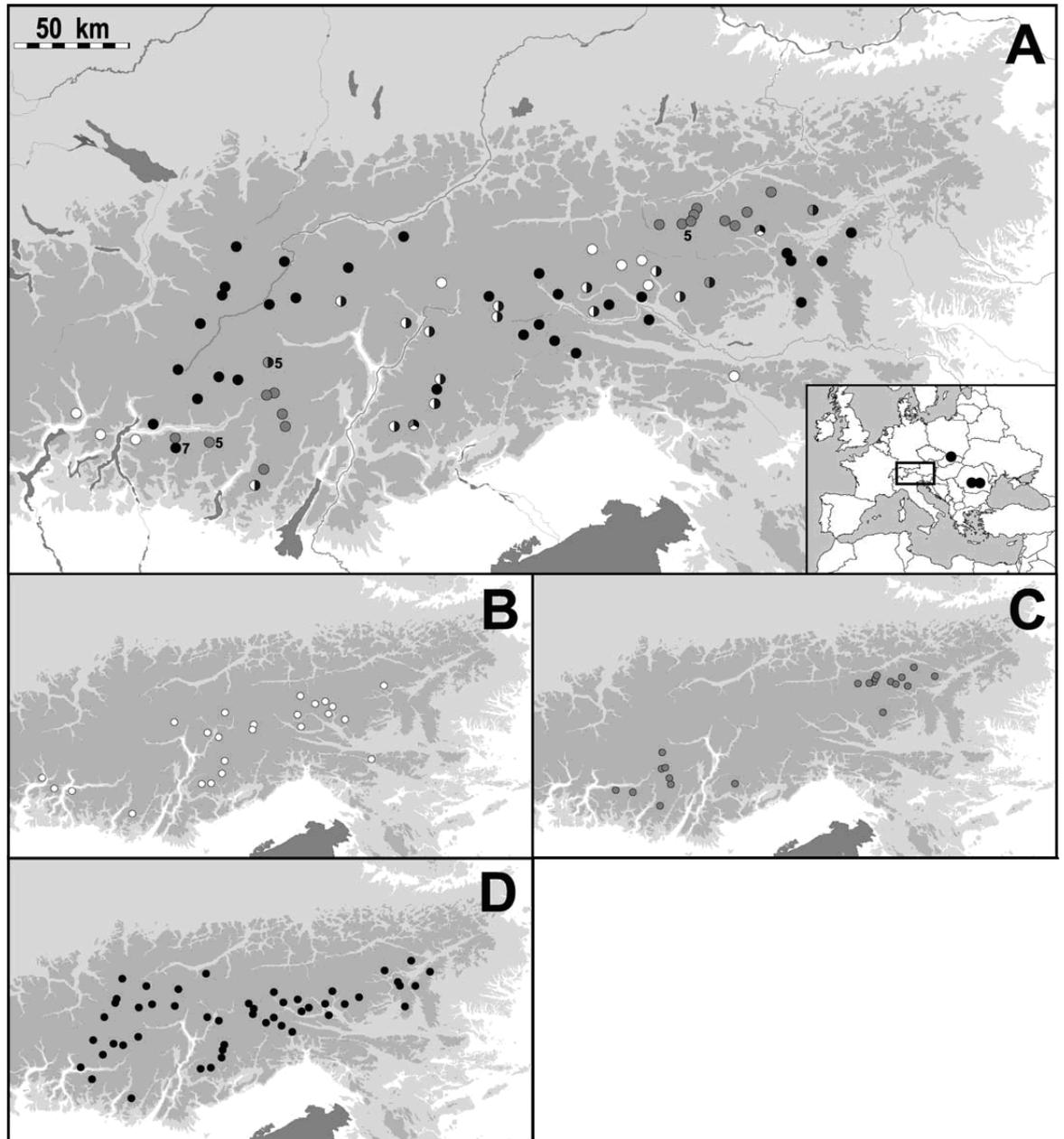


Abbildung 7: Verbreitung der Hauptzytotypen von *Senecio carniolicus* in den Ostalpen (A) und in den Karpaten (Punkte im Insert) (aus Suda et al., 2007): Diploide (weiß), Tetraploide (grau), Hexaploide (schwarz). Sympatrische Populationen sind durch Kombinationen der entsprechenden Farben dargestellt. Aberrante Zytotypen sind durch die Angabe der Ploidiestufe (5 oder 7) gekennzeichnet. B zeigt separat das Vorkommen der Diploiden, C der Tetraploiden und D der Hexaploiden (sowohl in reinen als auch in gemischten Populationen).

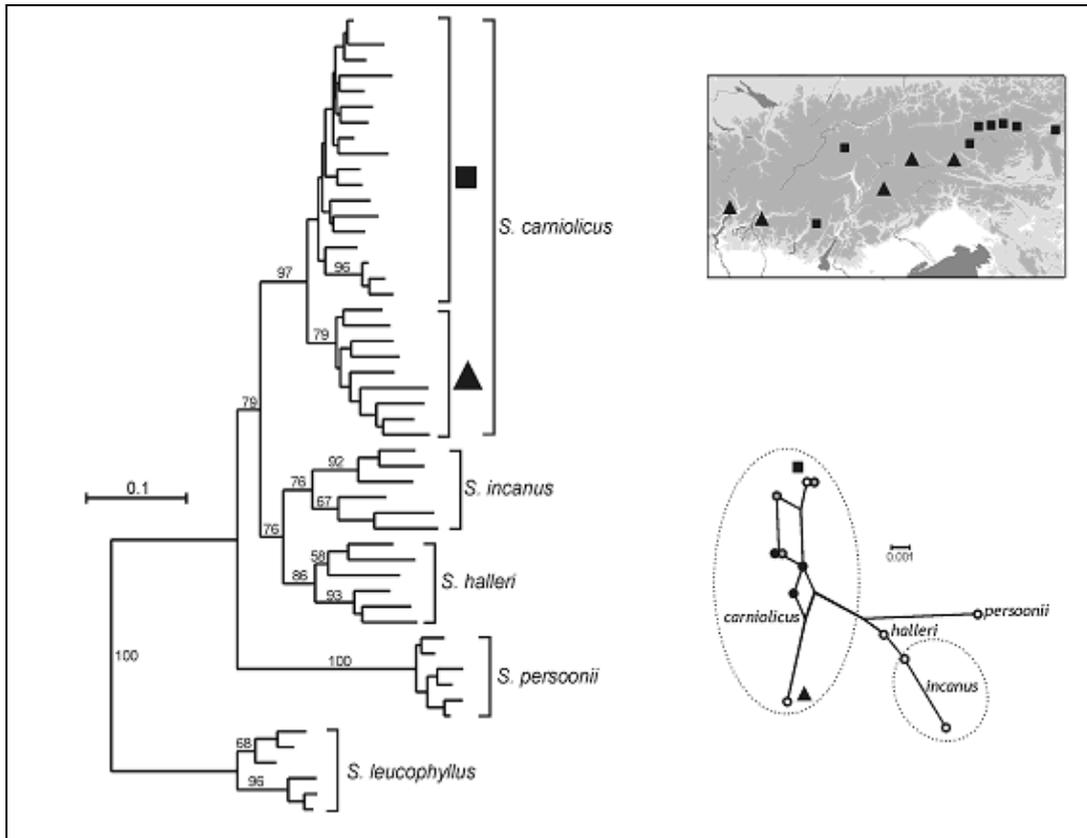


Abbildung 8: Verwandte Arten von *S. carnioleus*, mit zwei diploiden Linien innerhalb der Art (dargestellt mit Dreiecke oder Quadrate) die tetra- und hexaploiden Individuen (mit grauen und schwarzen Kreisen dargestellt) nehmen eine Position zwischen den diploiden Individuen ein. Die linke Darstellung basiert auf AFLP und die rechte auf ITS-Daten. (aus Schönswetter, unpubl.)

5. Methodik

5.1 Probennahme

Es wurden drei Populationen von *S. carniolicus* besammelt, eine davon in Österreich (Turracher Höhe N 46°55' E 13°51') die anderen zwei in Südtirol, Italien (Plose N 46°41' E 11°43', Stilfser Joch N 46°32' E 10°27') (siehe Abb. 2). In den Sammelgebieten Turracher Höhe und Stilfser Joch kommen die Zytotypen 6x und 4x, auf der Plose die Zytotypen 6x und 2x vor. Da die Bestimmung des Zytotyps vor Ort auf der Basis morphologischer Merkmale kaum möglich ist, wurden pro Population um die 60 Individuen gesammelt um von jedem Zytotyp mindestens 20 Individuen für die nachfolgenden Experimente zur Verfügung zu haben. Um die Wahrscheinlichkeit alle Zytotypen zu erfassen zu erhöhen, wurde auf eine gleichmäßige und zufällige Verteilung der Individuen über die gesamte besammelte Population geachtet. Beim Sammeln wurden Pflanzen mit bereits sichtbarem Blühtrieb bevorzugt. Die Pflanzen wurden mit einer Identifikationsnummer versehen und die zugehörigen GPS-Koordinaten bestimmt. Die Entnahme der Pflanzen erfolgte mittels Unkrautstechern unter maximal möglicher Schonung der Wurzeln. Der Transport erfolgte in Plastikbeuteln. Im Versuchsgarten (Meran; 46° 40' 0" N, 11° 10' 0" E, 350m.ü.M.) wurden die Pflanzen rasch aus den Plastikbeuteln in Blumentöpfe (Ø 10cm) gepflanzt (Abb. 25). Das notwendige Substrat wurde im jeweiligen Sammelgebiet entnommen. Die Identifikationsnummer der Individuen wurde auf Plastikfähnchen übertragen, auf denen später alle wichtigen Informationen vermerkt werden konnten (Abb.23).

5.2 Ermittlung des Zytotyps

Ein Blatt jedes Individuums wurde zur Ermittlung des Zytotyps ins *Institute of Botany, Academy of Sciences, Pruhonice, Tschechien* geschickt. Aus Gründen der Haltbarkeit wurden ältere Blätter gewählt. Die Blätter wurden einzeln in nummerierte Teefilter verpackt (vgl. die Abbildung der verwendeten Transportbehälter im Anhang) und als Frischproben ins Labor geschickt (Abb.24). Die Durchflusszytometrie (engl. Flow cytometry) (für genauere Informationen: <http://www.ibot.cas.cz/fcm>, Juni 2009; Suda et al., 2007) ist eine relativ neue Methode und kommt seit einigen Jahren vermehrt zum Einsatz wenn es darum geht Zytotypen zu bestimmen, da diese Methode schneller ist als die früher verwendeten (Doležel & Bartoš, 2005).

Diese Methode ermöglicht die optischen Eigenschaften bestimmter, DAPI-gefärbter (4',6 diamidino-2-phenyl-indole) isolierter Partikel (Zellen, Kerne, Chromosomen) zu erfassen. Eine Lichtquelle (Laser oder Dampf lampen, in unserem Fall eine Quecksilber-Dampf-Lampe) emittiert monochromatisches Licht, welches im zentralen Teil des Durchflusszytometers fokussiert wird und auf das zu analysierende Objekt trifft. Dadurch bildet jenes Streulicht, welches auf Photodetektoren trifft. Dort werden die optischen Signale in elektrische Signale umgewandelt, welche von einem angeschlossenen Computer gespeichert und analysiert werden. So können unbekannte Zytotypen durch Vergleich mit Kontrollwerten (*Pisum sativum*) erfasst werden, auch wenn die genaue Chromosomenanzahl nicht bekannt ist (Suda et al., 2007).

5.3 Bestäubungsexperiment

Der terminale Korb jeder Pflanze wurde zur Identifizierung mit einem dünnen Blumendraht markiert. Von jeder Pflanze wurde ein nicht-terminaler Korb zu einem Zeitpunkt entnommen, an dem noch alle Blüten geschlossen waren und in 3:1 Alkohol-Essigsäure-Lösung fixiert. Dadurch wird gewährleistet, dass alle Pollenkörner zur Bestimmung der Pollen/Ovule-Ratio verfügbar sind. Die Körbe wurden mit einer Präpariernadel etwas geöffnet, um ein besseres Eindringen der Fixierlösung zu gewährleisten.

Ausgehend von 20 Individuen pro Zytotyp sollten 10 Fremdbestäubungen und 10 Selbstbestäubungen durchgeführt werden. Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Pflanzenpflege kamen nur wenige Pflanzen zur Blüte und so stand nur mehr eine geringe Individuenzahl für die Versuche zur Verfügung. Pflanzen mit mehr als einem Blühtrieb wurden deshalb sowohl fremd- als auch selbstbestäubt. Dabei wurden die Triebe welche selbstbestäubt werden sollten mit einer Farbe markiert und jene die fremdbestäubt werden sollten mit einer anderen. Zur Bestäubung standen folgende Anzahlen an Individuen zur Verfügung:

		Plose	Turracher Höhe	Stilfser Joch
Selbst bestäubt	2x	29	_____	_____
	4x	_____	1	10
	6x	7	2	8
Fremd bestäubt	2x	26	_____	_____
	4x	_____	0	2
	6x	4	0	0

Tabelle 1: Anzahl der bestäubten Individuen, eingeteilt nach Selbstbestäubung und Fremdbestäubung.

Zur Fremdbestäubung wurden die terminalen Körbe je zweier Pflanzen aneinander gerieben. Die Paare setzten sich immer aus zwei Individuen desselben Zytotyps des gleichen Sammelgebietes und übereinstimmenden Blühbeginns zusammen. Der Paarungspartner wurde auf dem Plastikfähnchen vermerkt.

Zur Selbstbestäubung wurden Wattestäbchen zum Pollentransfer verwendet, welche jeden zweiten Tag ersetzt wurden. Die Bestäubungsversuche wurden 2-3-mal täglich durchgeführt bis bei allen Blüten die Anthese abgeschlossen war.

Um ungewollte Pollenübertragung zu vermeiden, mussten Insekten während der Anthese von den Versuchspflanzen ferngehalten werden. Dafür standen mit Chiffon-Stoff bespannte Holzgestelle (Abb. 22) zur Verfügung, welche schnell und sicher geöffnet und geschlossen werden konnten (Maße: 150x100x30cm). Die Pflanzen wurden ein oder zwei Tage vor der Blüte, bis zwei Tage nach der Blüte in den insektensicheren Käfigen belassen (insgesamt eine Woche, Abb.26).

Zum Zeitpunkt der Samenreife wurden jene Körbe, die an einer Bestäubung beteiligt waren mit einer Schere abgeschnitten und in trockenem Zustand bei Zimmertemperatur einzeln in Papiertüten gelagert.

5.4 Arbeiten im Labor

Die unter Punkt 3 beschriebenen Fixierungen wurden verwendet um im Labor den Durchmesser der Pollenkörner und die Pollen/Ovule-Ratio zu ermitteln. Die analysierte Individuenzahl und der jeweilige Herkunftsort kann der Tabelle 2 entnommen werden.

A) Ermittlung der Pollen/Ovule-Ratio

Bei der Pollen/Ovule-Ratio handelt es sich um das Verhältnis der Anzahl an Pollen und Eizellen einer Blüte. Um diese zu ermitteln wurde aus jedem fixierten Korb eine einzelne Blüte entnommen, auf einen Objektträger gelegt und mit einem Tropfen Azokarmin versetzt. Anschließend wurde der Objektträger über einer Flamme erhitzt um eine schnellere Reaktion des Farbstoffes mit dem Gewebe zu erreichen. Das wurde gemacht um lebende von toten Pollen unterscheiden zu können. Da sich nur lebende Pollen mit Azokarmin rot färben, können lebende und tote Pollenkörner unterschieden werden. Unter dem Binocular wurden mit Hilfe von Präpariernadeln die fünf Antheren voneinander getrennt, nebeneinander aufgelegt und mit einem Deckglas abgedeckt. Dabei

wurde darauf geachtet, dass sich die Antheren nicht öffnen, da ausgetretene Pollenkörner nicht mehr zugeordnet werden können. Bei etwaigem Austreten von Pollenkörnern konnte das Präparat zwar zur Vermessung der Pollen verwendet werden, für die Ermittlung der Pollen/Ovule-Ratio musste aber ersatzweise eine etwas weniger weit entwickelte (kleinere) Blüte desselben Korbes verwendet werden. Anschließend stand das Präparat (mit einem Tropfen Öl versehen) für die Bestimmung der Pollenanzahl von vier Antheren pro Individuum unter dem Lichtmikroskop bereit (Abb. 30). Diese Vorgehensweise wurde auf 10 diploide, 10 tetraploide und 16 hexaploide Individuen angewandt.

Die P/O-Ratio wird durch Dividieren der Pollenanzahl durch die Anzahl der Eizellen in derselben Blüte ermittelt (Cruden, 1976). Bei *S. carniolicus* besitzt jede Blüte nur eine funktionelle Eizelle, somit stellt die Anzahl der Pollen pro Blüte bereits die P/O-Ratio dar.

Die P/O-Ratio wird von Cruden (1976) als einer der wichtigsten Indikatoren für das Fortpflanzungssystem („breeding system“) und gleichzeitig auch für den Sukzessionsstand der Population angesehen, wobei dieser Methode eine größere Genauigkeit beigemessen wird als blütenmorphologischen Untersuchungen. Es wird angenommen, dass es das Ziel jeder Pflanze ist gerade so viele Pollen zu produzieren um eine maximale Samenproduktion zu gewährleisten. Folglich werden selbstbefruchtete (autogame) Arten ein geringeres P/O-Verhältnis haben, da der Pollentransport eher gewährleistet ist. Bei fremdbefruchteten Arten ist die Pollenübertragung unsicherer und deshalb werden mehr Pollen gebildet um eine Befruchtung sicherzustellen (Cruden, 1976). Cruden (1976) zeigte, dass sich die eine P/O-Ratio von kleisto- über auto- zu xenogam exponentiell erhöht. Er unterschied dabei 5 Gruppen (Tab.2).

Fortpflanzungssystem	P/O-Ratio	Log P/O-Ratio
Kleistogam	4.7 ± 0.7	0.65 ± 0.07
Obligat Autogam	27.7 ± 3.1	1.43 ± 0.05
Fakultativ Autogam	168.5 ± 22.1	2.15 ± 0.06
Facultativ Xenogam	796.6 ± 87.7	2.81 ± 0.05
Xenogam	5859.3 ± 936.5	3.65 ± 0.06

Tabelle 2: Klassifizierung des Fortpflanzungssystems anhand des Verhältnisses der Anzahl der Pollenkörner und Eizellen (Cruden 1976, verändert).

Neben dem Fortpflanzungssystem weist das P/O-Verhältnis auch auf den Sukzessionspunkt der Pflanze hin, wobei es mit fortschreitender Sukzession ansteigt (Cruden, 1976). Je länger eine Pflanze in einem Gebiet ansässig ist desto mehr Pollenkörner bildet sie.

B) Vermessen der Pollenkörner

Für die Größenermittlung werden reife Pollen benötigt. Sofern die Pollenkörner der unter A) angefertigten Präparate sich im Zustand der Reife befanden, konnte das vorhandene Präparat für die Vermessung verwendet werden. Andernfalls wurde eine weiter entwickelte, größere Blüte desselben Individuums präpariert und gefärbt. Um die Vermessung zu erleichtern wurden die Antherenwände zerstört, wodurch die Pollenkörner in einer Ebene auf dem Objektträger zu liegen kamen. Wurde das bereits angefertigte Präparat verwendet, musste die Antherenwand nachträglich zerstört werden (durch sanftes Klopfen mit dem Bleistiftende auf das Deckglas). Anschließend wurde die Vermessung des Durchmessers von 50 Pollenkörnern pro Individuum unter dem Mikroskop mittels Okularmikrometer durchgeführt. Um Messfehler zu vermeiden, musste sichergestellt werden, dass die Pollenkörner während der Messung richtig fokussiert waren (Abb. 31).

5.5 Analysen und Statistik

Sowohl bei den Analysen der Pollengröße als auch jener der Anzahl an Pollenkörnern stammen von jeder Pflanze mehrere Messwerte, die als Cluster zusammengefasst werden. Für die Messwerte eines Clusters ist anzunehmen, dass sie untereinander ähnlicher sind als Messwerte von verschiedenen Clustern (Pflanzen). Um diesen clusterspezifischen Abhängigkeiten bei der statistischen Analyse Rechnung zu tragen, wurden Linear Mixed-Effects Models (LME) verwendet. Dabei handelt es sich um eine Erweiterung der Generalized Linear Models, die es erlauben, (nicht gemessene) clusterspezifische Terme in das Modell zu integrieren. Diese Terme nehmen für alle Messungen eines Clusters jeweils denselben Wert an und werden als random factors bezeichnet. Sie repräsentieren somit den Einfluss des Clusters (in unserem Fall der individuellen Pflanze) auf das Ergebnis bzw. deren Abweichung von einem hypothetischen Durchschnittscluster. Im Unterschied zu den „normalen“ Termen eines Linearen Modells, den sogenannten fixed factors, beziehen sich die random factors nicht auf eine definierte, durch den Versuchsansatz bestimmte und selbst bei unendlich großer Stichprobe sich nicht erhöhende Anzahl von Kategorien (Beispiel: Anzahl der Zytotypen), sondern auf eine zufällig gewählte Stichprobe von Clustern (Beispiel: die Pflanzen eines Zytotyps). Anzahl und Zusammensetzung der Cluster eines random factors können sich daher je nach verwendeter Stichprobe unterscheiden (Thompson, 2008). Durch die Verwendung dieser Modelle wird es möglich, verlässliche Tests auf signifikante Unterschiede der fixed effects auch bei ungleichen Stichprobengrößen innerhalb der einzelnen Cluster durchzuführen (Saavedra & Douglass, 2002).

Die Parameterbestimmung erfolgte unter Verwendung der Restricted Maximum Likelihood (REML). Es wurde keine bestimmte Form der random effect-Varianz-Kovarianzmatrizen (keine Korrelation innerhalb der Cluster) angenommen. Bei allen Modellen wurde als random factor nur das Interzept verwendet. Als Cluster wurden jeweils die Messungen an einer Pflanze behandelt. Die angegebenen Werte entsprechen der Anzahl an Beobachtungen/Fällen (nB), der Anzahl an

Clustern (nC), den Nenner-Freiheitsgraden, der t-Teststatistik und dem Signifikanzniveau.

Folgende Analysen wurden mittels LME angestellt:

- a) Vergleiche der Pollenkorngröße
 -) lebender und toter Pollenkörner zweier hexaploider Individuen
 -) der Ploidiestufen
 -) der Sammelgebiete tetraploider Individuen
 -) der Sammelgebiete hexaploider Individuen
 -) tetra- und hexaploider Individuen auf Stilfser Joch und Turracher Höhe
- b) Vergleiche der Anzahl der Pollenkörner je Anthere
 -) der Ploidiestufen
 -) der Sammelgebiete hexaploider Individuen
 -) tetra- und hexaploider Individuen des Stilfser Jochs

Die Abhängigkeit der Pollengröße von der Seehöhe des Wuchsortes wurde mittels Pearson-Korrelation untersucht. Außerdem wurde mittels einer ANOVA und anschließender Posthoc-Tests (Tukey's Honest Significant Difference) ermittelt, ob sich die Pollenkorngröße zwischen drei Höhenklassen gleicher altitudinaler Erstreckung unterscheidet.

Alle Analysen wurden mit Hilfe von R (R Development Core Team 2008) unter Verwendung der Zusatzbibliothek nlme (Pinheiro et al., 2008) durchgeführt.

6. Ergebnisse

Bei der Versuchsdurchführung lief nicht alles nach Plan (siehe Kapitel 7), Tabelle 2 liefert die Zahlen zu den jeweiligen Symptomen welche die Pflanzen zeigten. Individuen mit ähnlichen Symptomen wurden in Gruppen zusammengefasst auch wenn ihnen andere Ursachen zugrunde liegen. Es kann eine Pflanze keinen Blühtrieb ausgebildet haben, weil die Umstände dafür nicht gegeben waren oder aber der Blühtrieb kann durch Schädlinge abgebissen worden sein. Beides würde in die Gruppe „Pflanze bildet keinen Blühtrieb“ fallen.

	Turracher Höhe	Plose	Stilfser Joch
Pflanze bildete keinen Blühtrieb	64% (39 Individuen)	16% (13 Individuen)	12% (5 Individuen)
gesamte Pflanze gestorben	21% (13 Individuen)	19% (15 Individuen)	19% (8 Individuen)
Blühtrieb vor der Anthese abgestorben	8 % (5 Individuen)	19% (15 Individuen)	21% (9 Individuen)
Bestäubte Pflanzen	7% (4 Individuen)	46% (37 Individuen)	48% (20 Individuen)

Tabelle 2: Übersicht über Anzahl und Zustand der Pflanzen.

Von den wenigen Pflanzen die blühten, wurden bereits vor der Vollblüte Pollenproben entnommen, welche im Labor vermessen und ausgezählt wurden (Tab.3)

	diploid	tetraploid	hexaploid
Plose	10		10
Stilfser Joch		10	3
Turracher Höhe		1	3

Tabelle 3: Anzahl der im Labor analysierten Individuen, deren Zytotyp und Herkunft.

Die wenigen vorhandenen verblühten Körbe der Pflanzen sammelte und bewahrte ich in Papiertüten auf, bei genauerem Betrachten stellte sich jedoch heraus, dass die Pflanzen keine Samen gebildet haben.

Ergebnis der Samenernte = 0

6.1 Pollenkorngröße

Vergleich lebender und toter Pollenkörner

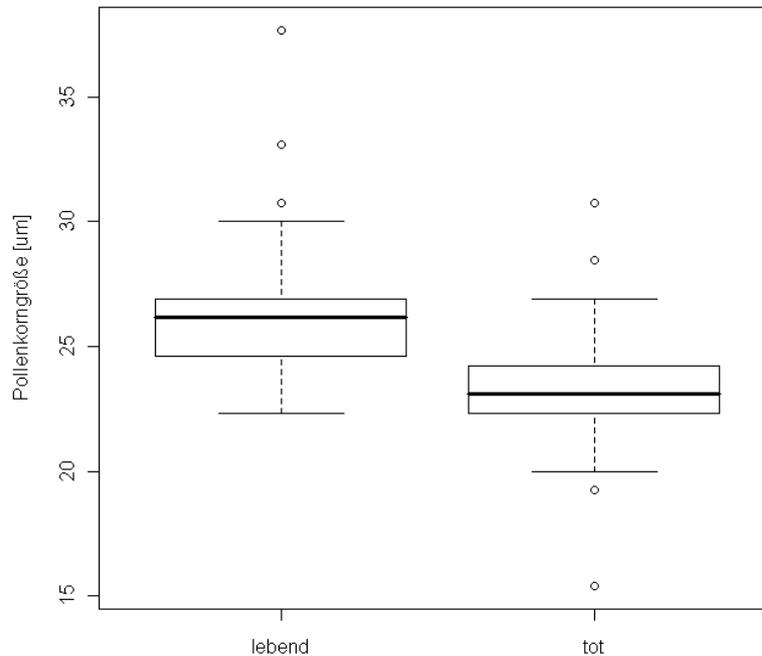


Abbildung 9: Vergleich der Größe gesunder und offensichtlich degenerierter Pollenkörner jener beiden hexploiden Individuen, die als Einzige degenerierte Pollenkörner zeigten. Bei Individuum Nr. 107 wurden 12 lebende und 79 tote gezählt, bei Individuum Nr. 108 51 lebende und 52 tote Pollenkörner ermittelt.

Tote Pollenkörner sind signifikant ($n_B=194$, $n_C=2$, $t=-8.87$, $df=191$, $p<0.001$) kleiner als lebende. Die Größe der lebenden Pollenkörner beträgt $26.2 \pm 2.8 \mu\text{m}$ (Mittelwert \pm Standardabweichung), jene der toten $23.2 \pm 2.0 \mu\text{m}$ (siehe Abb. 1). Aus diesem Grund werden die Daten der beiden Individuen bei denen tote Pollenkörnern vorkamen in die weiteren Vergleiche der Pollenkorngröße nicht einbezogen, bei der Analyse der Pollenkornanzahl (Kapitel 6.2) und der unreduzierten Pollenkörner (Kapitel 6.3) jedoch berücksichtigt.

Vergleich der Ploidiestufen

Abb.10 zeigt einen Vergleich aller untersuchten Individuen der Sammelgebiete und berücksichtigt ausschließlich lebende Pollenkörner.

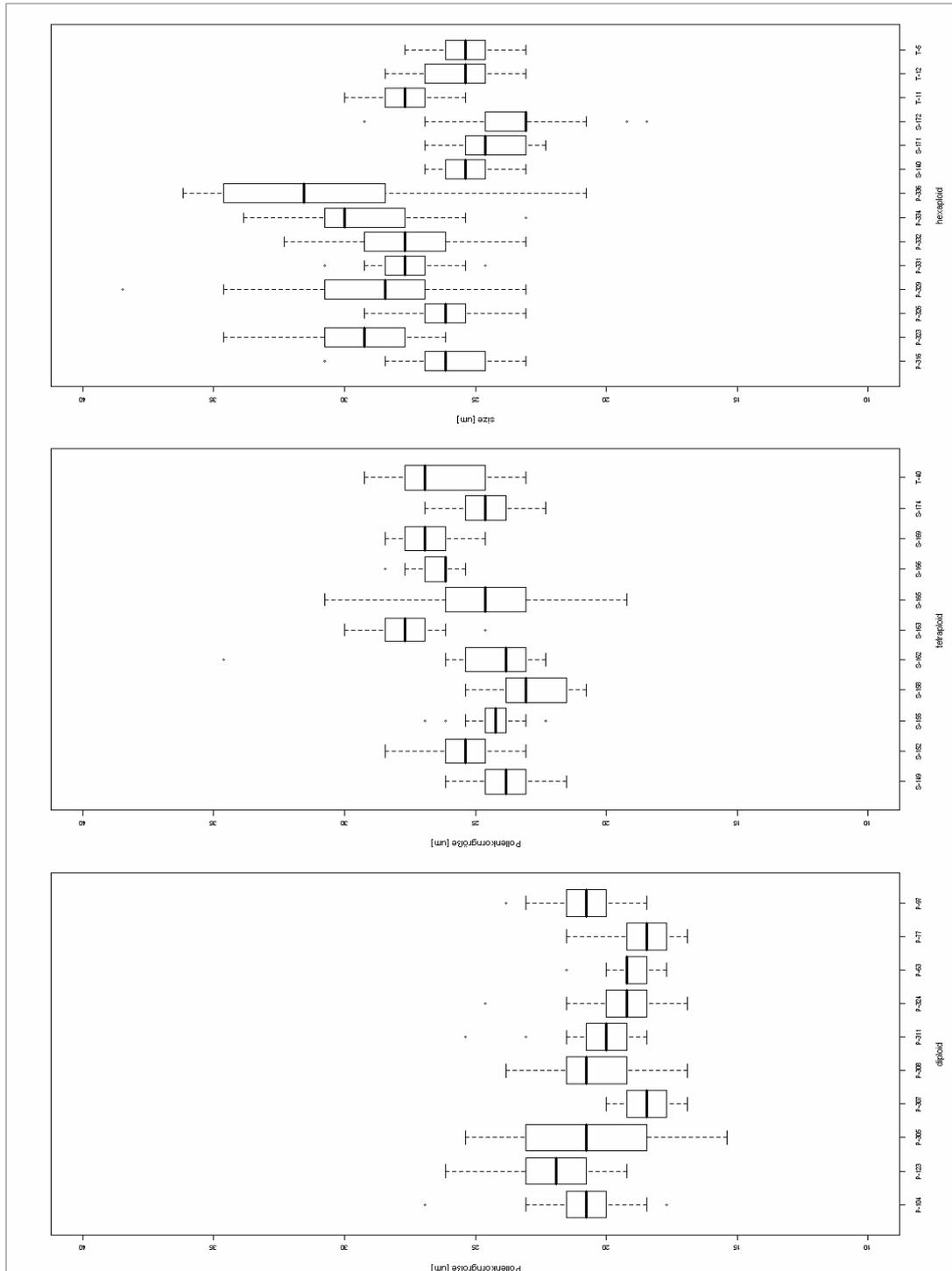


Abbildung 10: Übersicht der Pollenkorngößen aller Individuen. Die Buchstaben bezeichnen die Sammelgebiete (P=Plose, T=Turracher Höhe, S=Stilfser Joch), die Nummern entsprechen den Individuen.

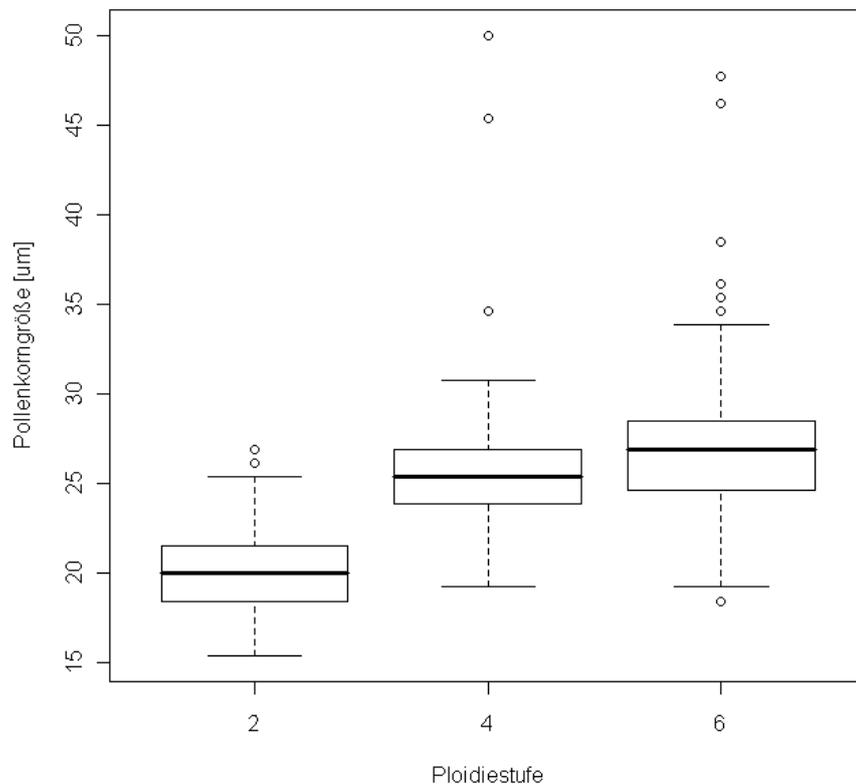


Abbildung 11: Pollenkorngrößen der drei Hauptzytotypen (2x, 4x, 6x) zusammengefasst für alle Sammelgebiete. Die Abbildung basiert auf der Vermessung von jeweils 50 Pollenkörnern pro Individuum von 10 diploiden, 11 tetraploiden und 14 hexaploiden Pflanzen.

Die drei Zytotypen unterscheiden sich signifikant bezüglich der Pollenkorngröße voneinander ($n_B=1750$, $n_C=35$, $df=32$; diploid - tetraploid: $t=7.04$, $p<0.001$; diploid – hexaploid: $t=9.73$, $p<0.001$; tetraploid – hexaploid: $t=-2.36$, $p=0.024$). Die Pollenkorngröße der diploiden Individuen beträgt $20.1 \pm 1.8 \mu\text{m}$, jene der tetraploiden: $25.3 \pm 2.4 \mu\text{m}$ und jene der hexaploiden: $27.0 \pm 3.1 \mu\text{m}$ (siehe Abb. 11).

Vergleich der Sammelgebiete

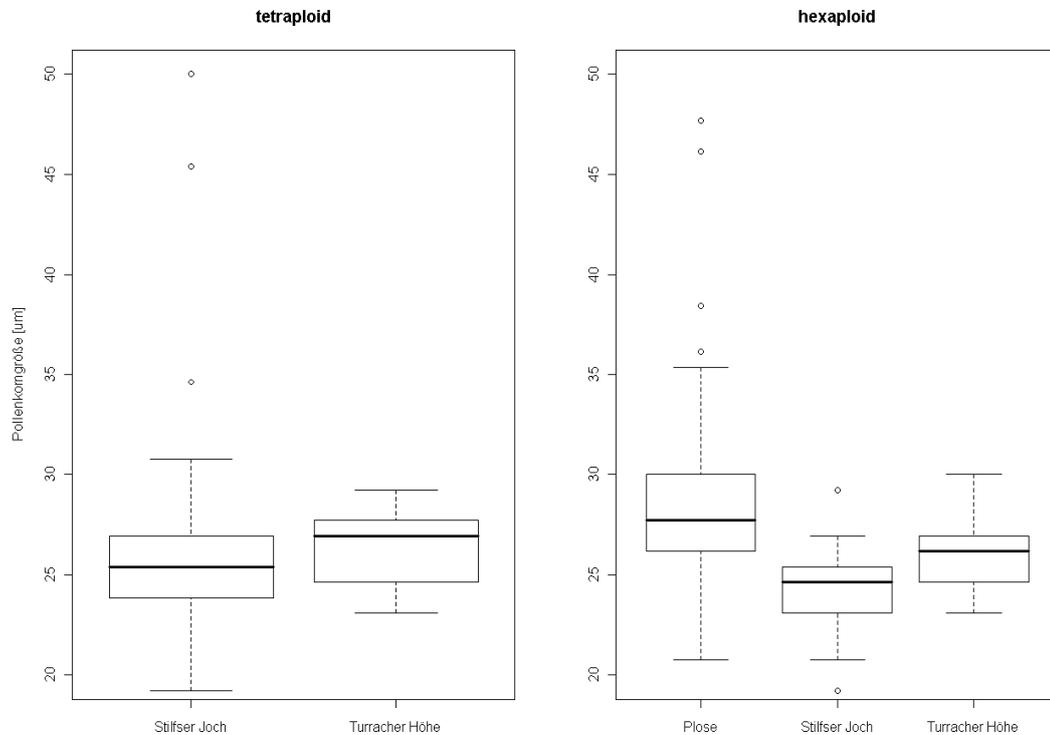


Abbildung 12: Vergleich der Pollenkorngröße von Individuen des gleichen Zytotyps zwischen den Sammelgebieten. Vom Stilsfer Joch wurden 10, von der Turracher Höhe 1 tetraploides Individuum vermessen. Für die Darstellung der hexaploiden Zytotyps wurden 8 Individuen von der Plose und jeweils 3 vom Stilsfer Joch und der Turracher Höhe verwendet.

Die Größe tetraploider Pollenkörner unterscheidet sich ($n_B=550$, $n_C=11$, $t=0.62$, $df=9$, $p=0.552$) zwischen den beiden Sammelgebieten nicht. Sie betrug am Stilsfer Joch $25.2 \pm 2.4 \mu\text{m}$ und auf der Turracher Höhe $26.2 \pm 1.8 \mu\text{m}$ (Abb. 12). Im paarweisen Vergleich der Sammelgebiete zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Größe hexaploider Pollenkörner von der Plose und vom Stilsfer Joch ($n_B=550$, $n_C=11$, $t=-3.62$, $df=9$, $p = 0.006$). Bei den Vergleichen Plose - Turracher Höhe ($n_B=550$, $n_C=11$, $t=-1.88$, $df=9$, $p=0.093$) und Turracher Höhe - Stilsfer Joch ($n_B=300$, $n_C=6$, $t=2.07$, $df=4$, $p=0.108$) ergaben sich hingegen keine signifikanten Unterschiede. Die Pollenkorngröße der 3 Sammelgebiete beträgt:

Plose $28.2 \pm 3.2 \mu\text{m}$, Stilfser Joch $24.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$ und Turracher Höhe: $26.1 \pm 1.7 \mu\text{m}$.

Es wurden weitere linear mixed-effects models durchgeführt um in sympatrischen Populationen auf Unterschiede der Pollenkorngröße zwischen tetraploiden und hexaploiden Individuen zu testen. Das Ergebnis zeigt, dass weder auf der Turracher Höhe ($n_B=200$, $n_C=4$, $t=-0.04$, $df=2$, $p = 0.972$) noch am Stilfser Joch ($n_B=650$, $n_C=13$, $t=-0.97$, $df=11$, $p = 0.351$) eine Unterscheidung möglich ist.

Seehöhe als mögliche Erklärung für die vorliegenden Größenunterschiede

Eine Korrelation zwischen Pollenkorngröße und Seehöhe des Fundorts zeigte einen hochsignifikant ($t=-9.86$, $df=698$, $p<0.001$) negativen Zusammenhang (Pearson-Korrelationskoeffizient: $r^2 = 0.12$). Um eventuelle Unterschiede zwischen Höhenstufen zu zeigen, wurde die Amplitude der Höhenverbreitung der hexaploiden Individuen in 3 gleiche Intervalle geteilt und die Pollengröße für jedes Intervall dargestellt (Abb. 5) und verglichen. Die ANOVA zeigte, dass sich die beiden Gruppen von niedriger Seehöhe nicht unterscheiden ($p = 0.339$). Die Gruppe mit der größten Seehöhe zeigte hingegen hochsignifikant kleineren Pollen als diese beiden Gruppen ($p > 0.001$).

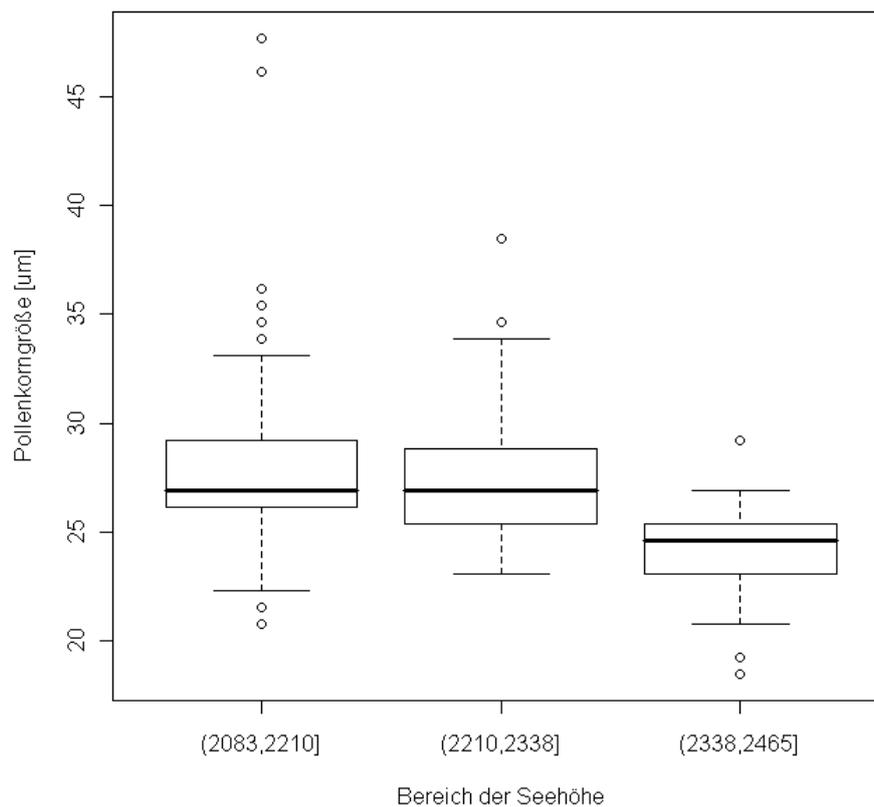


Abbildung 13: Vergleich der Pollenkorngrößen hexaploider Individuen von 3 Gruppen unterschiedlicher Meereshöhe.

6.2 Anzahl Pollenkörner

Abb.14 zeigt einen Vergleich der Pollenkornanzahl aller untersuchten Individuen.

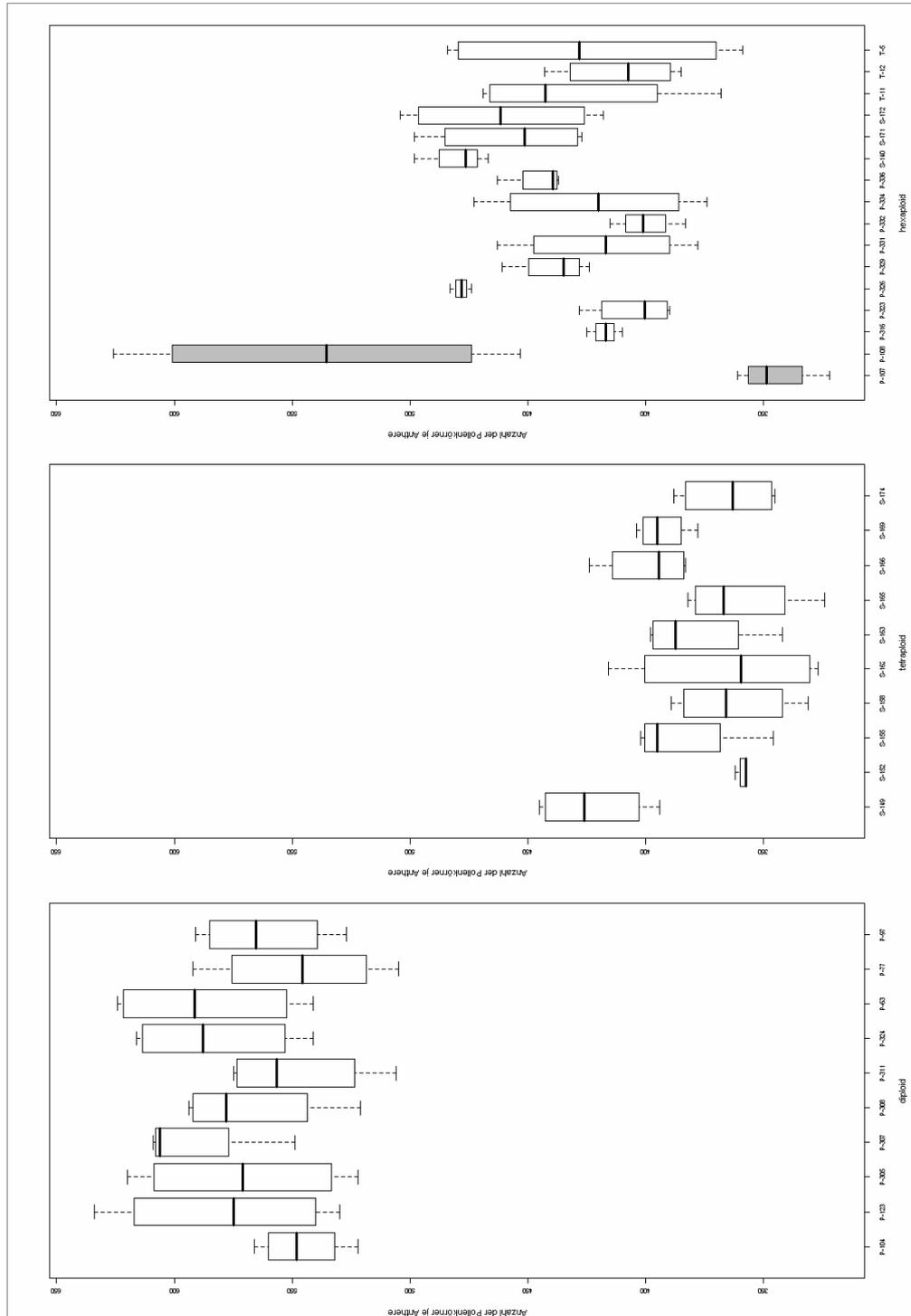


Abbildung 14 Übersicht der Anzahl an Pollenkörnern pro Anthere aller Individuen. Die Buchstaben bezeichnen die Sammelgebiete (P=Plose, T=Turracher Höhe, S=Stilfser Joch), die Nummern entsprechen den Individuen. Die beiden Pflanzen mit toten Pollenkörnern sind grau dargestellt.

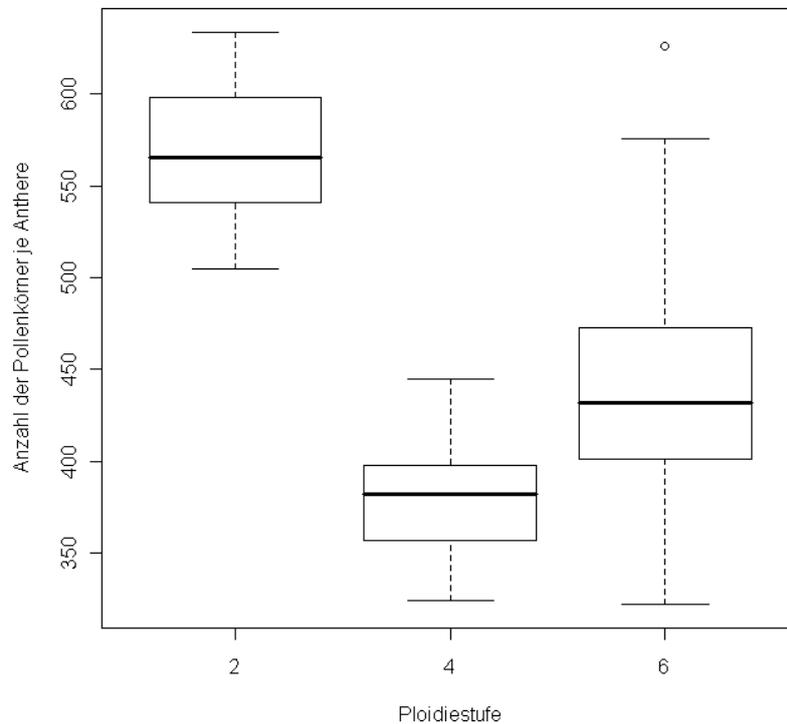


Abbildung 15: Die Pollenkornanzahl pro Anthere der 3 Zytotypen zusammengefasst für alle 3 Sammelgebiete. Die Abbildung basiert auf der Auszählung von jeweils 4 Antheren pro Individuum von jeweils 10 diploiden bzw. tetraploiden und 16 hexaploiden Individuen.

Die Zytotypen unterscheiden sich in paarweisen Vergleichen hochsignifikant ($n_B=144$, $n_C=36$, $t=-13.20$ für diploid - tetraploid, $t=-10.26$ diploid - hexaploid, $t=-4.38$ hexaploid - tetraploid, $df=33$, $p<0.001$) bezüglich der Anzahl der Pollenkörner. Die Diploiden weisen 568 ± 35 , die Tetraploiden 379 ± 30 und die Hexaploiden 435 ± 52 Pollenkörner pro Anthere auf (Abb. 15).

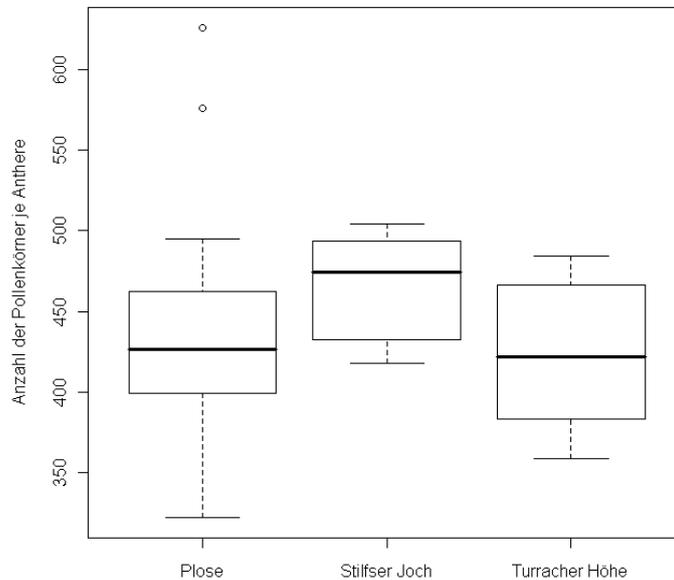


Abbildung 16: Die Anzahl der Pollenkörner pro Anthere der hexaploiden Individuen der 3 Populationen. 10 Individuen von der Plose und jeweils 3 von der Turracher Höhe und vom Stilfser Joch standen dafür zur Verfügung.

Beim Vergleich der hexaploiden Pflanzen jeweils zweier Sammelgebiete kann nur beim Vergleich der Turracher Höhe mit dem Stilfser Joch ($n_B=24$, $n_C=6$, $t=-2.82$, $df=4$, $p=0.048$) ein signifikanter Unterschied in der Pollenkornanzahl festgestellt werden. Plose – Stilfser Joch ($n_B=52$, $n_C=13$, $t=1.16$, $df=11$, $p=0.272$) und Plose – Turracher Höhe ($n_B=52$, $n_C=13$, $t=-0.29$, $df=11$, $p=0.781$) unterscheiden sich in der Pollenkornanzahl nicht voneinander. Im Sammelgebiet Plose zeigt die Pollenzahl der hexaploiden Individuen eine höhere Streuung als in den anderen Gebieten. Die Anzahl der Pollenkörner pro Anthere liegt auf der Plose bei 430 ± 57 , am Stilfser Joch bei 466 ± 31 und auf der Turracher Höhe bei 422 ± 44 (Abb. 16).

Hexaploide und tetraploide Individuen des Sammelgebietes Stilfser Joch unterscheiden sich signifikant bezüglich der Anzahl an Pollenkörnern ($n_B=52$, $n_C=13$, $t=6.72$, $df=11$, $p < 0.001$).

Anhand der ermittelten Werte wurde die durchschnittliche Pollen/Ovule-Ratios der verschiedenen Zytotypen ermittelt, so können Rückschlüsse auf Sukzessionsstand und Fortpflanzungssystem getroffen werden (Cruden, 1976).

Zytotyp	Turracher Höhe	Plose	Stilfser Joch
2x	_____	2841.9	_____
4x	_____	_____	1894.9
6x	2110	2153.4	2329.6

Tabelle 5: Durchschnitt der P/O-Ratio

6.3 unreduzierte Pollenkörner

Abb. 17 zeigt die Verteilung der Pollenkorngrößen für di-, tetra- und hexaploide Individuen. Im Unterschied zu der annähernd kontinuierlichen Verteilung der Diploiden kommen bei Tetraploiden und Hexaploiden Pollenkörner vor, die sich durch ihre Größe deutlich von den anderen absetzen. Pollenkörner bis zur Größe von knapp 27 µm (diploide), knapp 31 µm (tetraploide) und 38.5 µm (hexaploide) können als normale (reduzierte) Pollenkörner betrachtet werden. Die 3 tetraploiden Pollenkörner mit ca. 35, 45 bzw. 50 µm und die beiden hexaploiden Pollenkörner mit 46 und 48 µm sind als **unreduzierte Gameten** zu bewerten. Als grobe Annäherung fand also bei der Bildung der Pollenkörnern diploider Pflanzen in 0%, bei tetraploiden in 0.5% und bei hexaploiden in 0.3% (bezogen auf die Anzahl der vermessenen Pollenkörner jenes Zytotyps) der Fälle keine Meiose statt.

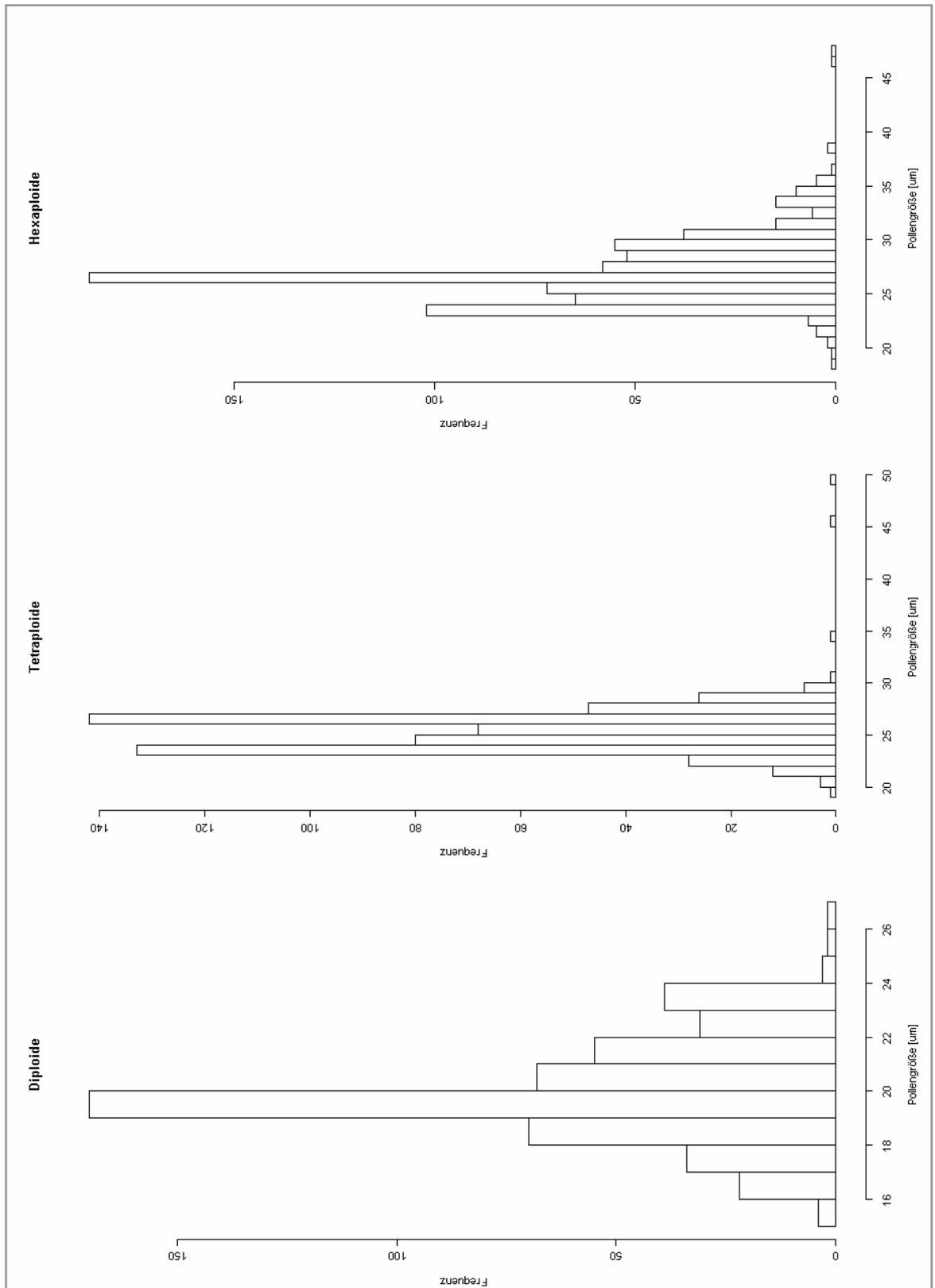


Abbildung 17: Größenverteilung der Pollenkörner di-, tetra- und hexaploider Individuen.

6.4 Höhenverteilung der Zytotypen

Eine Trennung der Zytotypen entlang des Höhengradienten, wie sie für *S. carniolicus* bereits festgestellt wurde (Schönswetter et al., 2007), ist auch aus den Ergebnissen dieser Untersuchung abzuleiten. Auf der Turracher Höhe wurden alle tetraploiden Individuen oberhalb einer Seehöhe von 2226m.ü.M gefunden, alle hexaploiden Individuen hingegen unterhalb dieser Grenze.

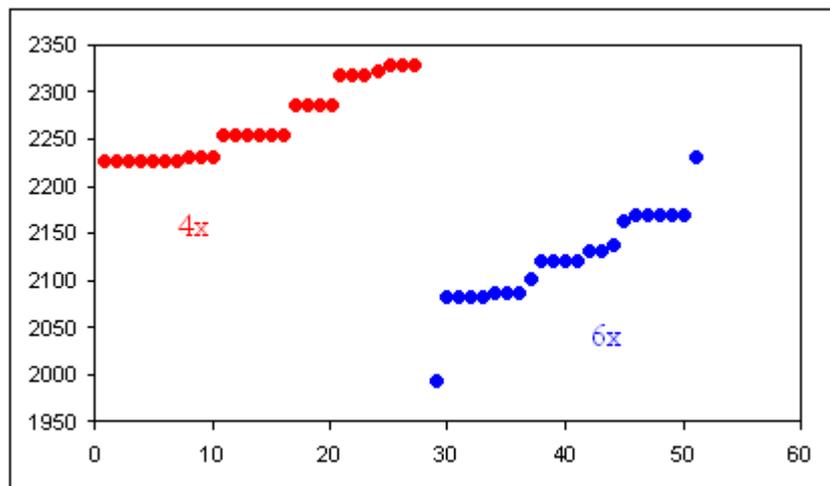


Abbildung 18: Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf der Turracher Höhe

Am Stilfser Joch wurden keine tetraploiden Individuen unterhalb 2800 m gefunden. Die Fundorte der hexaploiden Individuen lagen hingegen, mit zwei Ausnahmen (die sogar über 2800 m gefunden wurden) unterhalb von 2600 m.

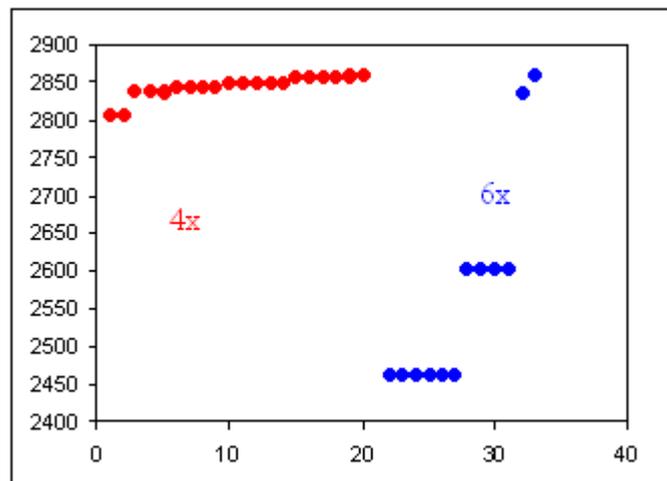


Abbildung 19: Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf dem Stilfser Joch.

Auf der Plose zeigt sich ein ähnliches Bild wie von Schönswetter et al. (2007) beschrieben. Mit Ausnahme von zwei Ausreißern kommen alle Hexaploiden unter 2200m vor, während die Diploiden den gesamten Bergrücken besiedeln.

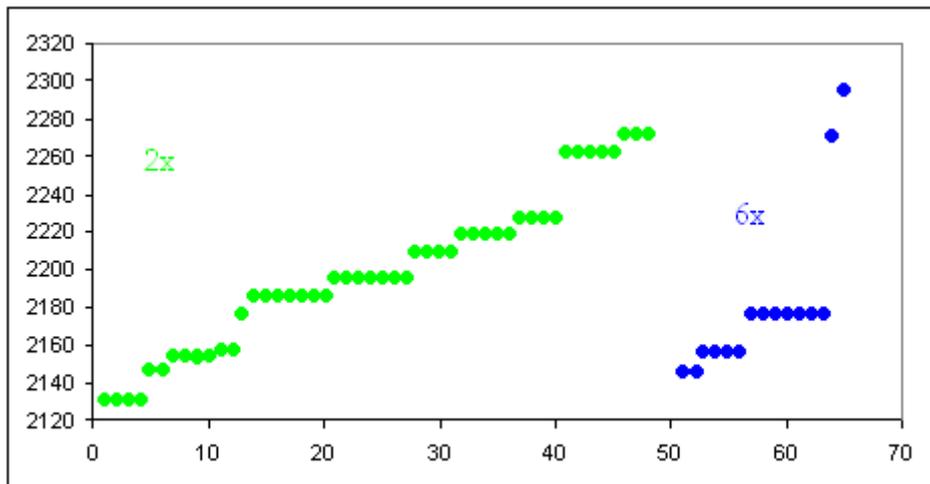


Abbildung 20 Höhenverteilung der zwei Zytotypen auf der Plose

7. Diskussion

7.1 Probleme bei der Versuchsdurchführung und mögliche Ursachen

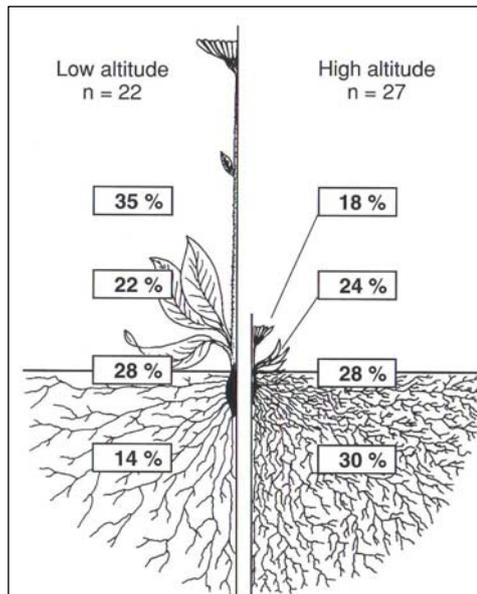


Abbildung 21: Vergleich zwischen einer Pflanze der Tallagen und einer Gebirgspflanze. Es ist klar zu erkennen, dass sich das Massenverhältnis deutlich unterscheidet (aus Körner und Renhardt, 1987).

Bereits kurz nach dem Einpflanzen zeigten ca. 50% der Pflanzen trotz ausreichender Wasserversorgung Welkeerscheinungen mit gleichzeitiger Schimmelbildung am unteren, abgestorbenen Blattmaterial. Diese Erscheinungen sind wahrscheinlich auf Wassermangel, verursacht durch die Wurzelbeschädigung beim Ausstechen und auf die starke Veränderung des Standortklimas durch den Transport nach Meran zurückzuführen. *Senecio carniolicus* gedeiht teilweise auf sehr steinigem Untergrund, wodurch ein Ausstechen der Pflanze ohne Schädigung der Wurzeln trotz größter Vorsicht zumeist unmöglich ist. Weiters ist belegt

(Körner, 2003), dass alpine Pflanzen im Verhältnis zur Blattmasse eine größere Wurzelmasse bilden als Pflanzen tieferer Lagen, wodurch die Bemühungen die Wurzeln nicht zu beschädigen noch weiter erschwert wurden. Eine leichte Besserung brachte verstärkte Luftzufuhr durch Übersiedeln der Pflanzen an windexponiertere Stellen im Versuchsgarten.

Ein weiteres Problem stellte der Befall durch Schnakenlarven (*Tipulidae*) dar. Diese wurden entweder durch das Substrat oder bereits an den Pflanzen von der Turracher Höhe eingeschleppt und fraßen mit Vorliebe junge Blütenknospen und Blätter. Abhilfe schaffte das Absammeln der Larven.

Die Blüte verlief bei einer Vielzahl der Pflanzen sehr schnell. Meist zeigten nur die äußeren Blüten des Korbes eine richtige Blüte. Weiter innen liegende Blüten des Korbes vertrockneten einige Stunden nach Blühbeginn. Wahrscheinlich konnten sie in der kurzen Zeit auch gar nicht rechtzeitig bestäubt werden, und so verwundert es nicht, dass keine Samen gebildet wurden. Dieses schnelle Vertrocknen kann wiederum auf den schlechten Allgemeinzustand der Pflanzen durch die unzureichende Wasserversorgung aufgrund der Wurzelbeschädigung zurückgeführt werden (Tabelle 2, Kapitel 6 gibt die Anzahl der von den beschriebenen Problemen betroffenen Pflanzen aufgeteilt nach Bergen wieder).

7.2 Diskussion der Ergebnisse

7.2.1 Vermeidung von Kreuzungen zwischen unterschiedlichen Zytotypen

Von 181 gesammelten Individuen wiesen 3 Pflanzen eine ungerade Anzahl von Chromosomensätzen auf. Bei allen 3 Pflanzen handelte es sich um pentaploide ($5x$) Individuen. Gefunden wurden sie auf der Turracher Höhe (1 Individuum) und am Stilfser Joch (2 Individuen). Beide Populationen setzten sich aus tetraploiden und hexaploiden Individuen zusammen. Die Tatsache dass nur 1,6 % der Individuen pentaploid waren und bei der hexaploid/diploiden Population der Plose keine tetraploiden Individuen gefunden wurden, lässt darauf schließen, dass wirkungsvolle, prä- oder postzygotische Mechanismen zur Verhinderung von Kreuzungen zwischen unterschiedlichen Zytotypen wirksam sein müssen.

Neu gebildete, polyploide Individuen müssen eine reproduktive Trennung gegenüber ihrer diploiden Elternsippe aufbauen um eine dauerhafte Koexistenz zu ermöglichen (Felber-Girard et al., 1996, Soltis et al., 2003). Dabei ist anfänglich immer der zahlenmäßig geringer vertretene Zytotyp im Nachteil. Aufgrund der Häufigkeit des anderen Zytotyps erhält er sehr oft Pollen jenes Zytotyps und somit werden keine Nachkommen gebildet oder die Nachkommen besitzen mit großer Wahrscheinlichkeit einen intermediären (zwischen den Elternsippem liegenden) Zytotyp und tragen folglich nicht zum Erhalt des Zytotyps bei. (minority cytotype exclusion principle, Levin, 1975). Diese Trennung kann auf unterschiedlichen Wegen erreicht werden. Eine Möglichkeit stellt die Besetzung unterschiedlicher Habitate dar.

Divergierende Standortsansprüche können sogar eine direkte Folge der Polyploidisierung sein: so haben Polyploide in der Regel größere Stomata und Pollen als ihre diploiden Vorfahren. Die Stomatagröße kann sich auf den Gasaustausch auswirken und somit zu veränderter Umwelttoleranz beitragen (Humbert-Droz & Felber, 1992).

Eine weitere Möglichkeit der Isolierung stellt ein verschobener Blühzeitraum dar (Van Dijk et al., 1992, Petit et al., 1997). Wahrscheinlich blühen neu gebildete Polyploide noch zeitgleich mit ihren diploiden Vorfahren und erst nach und nach

verschiebt sich der Blühzeitraum (Lumaret et al., 1987). Weiters hat sich gezeigt, dass die Verschiebung des Blühzeitraumes sich häufig nur auf die Kontaktzone der verschiedenen Zytotypen beschränkt, abseits dieser Zone findet man überlappende Blühzeiträume (Lumaret et al., 1987). Es liegen leider noch keine genauen Daten zum Blühzeitraum der verschiedenen Zytotypen von *Senecio carniolicus* vor.

Bei insektenbestäubten Pflanzen ist auch eine durch Polyploidisierung veränderte Blütenmorphologie eine mögliche Erklärung der Abgrenzung gegen den anderen Zytotypen. Die Zellgröße und der Metabolismus können verändert werden, was zum Beispiel zu unterschiedlich attraktiven Blüten führen kann (Petit et al., 1999). Eine andere Möglichkeit der Isolation ist zweifelsohne die Selbstbefruchtung. Diese ist in den Hybridzonen, sowohl bei den diploiden als auch bei den tetraploiden Individuen höher als im umliegenden Gebiet (Petit et al., 1997).

Eine Form der ökologischen Einnischung stellt jene entlang eines Höhengradienten dar, auf welche im nächsten Abschnitt näher eingegangen wird.

7.2.2 Höhenverteilung der Zytotypen in gemischten Populationen.

Aus früheren Studien wurde bekannt, dass es etliche Pflanzenarten gibt, deren Ploidiestufen entlang eines Höhengradienten eingenischt sind. Dies trifft etwa auf *Pilosella officinarum* (syn. *Hieracium pilosella*) zu, wo pentaploide Individuen bis zu einer Höhe von 1000 m vorkommen, hexaploide hingegen die Regionen unterhalb von 500 m bevorzugen (Mráz et al., 2008). Ein ähnliches Bild zeigt sich bei *S. carniolicus*, wo die einzelnen Zytotypen unterschiedliche Höhenstufen in Anspruch nehmen (Schönswetter et al., 2007). Diese Erkenntnis wird auch durch meine Beobachtungen gestützt: auf der Plose findet man diploide Individuen über den gesamten Höhengradienten verteilt, hexaploide Individuen kommen hingegen vor allem im unteren Bereich der Population vor (unterhalb von 2200 m). Ähnliche Beobachtungen wurden am Stilfser Joch und auf der Turracher Höhe gemacht, wo man in höheren Lagen vor allem tetraploide Individuen findet, während in tieferen Lagen hexaploide Individuen dominieren.

Auch Hülber et al. (2009) stellten fest, dass sich die unterschiedlichen Zytotypen von *S. carniolicus* das Areal keinesfalls zufällig aufteilen. Das Prinzip, das der Einnischung der Zytotypen zu Grunde liegt, wird jedoch nicht in der Meereshöhe vermutet, sondern in kleinräumig variierenden Standortsfaktoren. Es wurde nämlich festgestellt, dass die Habitate der Hexaploiden durch höhere Artenzahl und dichtere Begleitvegetation gekennzeichnet sind, während diploide Individuen vermehrt an steinigen Stellen mit weniger Begleitarten vorkommen (Hülber et al., 2009). Ähnliche Beobachtungen der Habitataufteilung wurden bei *Dactylis glomerata* (Lumaret et al., 1987), und *Centaurea stoebe* (Španiel et al., 2008) gemacht. Diese Erkenntnis lässt sich in Einklang mit meinen Ergebnissen bringen, da Meereshöhe und Bodenbedeckung häufig korrelieren, wobei die artenarmen, skelettreichen Bereiche vor allem in höheren Lagen zu finden sind.

Es hat also im Laufe der Evolution eine deutliche Spezialisierung stattgefunden, die sich aber bei *S. carniolicus* morphologisch nicht, bzw. kaum nachvollziehen lässt. Allein auf der Plose war es mir möglich, bereits beim Sammeln zu erahnen welche Individuen dem gleichen Zytotyp angehören. Die diploiden Individuen waren häufig sehr dicht behaart und hatten kleine Blätter, während die hexaploiden Individuen kaum behaart waren und deshalb grüne Blätter besaßen.

Bei Arten mit mehreren Ploidiestufen und zwischen nahe verwandten Arten mit verschiedenen Ploidiestufen (Polyploidkomplexen) kommt es nicht selten zu nomenklatorischen Problemen (Španiel et al., 2008; Kolar et al., 2009). Es ist nämlich nicht klar definiert, ob man bei Zytotypen schon von Unterarten sprechen soll und kann, oder aber die verschiedenen Zytotypen in ein und demselben Taxon zusammenfassen soll. Auch unsere Versuchsart *Senecio carniolicus* wird häufig als Unterart der diploiden Art *S. incanus* behandelt. Neuere Untersuchungen haben allerdings gezeigt, dass diese beiden Taxa in jedem Fall als getrennte Arten aufzufassen sind (Suda et al., 2007). An der taxonomischen Einstufung der Zytotypen von *Senecio carniolicus* wird derzeit gearbeitet (Abb. 8).

7.2.3 Die Pollengröße variiert je nach Zytotyp

Die Zytotypen von *Senecio carniolicus* haben unterschiedlich große Pollenkörner. Ein Pollenkorn einer diploiden Pflanze ist haploid, trägt also nur den einfachen Chromosomensatz, während die Pollenkörner einer tetraploiden Pflanze diploid sind, also den gesamten Chromosomensatz zweimal beinhalten. Die Pollenkörner einer hexaploiden Pflanze sind folglich triploid und tragen den dreifachen Chromosomensatz. Für größere Mengen an DNA wird offensichtlich mehr Platz benötigt und somit nimmt der Durchmesser der Pollenkörner mit der Ploidiestufe der Mutterpflanze zu.

Allerdings sind die Größenunterschiede der Pollenkörner bei den polyploiden Individuen nicht immer deutlich ausgeprägt. Hexaploide Pflanzen sind zum Teil kaum von tetraploiden Pflanzen zu unterscheiden. Diese Tatsache lässt sich wahrscheinlich auf das so genannte *genome downsizing* zurückführen. Dabei wird angenommen, dass es im Zuge eines Polyploidisierungsereignisses bzw. nach diesem zu einer Reduktion des DNA-Gehalts kommt (Kron et al., 2007). Das Vorkommen von *Genome Downsizing* wurde von vielen Autoren bestätigt (Jakob et al., 2004; Johnston et al., 2005; Price et al., 2005).

Wie bereits für *Centaurea stoebe* (Ochsmann, 2000; Španiel, 2008) festgestellt wurde, können auch die Zytotypen von *S. carniolicus* nicht eindeutig auf Basis der Pollenkorngröße unterschieden werden, weil eine zu große Überschneidung auftritt. Dies trifft insbesondere für Populationen mit der Kombination tetraploid/hexaploid zu, da in diesem Fall die Pollenkörner hexaploider Pflanzen kleiner bis maximal gleich groß sind wie jene der tetraploiden Pflanzen.

Kommen hexaploide und diploide Individuen zusammen auf einem Berg vor, zeigt sich ein anderes Bild. In solchen Populationen ist eine Unterscheidung klar möglich.

Die Streuung der Pollenkorngrößen ist bei hexaploiden Individuen deutlich größer als bei den diploiden und tetraploiden Individuen. Eine mögliche Erklärung für den Größenunterschied der Pollenkörner hexaploider Pflanzen könnte die Häufung von Meiosefehlern sein, ausgelöst durch die größere Anzahl an Chromosomen. Möglich ist aber auch, dass die hexaploiden Individuen an

mehreren Orten unabhängig voneinander entstanden sind und folglich je nach Entstehungsort und weiterer Entwicklung unterschiedliche Voraussetzungen mitbringen (Soltis & Soltis, 1999).

Die Pollenkörnergröße tetraploider Pflanzen ist hingegen in beiden untersuchten tetraploid/hexaploid gemischten Populationen (Stilfser Joch und Turracher Höhe) sehr homogen.

7.2.4 Pollen/Ovule-Ratio

Die ermittelten Pollen/Ovule-Ratios (Tabelle 5) liegen im Bereich fakultativ fremdbestäubter oder fremdbestäubter Fortpflanzungssysteme. Niedrige Werte, wie jene der tetraploiden Individuen vom Stilfser Joch deuten laut Cruden (1976) auf eine höhere Wahrscheinlichkeit der Selbstbefruchtung hin. Bei der diploiden Population der Plose ist die Pollen/Ovule-Ratio um fast 50% höher als jene der hexaploiden Population, was auf vermehrte Fremdbestäubung hindeutet.

Das P/O-Verhältnis ändert sich auch abhängig von der Sukzession. Dringt eine Art in neue Habitate vor ist eine höhere Selbstbefruchtung zu vermuten und folglich auch eine niedrigere Pollenanzahl. Deshalb konnte aus den Ergebnissen für unsere Versuchsart im Gebiet der Plose gefolgert werden, dass sich die hexaploide Population zeitlich nach der diploiden angesiedelt hat. Auf dem Stilfser Joch hingegen besitzt die hexaploide Population einen wesentlich höhere P/O-Ratio als die tetraploide, was auf eine frühere Besiedelung der Hexaploiden hindeutet. Die Tetraploiden sind vermutlich erst später in das Habitat der Hexaploiden eingedrungen und haben sich in bestimmten Gebieten behaupten können (höhere Lagen). Die Daten von der Turracher Höhe reichen leider nicht aus um Rückschlüsse auf die Besiedelung machen zu können.

7.2.5 Anzahl der unreduzierten Pollenkörner

Unreduzierte Gameten (Pollenkörner und Eizellen) stellen eine essentielle Grundlage zur Entstehung neuer polyploider Gruppen dar (Ramsey & Schemske, 2002). In Anlehnung an Ramsey (2006), welcher die Pollengröße als Indiz für die Ploidie verwendete, wurden 50 Pollenkörner pro Individuum vermessen. Anhand dieser Ergebnisse könnten Rückschlüsse auf die Häufigkeit der möglichen Neuentstehungen polyploider Individuen gezogen werden.

Die Anzahl von Pollenkörnern, deren überdurchschnittliche Größe darauf hindeutet, dass es sich um unreduzierte Gameten handelt, war sehr gering. Von 500 vermessenen Pollenkörnern 10 diploider Individuen war kein einziges unreduziert. Nur bei den polyploiden Individuen wurden unreduzierte Pollenkörner im Ausmaß von 0,54% bei den tetraploiden und 0,25% bei den hexaploiden Individuen gefunden.

Individuen mit ungerader Ploidiestufe sind oft nicht lebensfähig oder können kaum lebensfähige Nachkommen produzieren, weil die Meiose nicht reibungslos ablaufen kann, da die Verteilung der Chromosomen bei ungerader Anzahl auf die Gameten nicht gleichmäßig gewährleistet werden kann.

Es gibt zwei Hypothesen zur Bedeutung triploider Individuen innerhalb einer Population. Die eine misst den Triploiden große Bedeutung zu und sieht sie als wichtigen Schritt zur Bildung von tetraploiden Individuen, da sie bei der Meiose viel häufiger diploide Gameten bilden als Diploide Individuen („Triploid Bridge“, Ramsey & Schemske, 1998). Die zweite Theorie misst ihnen eine weitaus geringere Bedeutung zu. So wird vermutet, dass erst nach erfolgter Bildung der Tetraploiden durch Kreuzungsereignisse zwischen tetra- und diploiden triploide Individuen entstehen (Ramsey & Schemske, 1998).

8. Zusammenfassung

Selbstinkompatibilität, Polyploidie und Hybridzone sind Begriffe, die in letzter Zeit das Interesse wissenschaftlicher Forschung immer stärker auf sich ziehen. Beim Thema Selbstinkompatibilität hat man sich von der ursprünglichen Vorstellung gelöst, dass eine Art nur entweder selbst- oder fremdbestäubt sein kann und man spricht immer mehr von flexiblen Fortpflanzungssystemen (Barrett, 2003).

Polyploidie ist ein Phänomen, dem eine besondere Bedeutung in der Entwicklungsgeschichte zahlreicher Pflanzen- und einiger Tierarten zukommt. Es ist belegt, dass 75% der Höheren Pflanzen in ihre Entwicklungsgeschichte polyploide Vorfahren hatten (Soltis & Soltis, 1999; Otto & Whitton, 2000). Kommen mindestens zwei Ploidiestufen (Zytotypen) gemeinsam im selben Gebiet vor, spricht man von sympatrischen Populationen. Den Kontaktbereich zwischen Zytotypen bezeichnet man als Hybridzone. Diese haben einen besonderen Stellenwert in der Forschung, weil hier Hybriden auftreten können und man jene Phänomene, die bei der Bildung neuer Ploidiestufen wirksam werden, untersuchen kann.

Mit *Senecio carniolicus* wurde eine alpine Asteraceae als Versuchspflanze gewählt, welche früher als rein hexaploid angesehen wurde (Favarger, 1964). Erst kürzlich stellte sich heraus, dass sowohl diploide, tetraploide als auch hexaploide Individuen mit großer Häufigkeit vorkommen (Suda et al., 2007). Oft findet man zwei oder drei Zytotypen gemeinsam auf ein und demselben Hang vor. Auffällig ist, dass trotz der räumlichen Nähe kaum Hybriden zwischen den Zytotypen gefunden werden (Suda et al., 2007), was auf eine starke Selektion gegen diese schließen lässt. Selbstbestäubung stellt eine von mehreren möglichen Erklärungsversuchen dar.

Das Ziel der durchgeführten Versuche war, genauere Informationen über das Fortpflanzungssystem von *S. carniolicus*, einem Beispielorganismus für einen Polyploidkomplex mit sympatrisch vorkommenden Zytotypen zu erhalten. Dies sollte durch den Vergleich des Samenanatzes zwischen selbst- und

fremdbestäubten Individuen im Experiment festgestellt werden. Da die Versuche aufgrund methodischer Probleme scheiterten, wurde auf indirektem Weg durch Feststellung der Pollen/Ovule Ratio (Anzahl der Pollenkörner pro Eizelle in einer Blüte) nach Hinweisen auf das Bestäubungssystem gesucht. So konnten außerdem Rückschlüsse auf die Anzahl der nicht reduzierten Pollenkörner gewonnen werden.

Es wurde auch gezeigt, dass sich die Zytotypen entlang des Höhengradienten verteilen. Weiters konnte festgestellt werden, dass die Pollenkorngröße kein zuverlässiges Indiz für den Zytotyp der Mutterpflanze darstellt.

Die vorliegende Arbeit liefert nur einen kleinen Einblick in die Welt von *S. carniolicus*. Es stellen sich noch viele Fragen und weitere Forschung ist anzustreben.

In einem groß angelegtem Forschungsprojekt wird derzeit am Botanischen Institut der Universität Wien die phylogenetische Herkunft der Zytotypen von *S. carniolicus*, sowie deren Isolationsmechanismen untereinander erforscht (Schönswetter, Hülber, Sonnleitner, Flatscher, Weiss-Schneeweiss, Schneeweiss, Suda, Álvarez). Diese Arbeiten werden einen Beitrag zur Klärung jener Fragen liefern, die im Rahmen meiner Arbeit nicht beantwortet werden konnten.

9 Abstract

In the last few years much research has been conducted on topics such as self-incompatibility, hybrid zones and polyploidy. We chose *Senecio carniolicus*, a perennial alpine Asteraceae, as our model organism. The species was previously believed to be exclusively hexaploid while recently the existence of altogether three main cytotypes (diploids, tetraploids and hexaploids) was discovered. The different cytotypes often coexist in the same area; nevertheless hybrids are almost nonexistent. Unfortunately, part of the planned experiment was not realizable, because the plants suffered from the changed environmental conditions after bringing them from their natural habitat to the experimental garden in Merano. Therefore we carried out some more work in the lab with fixed material and used these results following Cruden's hypothesis that the breeding system of a species can be determined from the pollen/ovule ratio. Furthermore, it was possible to show that different cytotypes occupy different habitats. With this thesis I touched some interesting research-topics, with a lot of unanswered questions. At the Botanical Institute of the University of Vienna a large international research project started in 2008 with the aim to detect the different isolating mechanisms and the origin of the three different cytotypes of *S. carniolicus*.

10. Anhang



Abbildung 22a: Käftig



Abbildung 22b: Käftig

Insektensichere Käfige kamen während der Anthese zum Einsatz um ungewollte Bestäubungen zu verhindern.

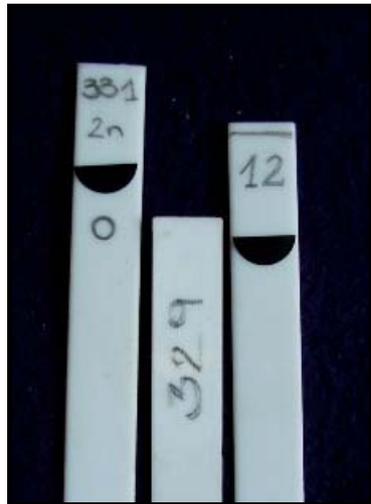


Abbildung 23: Kennzeichnung



Abbildung 24: Teefilter

Die Beschriftung der Plastikfähnchen und des Teefilters, wie er zur Bestimmung des Zytotyps mittels Durchflußzytometrie verschickt wurde.



Abbildung 25: Pflanzen im Versuchsgarten

Eine Multitopfplatte mit frisch eingepflanzten *Senecio carniolicus* Pflanzen von der Turracher Höhe.



Abbildung 26: Pflanzen in Blüte

Die Pflanzen in voller Blüte. Man kann sowohl die farbliche Kennzeichnung der zur Bestäubung verwendeten Körbe sehen als auch Wattestäbchen, die für die Selbstbestäubung verwendet wurden.



Abbildung 27: *S. carniolicus*

S. carniolicus in seiner natürlichen Umgebung am Stilfser Joch.



Abbildung 28: Knospe

Knospenstadium, die Körbe wurden zu diesem Zeitpunkt fixiert.



Abbildung 29: Blüte

Blüte, dreimal am Tag wurde bestäubt.

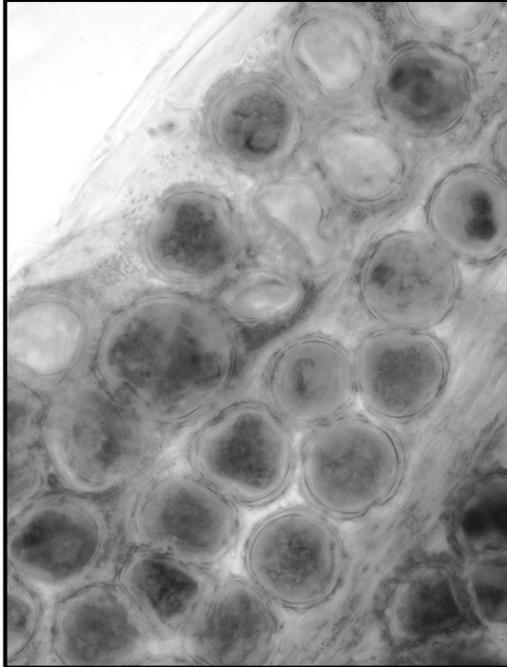


Abbildung 30 Pollenkörner

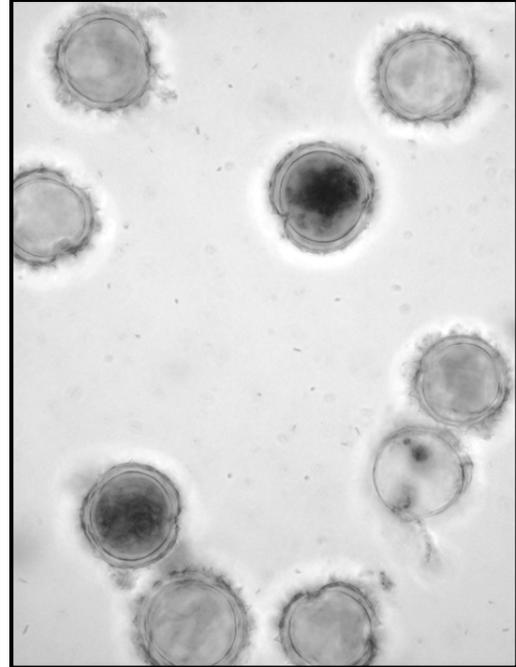


Abbildung 31: Pollenkörner

Ein Blick durch das Mikroskop: so wurden die Pollenkörner gezählt (Abb.30) und vermessen (Abb.31)

11 Literaturliste

Baker HG, 1955. Self-compatibility and establishment after ‘long-distance’ dispersal. *Evolution* **9**: 347–348.

Baker HG, 1967. Support for Baker’s law as a rule. *Evolution* **21**: 853–856

Bates D, Sarkar D, 2007: lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.9975-13.

Barrett SCH, 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London, Series B* **358**: 991–1004.

Brochmann C., Brysting AK, Alsos IG, Borgen L, Grundt HH, Scheen AC, Alven R. 2004 Polyploidy in arctic plants *Biol J Linn Soc* 82:521-536

Chapman MA, Forbes DG, Abbott R, 2005. Pollen competition among two species of *Senecio* (Asteraceae) that form a hybrid zone on Mt. Etna, Sicily. *American Journal of Botany* 92: 730–735.

Charlesworth D, Charlesworth B, 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 273–288.

Chater AO, Walters SM, 1976. *Senecio*. In T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, and D. A. Webb [eds.], *Flora europaea*, vol. 4, 191–205. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Cruden RW, 1976. Intraspecific variation in pollen-ovule ratios and nectar secretion – preliminary evidence of ecotypic adaptation. *Annals of the Missouri botanical garden.* 63/2 277-289

Cruden RW, 1977. Pollen-ovule Ratios – conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31/1 32-46

Doležel J, Bartoš J, 2005. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany* 95: 99–110.

Ellenberg H, 1996. Die Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen. Eugen Ulmer, Stuttgart

Farvanger C, 1964. Die zytotaxonomische Erforschung der Alpenflora. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 77: 73–83

Felber F, 1998. Phénologie de la floraison de populations diploïdes et tetraploïdes d'Anthoxanthum alpinum et d'Anthoxanthum odoratum. *Canadian Journal of Botany* 66: 2258–2264.

Felber-Girard M, Felber F, Buttler A, 1996. Habitat differentiation in a narrow hybrid zone between diploid and tetraploid Anthoxanthum alpinum. *New Phytologist* 133/3: 531-540

Fischer MA, Adler W, Oswald K, 2005. Exkursionsflora für Österreich, Lichtenstein und Südtirol 2nd edn. Land Oberösterreich, Biologiezentrum der OÖ Landesmuseen, Linz

Hess HE, Landolt E, Hirzel R, 1980. Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete III. Birkhäuser, Basel, Switzerland.

Hiscock SJ, 2000. Self-incompatibility in *Senecio squalidus* L. (Asteraceae). *Ann. Bot.* 85(Suppl. A), 181–190

Hiscock SJ, Kües U, 1999 Cellular and molecular mechanisms of sexual incompatibility in plants and fungi. *Int. Rev. Cytol.* 193, 165–295.

Hiscock SJ, McInnis SM, 2003. The diversity of self-incompatibility systems in flowering plants. *Plant Biology* 5: 23–32.

Hülber K, Sonnleitner M, Flatscher R, Berger A, Dobrovsky R, Niessner R, Nigl T, Schneeweiss GM, Kubešová M, Rauchová J, Suda J, Schönswetter P, 2009. Ecological segregation drives fine-scale cytotype distribution of *Senecio carniolicus* in the Eastern Alps *Preslia* 81: 309–319

Humbert-Droz C, Felber F, 1992. Etude biométrique des stomates et des grains de pollen comme indicateurs du degré de polyloïdie chez *Anthoxanthum alpinum* Löve et Löve. *Bulletin de la Société Neuchâteloise de Sciences Naturelles*, 11: 31-45

Husband BC, Schemske DW, Burton TL, Goodwillie C, 2002. Pollen competition as a unilateral reproductive barrier between sympatric diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *Proceedings of the Royal Society London* 269: 2565–2571.

Jakob SS, Meister A, Blattner FR, 2004. The considerable genome size variation of *Hordeum* species (Poaceae) is linked to phylogeny, life form, ecology and speciation rates. *Mol. Biol. Evol.* 21:860–69

Johnston JS, Pepper AE, Hall AE, Chen ZJ, Hodnett G, et al. 2005. Evolution of genome size in Brassicaceae. *Ann. Bot.* 95:229–35

Kolar F, Stech1 M, Travnicek P, Rauchova J, Urfus T, Vit P, Kubesova M, Suda J, 2009 Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. *Annals of Botany* 103: 963–974.

Körner C, 2003. Alpine Plant Life - Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems, Springer.

Körner C, Renhardt U, 1987. Dry-matter partitioning and root length leaf-area ratios in herbaceous perennial plants with diverse altitudinal distribution. *Oecologia* 74:3 411-418

Kearns CA, Inouye DW, 1993. Pistil-packing flies. *Natural history*, 102:4 30-37

Lande R, Schemske DW, 1985. The evolution of selffertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 39: 24–40

Levin DA, 1975. Minority cytotype exclusion in local plant populations. *Taxon* 24: 35–43.

Levin DA, 1996. The evolutionary significance of pseudo-self-fertility. *American Naturalist* 148: 321–332.

Lloyd DG, 1992. Self- and cross-fertilization in plants. II. Theoretical considerations. *International Journal of Plant Science* 153: 358–369.

Lumaret R, Guillerm JL, Delay J, Loutfi AAL, Izco J, Jay M, 1987. Polyploidy and habitat differentiation in *Dactylis glomerata* L. from Galicia (Spain). *Oecologia* 73: 436–446.

Mable BK, 2003. Breaking down taxonomic barriers in polyploidyresearch. Trends in Plant Science 8: 582–590

Mable BK, 2004. Polyploidy and self-compatibility: is there an association? New Phytologist 162: 803–811.

Meierbrugger M, 1978. Die Nockalmstraße: ein Führer, Klagenfurt: Heyn

Mraz P, Singliarova B, Surfus T, Krahulec F, 2008. Cytogeography of *Pilosella officinarum* (Compositae): Altitudinal and Longitudinal Differences in Ploidy Level Distribution in the Czech Republic and Slovakia and the General Pattern in Europe. *Annals of Botany* 101: 59–71.

Ochsmann J, 2000. Morphologische und molekularsystematische Untersuchungen an der *Centaurea stoebe* L. — Gruppe (Asteraceae-Cardueae) in Europa. Diss Bot 324

Otto S, Whitton PJ, 2000. Polyploid incidence and evolution. Annual Review of Genetics 34: 401–437.

Pannell JR, Barrett SCH, 1998. Baker's Law revisited: reproductive assurance in a metapopulation. *Evolution* 52: 657–668.

Pannell JR, Obbard DJ, Buggs RJA, 2004. Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua* Biological Journal of the Linnean Society 82: 547–560.

Petit C, Bretagnolle F, Felber F, 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. Trends in Ecology and Evolution 14: 306–311.

Petit C, Lesbros P, Ge X, Thompson JD, 1997. Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity* 79:31–40

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, the R Core team 2008. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-89.

Price HJ, Dillon SL, Hodnett G, Rooney WL, Ross L, Johnston JS. 2005. Genome evolution in the genus *Sorghum* (Poaceae). *Ann. Bot.* 95:219–27

R Development Core Team 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Ramsey J, Schemske DW, 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 467–501.

Ramsey J, Schemske DW, 2002. Neopolyploidy in flowering plants. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 33:589–639

Ramsey J, 2006. Unreduced gametes and neopolyploids in natural populations of *Achillea borealis* (Asteraceae). *Heredity* (2006) 1-8

Reisigl H, Keller R, 1994. Alpenpflanzen im Lebensraum. 2., bearb. Aufl., Stuttgart [u.a.] : Fischer

Reisigl H, Pitschmann H, 1958. Obere Grenzen der Flora und Vegetation in der Nivalstufe der zentralen Ötztaler Alpen (Tirol). *Vegetatio* 8: 93–129.

Richards AJ, 1986. Plant breeding systems. London; Boston : G. Allen & Unwin

Saavedra F, Douglass L, 2002. Using mixed models in SAS for ecological analyses. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 83 (3), 180–182.

Schönswetter P, Lachmayer M, Lettner C, Prehsler D, Rechner S, Reich DS, Sonnleitner M, Wagner I, Huelber K, Schneeweiss GM, Trávníček P, Suda J, 2007. Sympatric diploid and hexaploid cytotypes of *Senecio carniolicus* (*Asteraceae*) in the Eastern Alps are separated along an altitudinal gradient. *J. Plant Res.* 120: 721–725.

Soltis DE, Soltis PS, 1995. The dynamic nature of polyploid genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 8089–8091.

Soltis PS, Soltis DE, Chase MW, 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402, 402–404.

Soltis DE, Soltis PS, Tate JA, 2003. Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytol* 161:173–191

Spaniel S, Marhold K, Hodalova I, Lihova J 2008. Diploid and tetraploid cytotypes of *Centaurea stoebe* (*Asteraceae*) in central Europe: morphological differentiation and cytotype distribution patterns. *Folia Geobot* 43(2):131–158

Stebbins GL, 1950. Variation and evolution in plants. Columbia University Press, New York, New York, USA.

Stebbins GL, 1971. Chromosome evolution in higher plants. Edward Arnold, London, UK.

Stephenson AG, Good SV, Vogler DW, 2000. Interrelationships Among Inbreeding Depression, Plasticity in the Self-incompatibility System, and the Breeding System of *Campanula rapunculoides* L. (*Campanulaceae*). *Annals of Botany* 85 (Supplement A): 211-219, 2000

Stone JL, 2002. Molecular mechanisms underlying the breakdown of gametophytic self-incompatibility. *Quarterly Review of Biology* 77: 17–32.

Stone JL, Sasuclark MA, Blomberg CP, 2006. Variation in the self-incompatibility response within and among populations of the tropical shrub *Whiteringia solanacea* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 93(4), 592–598

Suda J, Trávníček P, 2006. Reliable DNA ploidy determination in dehydrated tissues of vascular plants by DAPI flow cytometry: new prospects for plant research. – *Cytometry Part A* 69A: 273–280.

Suda J, Krahulcova A, Travnicek P, Krahulec F, 2006. Ploidy level vs. DNA ploidy level: an appeal for consistent terminology. *Taxon* 55: 447–450

Suda J, Weiss-Schneeweiss H, Tribsch A, Schneeweiss GM, Trávníček P, Schönswetter P, 2007. Complex distribution patterns of di-, tetra- and hexaploid cytotypes in the European high mountain plant *Senecio carniolicus* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 94: 1391–1401.

Thompson L, 2008. *S-Plus (and R) Manual to Accompany Agresti's Categorical Data Analysis (2002)*. 2nd ed. <https://home.comcast.net/~lthompson221/>.

van Dijk P, Hartog M, van Delden W, 1992. Single cytotype areas in autopolyploid *Plantago media* L. *Biological Journal of the Linnean Society* 46: 315–331.

Wüthrich F, Lüthi M, Meyer J, 2001. *Lebenswelt Alpen*, Aarau : Bildung Sauerländer, 1. Aufl.

Lebenslauf

Perönliche Daten

Name: Sara Fössinger
Geboren am 10.12.1983 in Sterzing/Südtirol/Italien
e-mail adresse: i77@gmx.net

Ausbildung:

1989-1994 Grundschole in Klausen/Südtirol
1994-1997 Mittelschole in Klausen/Südtirol
1997-2002 Lehrerbildungsanstalt „Josef Gasser“ in Brixen/Südtirol
2002-2010 Studium der Biologie/Ökologie an der Universität Wien
2005/2006 Auslandsaufenthalt in Glasgow/Schottland

Fremdsprachen: Italienisch (Wort und Schrift)
Englisch (Wort und Schrift)